

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE HADJ LAKHDAR –BATNA-1
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



MEMOIRE
Pour l'obtention du diplôme de
DOCTORAT EN SCIENCES VETERINAIRES

Option
Pathologie générale des ruminants

Présentée par :
BAGHEZZA Sameh

Thème

**PREVALENCE ET ETUDE HISTOPATHOLOGIQUE
DES ATTEINTES RESPIRATOIRES A VIRUS
PARA-INFLUENZA TYPE-3 CHEZ LES OVINS**

Membres de jury

Grade et Université

Président :	TLIDJANE MADJID	Prof. Université Hadj Lakhdar- Batna-1
Examinatrice:	AOUN LEILA	Prof. Université Chadli Bendjedid -El Tarf
Examinatrice:	AIT-AOUDHIA KHATIMA	Prof. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire-Alger
Examineur:	KHENENOU TAREK	Prof. Université Mohamed Chérif Messaidia- Souk Ahras
Rapporteur:	MAMACHE BAKIR	Prof. Université Hadj Lakhdar- Batna-1
Co-rapporteur:	BENNOUNE OMAR	Prof. Université Hadj Lakhdar- Batna-1

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier respectivement

*Monsieur, le professeur **Mamache Bakir**, de l'Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques de l'université de Batna 1 qui a bien voulu accepter la supervision du présent sujet de thèse et m'a guidée dans ce travail tout au long de sa réalisation et sa rédaction*

Qu'il accepte mes sincères remerciements.

*Monsieur, le professeur **Bennoune Omar**, de l'Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques de l'université de Batna 1 qui a bien voulu accepter mon Co-Encadrement.*

*Monsieur, le professeur **Tlijane Madjid** de l'Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques de l'université de Batna 1 qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de soutenance de cette thèse.*

Hommage respectueux.

J'exprime toute ma gratitude aux membres du jury :

*Professeur **Aoun Leila** du département des Sciences Vétérinaires Université Chadli Bendjedid -El Tarf.*

*Professeur **Ait Oudhia Khatima** de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire- El Harrach, Alger.*

*Professeur **Khenenou Tarek** du département des Sciences Vétérinaires-Université Mohamed Cherif Messaadia- Souk Ahras.*

Pour avoir bien voulu examiner ce travail.

*Je remercie Docteur **Derrar Fawzi** Directeur Général de l'institut Pasteur d'Algérie de m'y avoir accueillie chaleureusement dans « Laboratoire National de la Grippe et autres Virus Respiratoires » avec les meilleures conditions de travail.*

*Je remercie Docteur **Smadi Mustapha Adnane** pour avoir bien voulu m'accueillir au sein du laboratoire du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT)-Constantine pour la réalisation d'une partie de ce travail.*

*Je remercie également Docteur **Amir** Chef de service du Laboratoire d'Anatomie Pathologique- CHU Mustapha Bacha- Alger, qui m'a accueillie au sein de cette institution, qui a mis à ma disposition les conditions nécessaires pour la réalisation de ce travail.*

Je remercie le chef de service d'Anatomie Pathologique pour avoir bien voulu m'accueillir au sein du laboratoire d'histologie du CHU Nafissa Hamoud- ex Parnet- Alger pour la réalisation des coupes histologiques.

*Je remercie également le chef du département de biologie-Université M'hamed Bougara surtout mesdames **Khiari Ouiza** et **Chenoui Samia** - laboratoire de physiologie cellulaire et physiopathologie pour m'avoir accueilli, pour leur disponibilité et pour leur aide précieuse dans la réalisation de ce travail.*

*Je remercie vivement **Dr Boumaraf Salheddine** pour les nombreux services qu'il ma rendus dans la réalisation de mon travail.*

*Je remercie Messieurs **Benoune Omar**, **Nouicer Ferhat** et **Ayachi Amar** pour l'aide apportée au niveau du laboratoire d'histologie- Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques- Université Hadj Lakhdar Batna 1.*

*Un grand merci à l'équipe du laboratoire de biochimie et du laboratoire de biotechnologie animale - Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT)-Constantine surtout madame **Hanene Djeghim** pour son aide pratique et ses conseils.*

*J'adresse mes vifs remerciements à mesdames : **Alia Gradi**, **Hamida Sakhi**, **Malika Bouchemla**, **Naima Kadri**, **Hayet**, **Madiha**, **Hinda** et **Fatma** pour leurs orientations, leurs conseils et leurs aides dans la réalisation des parties expérimentales.*

*Je remercie infiniment **Dr Ammi**, **Dr Boughris**, **Dr Allègue**, **Dr Dardour**, **Dr Oukil**, **Dr Sait** et **Dr Mahsas** pour l'aide précieuse apportée pour réaliser les prélèvements nécessaires sur le terrain au niveau des wilayas de Batna et Boumerdès.*

*Je tiens également à remercier le personnel de l'abattoir municipal de Batna, surtout les Inspecteurs Vétérinaires **Idir Kamel** et **Ramdane Djamila** ainsi que **Moncef**, **Djamila** et **Sarah** pour leur aide, leur disponibilité et leur patience.*

Tout important pour moi d'exprimer mes sincères remerciements à mes collègues de travail et à tous ceux qui m'ont aidé, soutenu, et encouragé pour la réalisation de ce modeste travail.

Je remercie sincèrement tous mes amis qui m'ont apporté leur soutien moral pendant ces années d'études.

Enfin, un très grand MERCI à mes parents, mes sœurs, mon frère et mon beau-frère qui m'ont gratifié de leur amour et fourni les motivations qui ont permis l'aboutissement de mes entreprises. Je leur adresse toute ma gratitude du fond du cœur.

Sommaire

	Page
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Introduction	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Elevage ovin	
1. Situation de l'élevage ovin dans le monde	1
2. Situation de l'élevage ovin en Algérie	1
3. Contraintes de l'élevage ovin en Algérie	2
Chapitre II : Epidémiologie	
I. Epidémiologie descriptive	4
1. Historique	4
2. Espèces affectées	4
3. Infections croisées à PIV3	5
4. Mode de transmission	5
5. Répartition géographique	6
II. Epidémiologie analytique	6
Facteurs de risque	6
1. Facteurs extrinsèques	7
1.1. Environnement	7
1.1.1. La température	7
1.1.2. L'hygrométrie	7
1.1.3. La ventilation	7
1.1.4. Les pollutions chimiques	8
1.1.5. Le climat	8
1.2. Conduite d'élevage	8
1.2.1. L'aération	8
1.2.2 La densité animale	9

1.2.3. Le sol et la litière	9
1.2.4. Le transport	9
1.2.5. Prophylaxie sanitaire	10
2. Agents pathogènes	10
3. Facteurs intrinsèques	11
3.1. Les défenses de l'appareil respiratoire	12
3.1.1. Défenses mécaniques	12
3.1.2. Défenses biochimiques	12
3.1.3. Défenses cyto-immunologiques	12
Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus <i>Parainfluenza</i> type 3	
Sous-chapitre III-1 : Rappels généraux sur le virus <i>Parainfluenza</i> type-3	
I. Etiologie	13
I.1. Définition	13
I.2. Classification	13
I.3. Structure générale du virus	14
I.3.1. Protéines virales	14
I.3.1.1. Protéine de la nucléocapside	17
I.3.1.2. Phosphoprotéine	17
I.3.1.3. Protéine de la matrice	17
I.3.1.4. Protéine L	18
I.3.1.5. Protéine de fusion	18
I.3.1.6. Protéine d'attachement	19
I.4. Cycle de réplication du virus	20
Sous-chapitre III-2 : Maladie causée par le virus PI3	
I. Immunité	22
II. Pathogénie	23
III. Symptômes	25
IV. Lésions	26
V. Diagnostic	28
V.1. Diagnostic clinique	28
V.2. Diagnostic de laboratoire	29
V.2.1. Isolement du virus	30
V.2.2. Sérologie	31

V.2.3. Technique d'immunofluorescence	31
V.2.4. Biologie moléculaire: Réaction d'amplification en chaîne par polymérase transcriptase inverse en temps réel (RT-PCR)	32
V.2.5. Histopathologie	33
VI. Prophylaxie	33
VI.1. Prophylaxie médicale	33
VI.2. Prophylaxie sanitaire	34

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et méthodes

Matériels	35
I. Enquête sur terrain (au niveau des élevages)	35
I.1. Régions d'étude	35
I.2. Echantillons Animaux	35
I.3. Collecte des données	35
I.3.1. Prélèvements sanguins	35
I.3.2. Ecouvillons nasaux	36
II. Enquête au niveau de l'abattoir	37
II.1. Lieu d'étude	37
II.2. Echantillons d'étude	37
II.3. Collecte des données	37
II.3.1. Prélèvements au niveau de l'abattoir	38
Méthodologie	38
I. Analyse sérologique	38
I.1. Technique d'ELISA indirect	38
I.1.1. Composition de la trousse	38
I.1.2. Mode opératoire	39
II. Analyse moléculaire	41
II.1. Extraction de l'ARN viral	41
II.1.1. Etape de lyse	42
II.1.2. Etape de fixation	42
II.1.3. Etape de lavage	42
II.1.4. Etape d'élution	42

II.2. Détection du génome viral par RT-PCR en temps réel	43
II.2.1.Préparation du mélange réactionnel	43
II.2.2.Dépôt des extraits /contrôles	43
II.2.3.Amplification	44
II.2.4. Analyse et interprétation des résultats	44
III. Etude microscopique des lésions pulmonaires	45
III.1. Technique d’histologie classique	45
III.2.Technique d’immunofluorescence directe	46
IV.Analyses statistiques	47
Chapitre II : Résultats	
I. Enquête sur terrain (au niveau des élevages)	48
I.1. Les régions d’étude	48
I.1.1. La wilaya de Boumerdès	48
I.1.2. la wilaya de Batna	48
I.2.Déroulement de l’enquête	49
I.2.1. Echantillons touchés par l’enquête	50
I.3. Identification de l’exploitation	50
I.3.1.Type d’élevage identifié	50
I.3.2. Surface de pâturage	51
I.3.3. Utilisation de pâturages communs avec d’autres élevages	51
I.4. Identification du bâtiment d’élevage	52
I.4.1. Type de bâtiment d’élevage	52
I.4.2. Nombre de bâtiments d’élevage	54
I.4.3. Superficie des bâtiments d’élevage prospectés	54
I.4.4. Etat des bâtiments d’élevage	55
I.4.5. Litière	56
I.4.6. Fréquence du nettoyage	56
I.4.7. Ventilation	57
I.5. Les animaux prospectés	57
I.5.1. Classification des élevages selon les espèces animales	57
I.5.2. Introduction de nouveaux animaux	59
I.6.Conduite d’élevage	59
I.6.1 Alimentation	59

I.6.1.1. Fréquence de distribution de l'aliment	59
I.6.1.2. Stockage de l'aliment	60
I.6.1.3. Période de pâturage	61
I.6.2. Transport des animaux (transhumance)	61
I.6.3. Type de production	61
I.6.4. Conduite sanitaire	62
I.6.4.1. Déparasitage et suivi sanitaire des animaux	62
I.6.4.2. Pathologies co-existantes	62
I.6.4.3. Saison d'apparition des atteintes respiratoires	63
I.6.4.4. Catégories d'âge touchées	63
I.6.4.5. Facteurs favorisants	63
I.6.4.6. Mortalités suite aux atteintes respiratoires	63
I.6.4.7. Appel et intervention du vétérinaire	63
I.7. Enquête sur les éleveurs	64
I.7.1. Pluriactivité	64
I.7.2. Niveau d'instruction des éleveurs	64
I.7.3. Personnel travailleur	64
II. Résultats de l'enquête sérologique et moléculaire des ovins dans les élevages prospectés	65
II.1. Nombre d'échantillons	65
II.2. Caractéristiques de la population d'étude	65
II.2. 1. Répartition des échantillons selon le sexe des ovins	65
II.2.2. Répartition des ovins selon l'âge	66
II.2.3. Fréquence des symptômes liés aux atteintes respiratoires chez les ovins échantillonnés	66
II.3. Résultats sérologiques	68
II.3.1. Séroprévalence du virus <i>Parainfluenza</i> type 3 en fonction de la région d'étude	68
II.3.2. Séroprévalence du virus <i>Parainfluenza</i> type 3 en fonction de l'âge	69
II.3.3. Séroprévalence du virus <i>Parainfluenza</i> type 3 en fonction du sexe de l'animal	70
II.4. Résultats de la recherche du virus PI3 par la technique RT-PCR	72
III. Résultats de l'enquête à l'abattoir	73
III.1. Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de l'âge	73

III.2. Fréquence des principales lésions pulmonaires	74
III.3.Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de la saison	74
III.4.Fréquence des lésions pulmonaires en fonction de la saison	75
III.5.Répartition des lésions selon les lobes pulmonaires	76
III.6.Fréquence des lésions pulmonaires selon l'âge de l'animal	76
III.7.Fréquence des différents types de lésions pulmonaires selon la saison d'étude	77
III.8. Gravité des lésions	78
IV. Examens macroscopique et microscopique des lésions pulmonaires	79
IV.1. Classification des lésions pulmonaires	79
IV.1.1. Bronchopneumonie aiguë	79
IV.1.2. Atélectasie	81
IV.1.3. Emphysème pulmonaire	82
IV.1.4. Aillotage	83
IV.1.5. Pleurésie	84
IV.1.6. Bronchopneumonie fibrineuse	86
IV.1.7. Bronchopneumonie suppurée	87
IV.1.8. Abscess pulmonaire	89
IV.1.9. Pneumonie interstitielle	90
IV.1.10. Adénomatosose pulmonaire ovine	91
IV.1.11. Pneumonie vermineuse	92
IV.1.12. Kyste hydatique	94
IV.2. Résultats de la technique d'Immunofluorescence directe sur les coupes congelées	96
IV.3. Les changements histopathologiques des lames positives à BPIV3	97
 Chapitre III : Discussion	
I. Séroprévalence de BPIV3 chez les ovins	99
II. RT-PCR	101
III. Etude lésionnelle au niveau de l'abattoir	102
III.1. Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de l'âge	104
III.2. Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de la saison	104
III.3. Classification des lésions pulmonaires	105

IV. Immunofluorescence directe sur coupes congelées

109

Conclusion et recommandation

Annexes

Références bibliographiques

Liste des abréviations

Aa :	Acide aminé
Ag :	Antigène
&/β :	Alpha/ Beta
ARNm :	Acide ribonucléique messenger
BPIV3 :	Virus Parainfluenza type 3 Bovin
BRD :	Maladies respiratoires bovines
BRSV :	Virus respiratoire syncytial bovin
BT:	<i>Bibersteinia trehalosi</i>
CF :	Fixation du complément
CPIV3 :	Virus Parainfluenza type 3 caprin
DFAT:	Direct Fluorescent Antibody Test
ELISA :	Enzyme-Linked Immuno Assay (Test immuno-enzymatique)
F :	Protéine de fusion
G :	Glycoprotéine
H :	Hémagglutinine
ha :	Hectare
HI :	Inhibition de l'hémagglutination
HN :	Hémagglutinine-neuraminidase
hPIV₁:	Virus Parainfluenza humain type 1
hPIV₃:	Virus Parainfluenza humain type 3
HRA :	Répétitions heptad A
HRB :	Répétitions heptad B
IF :	Immunofluorescence indirecte
IgA	Immunoglobuline A
IgG	Immunoglobuline G
IFNs-I :	Interférons de type I
Ct IPC:	Internal RNA positive control
JSRV:	Rétrovirus Jaagsiekte
Kb :	kilo bit
kDa :	kilo Dalton
Km:	Kilo-mètre
L :	Grande protéine polymérase
M :	Protéine protéine de matrice

MDBK:	Madin Derby Bovine Kidney cells
MH:	<i>Mannheimia haemolytica</i>
Min:	Minute
µl:	Micro-litre
mm :	Millimètre
ml:	Milli-litre
µm :	Mirco mètre
NASBA :	Amplification basée sur la séquence d'acides nucléiques
NC :	Nucléoprotéine ou nucleocapside
nm :	Nano mètre
NS1 et NS2 :	Protéines non-structurales
ORC:	Complexe respiratoire ovin
P :	Phosphoprotéine
PBS :	Phosphate Buffered Saline Solution
PCR:	Polymerase Chain Reaction
pH :	Potentiel hydrogène
PIV3 :	Parainfluenza virus type 3
PM:	<i>Pasteurella multocida</i>
RdRP :	ARN dépendant d'ARN polymerase
RNP :	Ribo-nucléoprotéine
Rpm :	Rotation par minute
RT-PCR :	Reverse Transcription-Polymerase chaine reaction
SAU	Superficie agricole utile
SNT :	Test de séro-neutralisation
TM :	Domaine transmembranaire hydrophobe

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01 : Fonctions et terminologie des protéines de virion du genre <i>Respirovirus</i>	14
Tableau 02 : Composition de la trousse d'ELISA	38
Tableau 03 : Interprétation des résultats obtenus par RT-PCR	44
Tableau 04 : Nombre d'élevages inspectés selon les régions d'études	50
Tableau 05 : Niveau d'instruction des éleveurs	64
Tableau 06 : Distribution du nombre de sérums ovins collectés selon l'âge et le sexe dans les deux régions d'étude	66
Tableau 07 : Facteurs de risque associés à la séroprévalence du BPIV3 chez les ovins en utilisant le test ELISA indirect	68
Tableau 08 : Séroprévalence du BPIV3 selon les signes liés aux atteintes respiratoires observés chez les ovins testés	71
Tableau 09 : Degré de positivité (titre) des anticorps BPIV3 détectés dans le sérum des ovins dans les régions étude par le test ELISA indirect	71
Tableau 10 : Prévalence des poumons atteints en fonction de l'âge	73
Tableau 11 : Répartition des lésions selon les lobes pulmonaires	76
Tableau 12 : Fréquence des lésions pulmonaires selon l'âge de l'animal	77
Tableau 13 : Fréquence des lésions pulmonaires selon la saison	78
Tableau 14 : Changements microscopiques observés sur les lames positives au BPIV3	97

Liste des figures

	Page
Figure 01 : Evolution de l'effectif ovin en Algérie durant la période 2010 - 2019.	1
Figure 02: Structure du virus genre <i>Respirovirus</i> ainsi que la carte génomique 3'-5'.	16
Figure 03: Cycle de réplication des <i>Paramyxovirus</i> .	21
Figure 04 : Effet cytopathogène du virus PI3 sur culture de cellules MDBK à partir du prélèvement des poumons d'ovin.	31
Figure 05: Technique d'immunofluorescence directe: détection de l'infection dans les cellules épithéliales respiratoires par le virus <i>Parainfluenza</i> à partir des écouvillons nasaux.	32
Figure 06: Exemples de système de notation de la pneumonie. a) Moins de 10% de tissu affecté, la pneumonie est considérée comme légère. b) 10-20% du tissu affecté, la pneumonie est considérée comme modérée. c) Plus de 20% du tissu affecté, la pneumonie est considérée comme sévère.	37
Figure 07: Profil thermique de la technique RT-PCR.	44
Figure 08: Répartition des élevages étudiés selon le nombre de têtes ovines.	51
Figure 09: Répartition des exploitations possédant des pâturages	51
Figure 10: Répartition des élevages selon l'emploi du pâturage	52
Figure11: Répartition des élevages selon le type de bâtiment d'élevage	53
Figure 12: Nombre de bâtiment dans les élevages enquêtés	54
Figure 13: Répartition des élevages selon la superficie du bâtiment d'élevage	55
Figure 14: Etat des bâtiments d'élevage visités	55
Figure 15: Fréquence du nettoyage dans les élevages visités.	57
Figure 16 : Classification des élevages inspectés selon les espèces existantes.	58

Figure 17: Acquisition des animaux dans les élevages visités.	59
Figure 18: Répartition des élevages selon l’endroit du stockage de l’aliment.	60
Figure 19: Répartition des élevages selon le type de production.	61
Figure 20: Fréquences des maladies co-existantes dans les élevages inspectés.	62
Figure 21: Nombre d’ovin objet de l’étude.	65
Figure 22: Répartition des échantillons selon le sexe des ovins prélevés	65
Figure 23: Fréquence des symptômes liés aux atteintes respiratoires chez les ovins échantillonnés.	67
Figure 24: Répartition des symptômes liés aux atteintes respiratoires chez les ovins selon la région d’étude.	67
Figure 25: Les courbes d'amplification logarithmique de l’ensemble des échantillons testés et du contrôle positif.	72
Figure 26: Répartition des ovins atteints selon le nombre des lésions pulmonaires.	73
Figure 27 : Fréquence des principales lésions pulmonaires.	74
Figure 28: Prévalence des poumons atteints en fonction de la saison.	75
Figure 29: Répartition des lésions pulmonaires en fonction de la saison d’étude.	75
Figure 30: Classification des poumons atteints selon la gravité de la lésion.	79

Liste des photos

	Page
Photo 01: Tube stérile (type Vacutainer) . (Originale)	36
Photo 02: Ecouvillon naso-pharangé avec milieu de transport (VTM) (Originale)	36
Photo 03: Prélèvement sanguin chez un agneau. (Originale)	36
Photo 04: Prélèvement du mucus nasal chez une brebis. (Originale)	36
Photo 05 : Sérum sanguin obtenu après centrifugation. (Originale)	36
Photo 06 : Transfert du liquide d'écouvillonnage nasal dans un cryotube. (Originale)	36
Photo 07 : Présence d'immunoglobulines spécifiques du virus BPI3 dans le sérum, la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. (Originale)	41
Photo 08: Après l'ajout de la solution d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. (Originale)	41
Photo 09 : Produits utilisés pour l'extraction de l'ARN viral. (Originale)	43
Photo 10: Extraction de l'ARN viral. Etape d'élution. (Originale)	43
Photo 11 : Elevage ovin dans un bâtiment en dur. (Originale)	53
Photo 12 : Présence d'une clôture pour élevage ovin. (Originale)	53
Photo 13: Présence d'un abri en bois pour l'élevage mixte ovin- caprin. (Originale)	53
Photo 14: Bâtiment en dur destiné à l'élevage de brebis-agneaux. (Originale)	53
Photo 15: Elevage dont la litière est sèche. (Originale)	56
Photo 16: Bâtiment avec une litière humide. (Originale)	56
Photo 17: Promiscuité entre ovins et caprins dans un même élevage. (Originale)	58

Photo 18: Endroit de stockage de l'aliment hors du bâtiment d'élevage. (Originale)	60
Photo 19: Stockage de l'aliment dans le bâtiment d'élevage. (Originale)	60
Photo 20: Elevage d'engraissement ovin. (Originale)	61
Photo 21: Elevage de brebis destinées à la reproduction et au renouvellement du cheptel. (Originale)	61
Photo 22: Fièvre de 41,2 °C. (Originale)	67
Photo 23: Jetage séro-muqueux chez un agneau. (Originale)	67
Photos 24 : (A, B) Aspect macroscopique de la bronchopneumonie aiguë: caractérisé par un durcissement localisé au niveau des lobes apical et moyen droit (flèches) (aspect de chair). (Originale)	80
Photos 25: (A, B) Coupes histologiques de cette lésion sont caractérisées par l'absence de la lumière alvéolaire, et présence des cellules inflammatoires à l'intérieur de la lumière des bronches et bronchioles (flèches), une hyperplasie lymphoïde peri-bronchiolaire (*), H&E (x100). (Originale)	80
Photos 26: (A, B) Aspects macroscopiques d'atélectasie, caractérisées par l'affaissement de la région atteinte par rapport au parenchyme pulmonaire (flèches). (Originale)	81
Photos 27 : (A, B) Histologiquement l'atélectasie est caractérisée par la disparition totale de la lumière alvéolaire, H&E (A: x100, B: x200). (Originale)	82
Photos 28 : (A, B) L'emphysème pulmonaire avec une augmentation de la taille de la région atteinte par l'air enfermé dedans (flèches), ainsi que la présence de crépitation à la palpation. (Originale)	83
Photos 29 : (A, B) Coupes histologiques de l'emphysème pulmonaire : amincissement voire destruction de la paroi alvéolaire (*), H&E (A : x40), (B: x100). (Originale)	83
Photo 30: Poumon gorgé de sang par aspiration suite à la saignée d'abattage. (Originale)	84
Photo 31 : Aspect microscopique de cette lésion caractérisé par la présence de sang dans la lumière alvéolaire et dans les bronchioles. H&E (x40). (Originale)	84

- Photos 32 :** (A) Pleurésie est caractérisée par un épaissement de la plèvre pariétale (flèche). (B) Adhérence de la plèvre à la cage thoracique (flèche). (Originale) **85**
- Photos 33 :** (A, B) Coupes histologiques de pleurésie, avec épaissement de la plèvre (flèches) et présence des cellules inflammatoires, H&E (x40). (Originale) **85**
- Photos 34 :** Aspect macroscopique de la bronchopneumonie fibrineuse (A, B): la partie atteinte est sombre et d'une texture dure, la consolidation observée au niveau des lobes apical et moyen entourée d'une couche épaisse de fibrine (*), la partie caudale est d'aspect normal (A). (Originale) **86**
- Photos 35:** (A, B) Les coupes histologiques de bronchopneumonie fibrineuse sont déterminées par un dépôt de fibrine (flèches) entouré de cellules inflammatoires, épaissement des septa alvéolaires, présence d'un foyer de nécrose (*) H&E (x100). (Originale) **87**
- Photos 36:** Bronchopneumonie suppurée caractérisée par une atteinte des lobes apicaux et moyens et présence d'un exsudat purulent au niveau des bronches (A, B). (Originale) **88**
- Photos 37:** (A) Microscopiquement la bronchopneumonie suppurée montre la présence d'un tissu nécrotique (*) entouré de cellules inflammatoires (flèche), (H&E) (x100). (B) Présence de cellules inflammatoires (*), Absence de la lumière alvéolaire. H&E (x40). (Originale) **88**
- Photos 38:** (A) Abscès unique, entouré d'une capsule fibreuse (flèche). A l'incision il a été constaté un écoulement de pus de couleur verdâtre (*). (Originale) (B) Aspect microscopique de l'abcès pulmonaire avec la présence de foyers de nécrose (*) entouré d'une large couche de fibrine (flèche) H&E (x100). (Originale) **89**
- Photos 39 :** (A) Pneumonie interstitielle : poumon distendu de couleur gris pale. (B) Microscopiquement la lésion se caractérise par l'épaississement des septa alvéolaires par infiltration interstitielle de cellules inflammatoires (flèche) et présence de liquide dans les alvéoles (*) H&E (x100). (Originale) **90**
- Photos 40 :** (A) Adénomatose pulmonaire : le poumon atteint est lourd et distendu. Présence d'une masse tumorale dure de couleur pale. (B) présence de liquide moussieux au niveau de la trachée. (Originale) **91**
- Photos 41:** Coupes histologiques d'OPA montrant une prolifération néoplasique. (A) Extension des pneumocytes de type II vers la lumière alvéolaire (flèche), entourées des alvéoles d'aspect normal. H& E (x100) (B) Croissance de forme acineuse des cellules alvéolaires (pneumocytes de type II), entourées de cellules inflammatoires. Présence d'une hyperplasie lymphoïde (flèche).H&E (x40). (Originale). **92**

- Photos 42:** Aspect macroscopique de pneumonie strongylienne. **93**
(A) Forme nodulaire : caractérisée par la présence de nodules gris, de consistance dure sur la face dorsale du poumon (flèche).
(B) Forme lobulaire : des lésions de quelques centimètres notées sur les lobes diaphragmatiques des poumons atteints (flèche). (Originale)
- Photos 43:** Coupe histologique d'une pneumonie vermineuse caractérisées par la présence de nombreuses larves (flèche) et d'œufs (tête de flèche) dans la lumière alvéolaire avec présence de cellules inflammatoires, une hyperplasie lymphoïde peri-bronchiolaire (*). (H&E) (A: x 200) (B: x100). (Originale) **93**
- Photos 44:** Aspect microscopique de larve (A) et d'œufs de parasite (B) localisés dans la lumière alvéolaire H&E (X40). (Originale) **94**
- Photos 45:** (A) Kystes hydatiques de taille variable enchâssés dans le parenchyme pulmonaire (flèches). Le kyste contient du liquide sous pression. **95**
(B) Infestation massive du poumon par des kystes hydatiques avec un aspect bosselé (poumon de brebis). (Originale)
- Photos 46:** (A, B) Coupes histologiques du kyste hydatique, présence d'une couche germinative (flèche) et d'une adventice constituée de tissu normal de l'hôte (*). H&E (x40). (Originale) **96**
- Photos 47:** (A) Coloration par immunofluorescence sur coupe de tissu pulmonaire congelé. Présence de la fluorescence dans l'épithélium alvéolaire (x40) indiquant la positivité à la DFAT. (Originale) **98**
(B) Fluorescence granulaire observée dans l'épithélium alvéolaire par DFAT (x100). (Originale)
- Photos 48:** Coloration par immunofluorescence indiquant la présence de l'antigène de BPIV3 au niveau des alvéoles (A) et des bronchioles (B), (x40). (Originale) **98**

Introduction

Introduction

Parmi les problèmes liés à la santé animale les maladies du système respiratoire, sont les principales causes de morbidité et de mortalité chez les animaux et une source majeure de pertes économiques (Lopez et Martinson, 2017). Ce sont des maladies courantes dans tous les grands pays d'élevage de moutons. Ces problèmes ont présenté un impact économique important surtout les couts des médicaments et les saisies effectuées dans les abattoirs (Jones et al., 1982; Moreno, 1994; Cano et al., 1995; Goodwin et al., 2004).

Les pathologies respiratoires sont très variées et fréquentes au sein de l'élevage ovin et apparaissent suite à la conjonction de plusieurs facteurs défavorables (Simon, 2011). Les conditions ambiantes (aléas climatiques, carences ou déséquilibres alimentaires) et l'hygiène défectueuse des élevages sont autant de sources de stress qui favorisent l'expression des pneumopathies. Ces dernières, quand elles n'entraînent pas la mort du sujet, se traduisent par un mauvais état général et donc une dévaluation de la valeur marchande (Akloul, 2011). Elles peuvent passer inaperçues, mais elles occasionnent des pertes économiques considérables, non seulement par perte de production, mais aussi par les frais engendrés (Simon, 2011).

L'appareil respiratoire du mouton est la cible d'une grande variété d'agents pathogènes (Simon, 2011). Les maladies apparaissent suite à l'interaction entre les micro-organismes infectieux (bactéries, mycoplasmes, virus et champignons), la défense de l'hôte, les facteurs de l'environnement et le stress (Roy, 1990 ; Wikse et Baker, 1996 ; Lacasta et al., 2008).

Le *Parainfluenza 3 bovin* est un virus à ARN de la famille des *Paramyxoviridae* qui engendre une maladie respiratoire bénigne lorsqu'il est le seul agent pathogène (Underwood et al., 2015). C'est un virus qui provoque couramment des infections des voies respiratoires chez les bovins, les moutons et les chèvres dans le monde entier (Alkan et al., 2000; Gafer et al., 2009). En outre, le virus PI3 est transmis entre ces espèces animales (Brako et al., 1984). Pour cette raison, l'infection par PIV3 n'est pas limitée aux bovins, ce dernier peut également infecter les petits ruminants (Yesilbag et Gungor, 2009).

Le virus *Parainfluenza* type 3 engendre des infections virales non compliquées allant d'une évolution asymptomatique aux signes légers des voies respiratoires supérieures. Les atteintes des voies respiratoires supérieures n'ont jamais été fatales (Underwood et al., 2015). Les signes cliniques de l'infection primaire par le virus comprennent une légère fièvre, un écoulement nasal, une toux sporadique et une augmentation du rythme respiratoire (Caswell et

Williams, 2007 ; Sharp et Nettleton, 2007). A l'autopsie, le poumon présente une décoloration rouge ou grise à cause de l'atélectasie, qui est déterminée particulièrement dans les lobes apicaux des poumons (Davies et al., 1981; Sharp et Nettleton, 2007).

Le plus important dans cette prédisposition est que ce virus rend les petits ruminants considérablement sensibles aux infections secondaires, donc des complications surviennent avec la co-infection d'autres virus et bactéries telle que *Mannheimia haemolytica* à cause des effets immunosuppresseurs engendrés par le virus PI3 (Brogden et al., 1998 ; Ellis, 2010).

Le diagnostic clinique de PIV3 est difficile. Différentes méthodes sont utilisées pour le diagnostic des atteintes respiratoires à virus *parainfluenza* type 3, la confirmation de l'infection se fait par isolement du virus sur culture cellulaire, PCR (polymérase chain réaction) ou immuno-histochimie (IHC) à partir des voies respiratoires inférieures (Alkan et al., 2000; Grubor et al., 2004; Intisar et al., 2010; Gafer et al., 2009; Forghani, 2010).

La technique d'immunofluorescence (FAT) est l'une des techniques sensibles et spécifiques utilisées pour la détection des antigènes et des anticorps pour différents virus (Ray et Minnich, 1987). Cette technique est considérée comme rapide, simple et peu coûteuse en comparaison avec les techniques ELISA et PCR. L'utilisation de cette technique pour la détection de PIV3 était rapportée pour la première fois par Van Der Maaten (1969) et Melvin et al. (1971). Cette technique permet la détection de l'antigène PIV3 dans les écouvillons nasaux prélevés des bovins présentant des maladies respiratoires (Alkan et al., 2000).

Chez le mouton, la pathogénie est souvent difficile à établir en raison de l'interaction des différents agents causaux (Stamp et al., 1963; St George, 1972; Alley, 1975) qui peuvent présenter des motifs anatomopathologiques similaires. Par conséquent, la localisation et l'investigation des caractéristiques de pneumonie et du processus étiologique sont nécessaires pour identifier l'agent causal responsable de l'inflammation des poumons. Vu l'importance des maladies respiratoires et en raison des pertes occultes conséquentes que cette pathologie engendre pour l'éleveur, nous ne pouvons donc que penser aux étiologies virales qui préparent le terrain pour les autres infections. Donc, on est incité d'étudier un des principaux virus incriminés dans le développement des maladies respiratoires qui est le PIV3.

En Algérie, la situation des atteintes respiratoires causées par le virus *Parainfluenza 3* bovin chez les ovins n'est pas bien connue. Pour avoir une première estimation de la part de ce genre de virus dans les pathologies respiratoires, la présente thèse de doctorat a pour objectifs de :

- Réaliser une enquête épidémiologique sur les maladies respiratoires et une étude sérologique sur le BPIV3 chez les ovins dans deux régions d'Algérie ;
- Rechercher le génome du BPIV3.
- Déterminer la présence d'antigènes du BPIV3 en utilisant la technique d'immunofluorescence directe (DFAT) sur les tissus congelés présentant des lésions de pneumonie et estimer la fréquence ainsi que les caractéristiques macroscopique et histologique des lésions pulmonaires chez les ovins sacrifiés au niveau de l'abattoir municipal de la wilaya de Batna (Est Algérien).

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I
Elevage ovin

1. Situation de l'élevage ovin dans le monde

En 2019, le cheptel ovin a été estimé à 1,23 milliards de têtes ovines dans le monde. L'Asie concentre une forte population ovine avec plus de 527 millions d'ovins. Elle est suivie de près par l'Afrique qui rassemble plus de 407 millions d'ovins, alors que le nombre d'ovins en Europe est estimé à plus de 127 millions de têtes (FAO, 2020).

La Chine occupe la première place et compte à elle seule plus de 163 millions têtes ovines en 2019, suivie par l'Inde avec 74,2 millions d'ovins. D'après FAO, l'Australie est le troisième pays dans l'élevage ovin au monde avec 65 millions de têtes (FAO, 2020).

Par ailleurs, l'Algérie occupe la 16^{ème} place entre le Royaume-Uni et le Sud Soudan avec un effectif de 32 millions de têtes ovines et caprines (FAO, 2019).

2. Situation de l'élevage ovin en Algérie

Les gros élevages pratiqués en Algérie concernent 05 principales espèces à savoir : les bovins, les ovins, les caprins, les camelins et les équins.

Les effectifs totaux, toutes espèces confondues durant la décennie 2000-2009, étaient de l'ordre de 24,5 millions de têtes. Cet effectif a augmenté pour atteindre 33,6 millions de têtes au cours de la période 2010-2017 soit un taux d'accroissement de 37% (MADR, 2019).

Le cheptel ovin occupe une place importante dans l'économie nationale de l'Algérie. Il représente 78% de l'effectif total avec plus de 29,42 millions de têtes ovines en 2019 (FAO, 2020). Le nombre de brebis est estimé à 17 millions de têtes en 2017 (MADR, 2019).

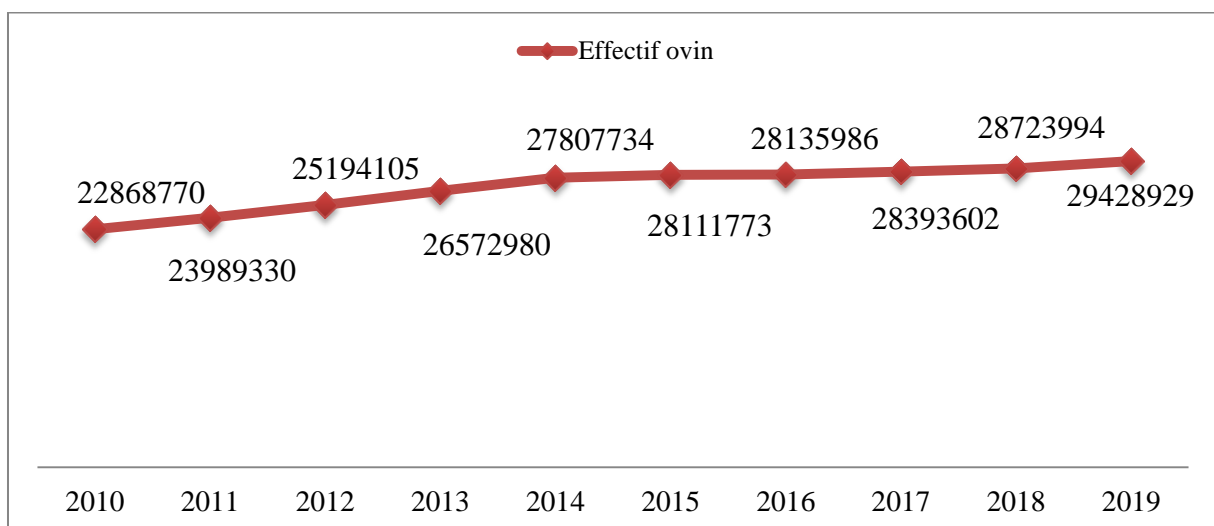


Figure 01: Evolution de l'effectif ovin en Algérie durant la période 2010-2019 (FAO, 2020)

Chapitre I : Elevage ovin

L'élevage ovin comptait pour 25 à 30 % dans la production animale et 10 à 15 % dans la production agricole. Il fournit plus de 50% de la production nationale de viande rouge (Abdelguerfi et Ramdane., 2003).

En Algérie, l'élevage ovin présente une importance socioculturelle. La diversité pédoclimatique offre à l'Algérie une extraordinaire diversité de races ovines, avec huit races caractérisées par une rusticité remarquable, adaptées à leurs milieux respectifs.

La race Ouled Djellal représente plus de 63% de l'effectif national. Elle est considérée comme étant la plus importante race ovine algérienne. Son aire de distribution s'étale sur tout le nord Algérien.

De plus, 25% de l'effectif ovin national est représenté par la race berbère. Cette race est élevée traditionnellement dans les massifs montagneux du Nord algérien (Moula, 2018). Le caractère pastoral très extensif de cet élevage en montagne explique les productivités numériques et pondérales inférieures à celles des races élevées en systèmes agricoles. En raison particulièrement de ses faibles performances, elle tend à être croisée ou remplacée par la race Ouled Djellal (Lakhdari et al., 2015).

Cependant, la race Rembi, avec 11% du cheptel national, est considérée comme la plus lourde race ovine algérienne (Moula, 2018). Le poids des animaux aux différents âges est supérieur de 10 à 15% de ceux de la race Ouled Djellal (Lakhdari et al., 2015). Cette race est localisée exclusivement dans les régions de l'Ouarsenis et des Monts de Tiaret. Les races Barbarine, D'man, Hamra, Sidahou et Tazegzawth représentent moins de 1% du cheptel national et sont menacées de disparition et leur aire de distribution ne cesse de se rétrécir (Moula, 2018).

3. Contraintes de l'élevage ovin en Algérie

En Algérie, l'élevage ovin fait partie des activités agricoles les plus traditionnelles et occupe une place très importante dans le domaine de la production animale, et constitue le premier fournisseur de viande rouge du pays. Cependant, la production varie d'une région à l'autre en fonction des races, des systèmes d'élevage, des modalités de conduite des troupeaux et de l'environnement physique et socio-économique (Chellig, 1992).

Chapitre I : Elevage ovin

En effet, en Algérie, le type d'élevage majoritaire reste l'élevage extensif et sa localisation géographique en zone steppique, constitue des facteurs de difficultés de non gestion notamment de la reproduction (Djaout et al., 2017).

L'élevage ovin en Algérie est géré de manière traditionnelle dans la quasi-totalité des exploitations privées et certaines fermes étatiques. Il subit les affres des aléas climatiques, environnementaux, nutritionnels et pathologiques.

Ce mode d'élevage se caractérise par :

- l'insuffisance des ressources alimentaires, surtout dans les parcours steppiques où se situe la plus grande concentration ovine, avec le plus souvent un nomadisme en fonction de la disponibilité fourragère laquelle est tributaire des conditions climatiques.
- la reproduction naturelle, non contrôlée que ce soit pour la charge bélier/nombre de brebis, la sélection, l'âge de mise à la reproduction ou même l'âge à la réforme.
- les mauvaises pratiques d'élevage conséquentes au faible niveau de technicité des éleveurs (Mamine, 2010).

Chapitre II
Epidémiologie

I.Epidémiologie descriptive

1. Historique

Le virus *Parainfluenza* type 3 a été isolé pour la première fois aux Etats-Unis à partir du mucus nasal de bovins montrant des signes cliniques de la fièvre de transport (Shipping Fever) (Reisinger et al., 1959) et il a été initialement nommé comme *Myxovirus* SF-41 (Adams et al., 2016). En Egypte, le premier isolement du virus était en 1963 à partir des poumons de bovins présentant des atteintes respiratoires, importés de la Somalie (Singh et El-Cicy, 1967).

La BPIV3 peut également être isolé chez des bovins cliniquement normaux (Rosenberg et al., 1971). Dans ce qui suit le virus a été isolé à partir des bovins dans de nombreux pays. Après, sa répartition dans la population bovine s'est révélée à l'échelle mondiale.

Le premier isolement de ce *Paramyxovirus* chez le mouton a été effectué par Hore en Angleterre en 1966 (Hore, 1966) et durant la même année par Ditchfield au Canada et ensuite par St.George en 1969 en Australie (St.George, 1969).

Par la suite, la preuve de l'infection chez les ovins a été faite dans de nombreux pays, soit par isolement du virus (diagnostic direct), soit par mise en évidence des anticorps (diagnostic indirect). Il est donc probable que ce virus existe dans la plupart, sinon dans tous les pays du monde (Martin, 1983).

Chez les petits ruminants le diagnostic du virus PI3 a été réalisé dans plusieurs pays, à savoir Canada (Lamontagne et al., 1985), Egypte (Gafer et al., 2009), Turquie (Yesilbag et Gungor., 2009; Ataseven et al., 2010), Brésil (Gonçalves et al., 2011), Japan (Giangaspero et al., 2013), Roumanie (Adriana et al., 2015) et au Mexique (Contreras-Luna et al., 2017).

Il est généralement admis que la co-infection par le BPIV3 avec d'autres virus et des espèces de *Mannheimia* / *Pasturella* pourrait provoquer une maladie clinique connue sous le nom de fièvre de transport (Woods, 1968; Battrell, 1995).

2. Espèces affectées

Diverses espèces hôtes sont infectées par les *Paramyxovirus*, y compris l'espèce aviaire, porcine, canine, bovine, équine, ovine, reptiles, espèces aquatiques et humaine (Franke et al., 2001; Lamb et Parks., 2006 ; Horwood et al., 2008; Nollens et al., 2008; Nylund et al., 2008).

3. Infections croisées à PIV3

Les infections à PIV3 ont été démontrées sérologiquement chez une grande variété de mammifères bovins, humains, ovins (Lyon et al., 1997), chèvres (Yener et al., 2005), bison (Zarnke et Erickson, 1990), cobaye (Ohsawa et al., 1998), rhinocéros noir et blanc (Fischer-Tenhagen et al., 2000), cervidés (Thorsen et Henderson, 1971), mouflon d'Amérique (Parks et al., 1972) et chameaux (Eisa et al., 1979). Un nouveau virus *Parainfluenza* isolé chez le grand dauphin (Nollens et al., 2008) était étroitement apparenté phylogénétiquement au PIV3. Une souche unique de PIV3 caprin (CPIV3) nommé JS2013 a été détectée et isolée dans des troupeaux de chèvres malades en Chine (Li et al., 2014).

Le virus *Parainfluenza* type 3 cause des maladies respiratoires chez plusieurs espèces animales (Maidana et al., 2012). Chez les agneaux il peut provoquer une respiration rapide et superficielle, une dyspnée et une toux sporadique (Stevenson et Hore, 1970).

Des infections inter-espèces ont également été rapportées, par exemple virus BPIV3 chez l'homme et chez l'ovin et le PIV3 ovin chez les bovins (Stevenson et Hore, 1970; Ben-Ishai, 1980).

Aucun signe respiratoire n'a été observé chez les veaux infectés expérimentalement avec le PIV3 ovin (Stevenson et Hore, 1970). Des lésions macroscopiques de pneumonie étaient présentes chez les agneaux inoculés avec le BPIV3 et les veaux inoculés avec PIV3 ovin (Stevenson et Hore, 1970).

4. Mode de transmission

La transmission du PIV3 entre les animaux n'a pas été étudiée de manière adéquate, mais l'incapacité de démontrer le virus dans un tissu autre que les voies respiratoires indique que les excréments respiratoires sont seules responsables de la transmission du virus. De même, la maintenance du virus dans un troupeau n'est pas claire, bien que les foyers d'infection non associée à l'introduction de moutons infectés suggèrent la persistance virale (Sharp, 1990).

Les voies de transmission les plus importantes du virus *Parainfluenza* type 3 chez les animaux sensibles sont les décharges nasales de l'animal atteint et les aérosols contaminés, car ce virus est exclusivement pathogène au tractus respiratoire (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Le virus BPI3 est fragile et ne se transmet que par contact direct « de mufler à mufler », ou bien via l'inhalation d'aérosols et de gouttelettes émises par un bovin infecté qui tousse ou éternue. (Salem, 2018).

5. Répartition géographique

L'infection par le virus *Parainfluenza* type 3 est l'une des infections les plus répandues dans le monde (Cabello et Rivera, 2006; Gafer et al., 2009; Rusenova, 2009; Saeed et al., 2016). Le pourcentage des moutons présentant des anticorps est variable d'une enquête à l'autre et selon le pays où l'enquête a été réalisée.

Adair et al. (1984) et Thiry (2000) ont déclaré que des enquêtes sérologiques ont montré que la proportion de moutons apparemment sains et infectés arborant des anticorps anti-parainfluenza 3 se situe au-delà de 70 %. Par exemple, en Australie (St. George, 1971), en Afrique du Sud (Erasmus et al., 1967) et en Egypte (Baz, 1971). Il est donc évident que l'infection par le virus PI3 est mondialement répandue et fréquente chez le mouton (Bois et Elazhary, 1988).

II. Epidémiologie analytique

Facteurs de risque

Les maladies respiratoires représentent 5,6% de l'ensemble des maladies chez les petits ruminants (Hindson et Winter, 2002). Ces derniers sont particulièrement sensibles aux infections respiratoires, à savoir: virus, bactéries et champignons. Les mauvaises pratiques de la gestion rendent ces animaux plus sensibles aux agents infectieux (Soni et Sharma, 1990; Kumar et al., 2014a).

L'apparition d'une maladie chez l'animal est déterminée par l'interaction des trois facteurs fondamentaux, l'hôte, l'agent pathogène et l'environnement. L'examen approfondi des interactions entre ces facteurs permet d'évaluer le risque d'apparition des maladies respiratoires et d'intervenir pour réduire leur apparition chez les ovins et les caprins (Engering et al., 2013).

Chez les petits ruminants, les maladies respiratoires sont souvent dues à des conditions climatiques défavorables (McIlroy et al., 1989) et un stress physiologique associés à des infections virales et bactériennes (Brogden et al., 1998). Les infections à virus seuls ne provoquent pas de maladie respiratoire aiguë (Sharp et Nettleton, 2007), mais plusieurs facteurs de risque tels que la température ambiante, le transport, l'hygiène, la densité du cheptel, la promiscuité des animaux, le statut immunitaire de l'hôte peuvent contribuer à accroître la sensibilité à une infection bactérienne secondaire et la gravité de la maladie clinique (Kahn et Line, 2005).

1. Facteurs extrinsèques

1.1. Environnement

De nombreux facteurs, agissant seuls ou en synergie, peuvent intervenir dans l'environnement du mouton pour favoriser l'apparition des affections respiratoires. Il s'agit principalement de la température ambiante, de l'hygrométrie et de la qualité de l'air, de la ventilation, de la lumière, de l'hygiène de l'environnement (sol et fumier) et de la qualité de l'eau de boisson. (Brugère-Picoux, 2016).

1.2.1. La température

Une chute brutale de la température entraîne une diminution du surfactant et du mucus au niveau des alvéoles ce qui va les rendre plus sensibles aux agressions (pollutions chimiques et microbiennes). Cependant, une augmentation brutale de la température engendre une augmentation de la fréquence respiratoire, ce qui diminue l'efficacité de filtration de l'air par la trachée. (www.votreveto.net).

1.1.2. L'hygrométrie

Une humidité excessive peut se révéler néfaste pour l'appareil respiratoire. Elle peut renforcer l'action du froid (action indirecte sur la toison ne pouvant plus jouer son rôle isolant et une action directe sur le tissu pulmonaire) (Brugère-Picoux, 2016), ce qui diminue l'activité des cellules défensives de l'organisme et facilite l'action des germes.

Une hygrométrie trop basse augmente la viscosité du mucus et diminue son efficacité, ce qui favorise les affections virales, bactériennes et parasitaires en bergerie. (www.votreveto.net).

Un air trop sec aura également un effet desséchant défavorable sur l'appareil respiratoire (Brugère-Picoux, 2016).

1.1.3. La ventilation

Elle permet le renouvellement de l'air ambiant et son assainissement et elle régule aussi la température et l'humidité limitant ainsi la prolifération des germes dans les litières (Saint-Cast, 1985).

Comme la pluie et le vent, la ventilation peut renforcer l'action néfaste du froid, en particulier chez les agneaux nouveau-nés qui sont plus sensibles à une hypothermie (le taux de mortalité peut atteindre 90 % sous l'action conjuguée du vent, de la pluie et du froid). La présence d'abris peut permettre de diviser ce taux par quatre (Brugère-Picoux, 2016).

1.1.4. Les pollutions chimiques

Les vapeurs d'ammoniaque augmentent la fréquence respiratoire, abîment les cellules de la trachée, créent des spasmes respiratoires, des œdèmes et des hémorragies. A cela, on peut ajouter les pollutions physiques par des litières pulvérulentes et irritantes (www.votreveto.net)

1.1.5. Le climat

Le climat et en particulier le stress thermique (dû au froid ou à la chaleur) est présent dans la plupart des systèmes de production des petits ruminants et il est probablement le principal facteur qui peut déterminer le développement de l'ORC (Complexe respiratoire ovin). Ce rôle pertinent est particulièrement bien connu dans les systèmes de logement, où une ventilation correcte de l'étable s'est avérée essentielle pour le contrôle de l'ORC. Par exemple, chez les agneaux des parcs d'engraissement, la combinaison de maladies immunosuppressives, telles que la coccidiose et les infections virales, avec une ventilation inadéquate du bâtiment est considérée comme la cause la plus courante de mortalité dans les régions méditerranéennes, liée aux maladies respiratoires (Gonzalez et al., 2016).

1.2. Conduite d'élevage

La conduite d'élevage reste peut-être le point le plus important. Elle inclut entre autres le transport, la densité, les manipulations, l'alimentation, la gestion des pâtures et les traitements de prophylaxie. Tous ces postes sont susceptibles, s'ils sont mal gérés, d'induire une augmentation du stress et donc une diminution des défenses de l'animal ou une augmentation de la pression infectieuse (Norguet, 2015).

1.2.1. L'aération

La qualité de l'air et les conditions environnementales dans l'hébergement varient selon la température et l'humidité extérieures, la ventilation, la densité de peuplement (nombre d'animaux par mètre cube d'air) et la gestion de la litière. Pour cela la circulation d'air, le niveau de poussière, la température, l'humidité relative de l'air et les concentrations de gaz doivent être maintenus dans des limites qui favorisent la santé et le bien-être des moutons (F C M, 2013).

En bergerie, la qualité de l'air ambiant est liée à la concentration en poussières ou en gaz délétères (ammoniac, hydrogène sulfuré, gaz carbonique) pouvant véhiculer des agents pathogènes. En bergerie et au pâturage, la présence de poussières allergisantes doit aussi être considérée (fourrage moisi, pollen, etc) (Brugère-Picoux, 2016).

1.2.2 La densité animale

Le volume d'air disponible par animal est un paramètre crucial d'évaluation de la densité animale, laquelle peut être un facteur de risque élevé d'apparition de maladies respiratoires. La densité des ovins ne doit être ni trop importante ni trop faible. S'ils sont trop nombreux, la pression microbienne et le risque de contagion augmentent (Hoffmann, 2013), (proximité physique, augmentation de la température et de l'humidité) (I E F, 2015). S'ils sont trop rares, l'air se réchauffe difficilement (Hoffmann, 2013).

1.2.3. Le sol et la litière

Ils favorisent l'exposition des ovins aux agents pathogènes (virus, bactéries, parasites). L'humidité du sol et de la litière favorisent le développement de ces derniers (I E F, 2015).

Le fumier est une source de contamination parasitaire et/ou bactérienne et il dégage des gaz toxiques. La quantité de paille à épandre dépend de la densité des animaux (Hoffmann, 2013).

1.2.4. Le transport

Le transport est le facteur de risque non infectieux le plus reconnu universellement pour les maladies respiratoires bovines (BRD), connue sous le terme "fièvre du transport" (Taylor et al., 2010).

La nature de la production bovine garantit que pratiquement tous les veaux de boucherie seront transportés au moins une fois dans leur vie ; c'est pourquoi la plupart des chercheurs ont tenté de déterminer que le facteur « transport » a le plus grand effet sur l'incidence des maladies respiratoires bovines. La distance et/ou la durée du transport ont été examinées dans diverses études, avec des conclusions contradictoires. Une vaste enquête a révélé une association positive entre la distance parcourue et la morbidité (Sanderson et al., 2008). Ce rapport doit, cependant, être considéré avec prudence, compte tenu des biais et des défauts inhérents aux enquêtes de cette nature. Deux études épidémiologiques ont abouti à des conclusions opposées.

En 2004, Pinchak et al. ont trouvé une relation entre la maladie et la distance parcourue. Cependant, divers facteurs de confusion pouvant affecter la morbidité, tels que le poids du veau et la présence de taureaux nécessitant une castration n'ont pas été prises en compte dans cette étude.

Ribble et al. (1995) ont constaté que la distance entre le point d'achat et la destination n'avait aucun effet sur l'incidence de la BRD. Bien que la période de l'année soit le seul facteur de confusion pris en compte dans leur analyse, l'association constante entre le "rétrécissement" (perte de poids survenant pendant la manutention et la commercialisation) et la distance parcourue a été interprétée par les auteurs comme suggérant que d'autres facteurs de confusion avaient une signification minimale.

Dans une étude expérimentale, les veaux transportés pendant 12 heures présentaient des niveaux de morbidité plus élevés que ceux transportés pendant 24 heures, alors qu'il n'y avait aucune différence entre les veaux transportés pendant 24 heures et les veaux témoins qui étaient à jeun mais non transportés (Cole et al., 1988). Les auteurs ont conclu que le tri, le chargement et le transport précoce sont probablement les éléments les plus stressants du transport. Cette conclusion est soutenue par d'autres études (Stermer et al., 1982; Warriss et al., 1995).

Le stress et la diète alimentaire imposés sont à l'origine d'une immunodépression. De plus le courant d'air et l'exposition prolongée à la pollution des transports routiers peuvent être mis en cause. (Cusack et al., 2003).

Le transport n'augmente pas seulement le risque d'exposition des animaux à des pathogènes mais entraîne aussi la réduction de la résistance innée à travers des lésions du tractus respiratoire par des aérosols irritants, de la déshydratation, la mise à jeun, et les effets de stress (Taylor et al., 2010 ; Constable et al., 2017).

1.2.5. Prophylaxie sanitaire

Une bonne hygiène générale, des paillages, raclages, curages réguliers évitent la prolifération et la conservation de germes qui, s'ils ne sont pas forcément directement impliqués dans une maladie respiratoire, peuvent induire une faiblesse immunitaire y prédisposant (Norguet, 2015).

2. Agents pathogènes

De nombreux facteurs tels que l'âge, la situation géographique, la nutrition et l'environnement sont des facteurs déterminants le type de micro-organisme qui engendre les maladies respiratoires. De plus, les processus d'élevage, les facteurs de stress, le changement climatique, les conditions non hygiéniques, les changements soudains de l'alimentation

et les faibles taux de la santé du troupeau sont identifiés comme des facteurs prédisposant à l'infection par des micro-organismes (Azizi et al., 2013).

Bien que plusieurs agents infectieux aient été associés à l'ORC, *Mannheimia haemolytica* (MH), *Pasteurella multocida* (PM), *Bibersteinia trehalosi* (BT) et *Mycoplasma spp.*, sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés dans les pneumonies bactériennes, généralement, ils se trouvent mélangés dans les isolats avec plus d'une espèce bactérienne impliquée (Gonzalez et al., 2016). La plupart de ces bactéries existent en tant qu'organismes commensaux du nasopharynx, des amygdales et des poumons de moutons en bonne santé (Glendinning et al., 2016).

On pense que les virus prédisposent le poumon à l'infection bactérienne par deux manières distinctes.

Premièrement: les agents viraux peuvent causer des dommages directs au niveau de la clairance respiratoire et le parenchyme pulmonaire, facilitant une translocation bactérienne des voies respiratoires supérieures et l'établissement de l'infection dans le poumon compromis.

Deuxièmement: l'infection virale peut interférer avec la capacité du système immunitaire pour répondre à une infection bactérienne (Martin et Bohac, 1986 ; Czuprynski et al., 2004).

Il est bien reconnu que l'effet d'un virus, normalement non fatal, combiné avec des bactéries résidentes dans le tractus respiratoire supérieur chez des individus sains, peut causer des pneumonies bactériennes fatales (Constable et al., 2017)

Le développement de ces dernières survient à l'occasion d'une augmentation de l'exposition des poumons aux bactéries, l'endommagement des défenses pulmonaires, ou les deux (Caswell et Williams, 2016).

3. Facteurs intrinsèques

En fonction de la gravité des maladies respiratoires et de l'état physique des animaux infectés, une morbidité et une mortalité élevées peuvent être enregistrées chez des animaux de tous les groupes d'âge. Ces maladies seules ou en combinaison avec d'autres conditions associées peuvent avoir un début aigu ou chronique et sont une cause importante des pertes pour l'industrie ovine (Pugh, 2002 ; Chakraborty et al., 2014).

3.1. Les défenses de l'appareil respiratoire

3.1.1. Défenses mécaniques

Il existe une sécrétion de mucus dans la trachée et les grosses bronches permettant de piéger les grosses particules iatrogènes. C'est l'appareil muco-ciliaire qui permettra de faire remonter ces impuretés qui seront ensuite dégluties.

Le surfactant, sécrété par les pneumocytes de type II permet quant à lui de lubrifier et d'imperméabiliser la surface alvéolaire limitant la pénétration des petites molécules (Weckley et Veit, 1995).

3.1.2. Défenses biochimiques

Un certain nombre de molécules bactéricides sont sécrétées par l'épithélium des voies respiratoires. On peut noter l'importance du lysozyme, enzyme lysant les parois bactériennes, de la fibronectine, limitant l'adhésion bactérienne, des interférons à rôle virucide et de la lactoferrine, capturant le fer dont les bactéries ont besoin pour se multiplier (Weckley et Veit, 1995).

3.1.3. Défenses cyto-immunologiques

Des macrophages alvéolaires sont présents mais en quantité plus faible. L'immunité pulmonaire est à la fois cellulaire et humorale. Cependant, d'après Arcangioli et Becker (2014), les IgA ne seront pas sécrétées avant l'âge de 3 semaines et la protection humorale ne repose alors que sur les IgG1 du colostrum (Weckley et Veit, 1995). De plus, le système immunitaire de type cellulaire semble moins efficace chez les adultes.

Les facteurs favorisants sont représentés par les conditions d'élevage qui jouent un rôle très important dans l'apparition de ces bronchopneumonies. Les mélanges d'animaux, l'absence de vide sanitaire total, l'hyper-concentration, le stress, les carences alimentaires, le froid, l'hygrométrie, la vitesse de l'air et la pollution de l'air des bâtiments sont autant d'éléments qui diminuent les capacités de défense naturelle des poumons (www.votreveto.net).

Chapitre III

Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

Sous-chapitre III-1: Rappels généraux sur le virus *Parainfluenza* type-3

I. Etiologie

I.1. Définition

Le virus *Parainfluenza* type 3 est un virus enveloppé du genre *Respirovirus* appartenant à la famille des *Paramyxoviridae*, et pourrait causer des maladies respiratoires chez de nombreuses espèces hôtes (Pringle et al., 1993; Wen et al., 2012).

I.2. Classification

La famille des *Paramyxoviridae* appartient à l'ordre *Mononegavirales*. Elle est subdivisée en deux sous-familles:

la sous famille des *Paramyxovirinae* : comprenant les genres *Respirovirus*, *Rubulavirus* et *Morbillivirus*.

La sous famille des *Pneumovirinae* : comprenant les genres *Pneumovirus*, et *Metapneumovirus* (Murphy et al., 1999).

Tous les virus inclus dans cet ordre sont constitués d'un seul brin d'ARN de polarité négative (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Le genre *Respirovirus* comprend également les virus *Parainfluenza* humains génétiquement et antigéniquement liés aux types 1 et 3 (hPIV₁ et hPIV₃) (Ellis, 2010; Wen et al., 2012), le virus *Parainfluenza* bovin type 3 (BPIV3) et le virus Sendai (Wen et al., 2012).

Selon la classification de génotype de BPIV3 on a le génotype A (BPIV3a), B (BPIV3b) et C (BPIV3c) (Zhu et al., 2011) dont le génotype A, qui a été identifié aux États-Unis, il est le plus commun. Les génotypes B et C ont été détectés pour la première fois en Australie et en Chine, respectivement (Zhu et al., 2011; Oem et al., 2013; Neill et al., 2015).

Auparavant, on avait pensé que le génotype C circulait uniquement en Chine mais récemment, il a été signalé à la fois en Corée du Sud et en Argentine (Maidana et al., 2012 Oem et al., 2013; Neill et al., 2015).

Le virus *Parainfluenza* type 3 caprin (CPIV3) est un nouveau membre, identifié à partir des troupeaux atteints de maladies respiratoires dans l'Est de la Chine en 2013 (Li et al., 2014).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

I.3. Structure générale du virus

Les virions de *Paramyxovirus* sont pléomorphes (sphériques, formes filamenteuses) de 150-350 nm de diamètre. Les virions sont enveloppés, recouverts de glycoprotéine (8-14 nm de longueur) et contiennent une nucléocapside à symétrie hélicoïdale, approximativement de 01 µm de longueur et 18 nm de diamètre. Le génome se compose d'une seule molécule linéaire d'ARN monocaténaire de polarité négative (MacLachlan et Dubovi, 2017)., il est composé de 15,456 nucléotides (Takimoto et Portner, 2004).

Les virus du genre *respirovirus* possèdent de 06 à 10 gènes séparés par des séquences conservées non codantes qui contiennent la terminaison, la polyadénylation et des signaux d'initiation pour la transcription des ARNm. La plupart des gènes produits sont présents dans des virions soit associés aux lipides d'enveloppe ou complexés avec l'ARN du virion (MacLachlan et Dubovi, 2017).

I.3.1. Protéines virales

Tableau 01 : Fonctions et terminologie des protéines de virion du genre *Respirovirus* (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Protéine codée du genre <i>Respirovirus</i>	Rôle (s) biologique (s)
HN	Hémagglutinine ou Protéine d'attachement: induction de l'immunité productive Neuraminidase: libération de virion, destruction des inhibiteurs de mucine
F	Protéine de fusion: fusion cellulaire, pénétration du virus, propagation cellulaire, contribution à l'induction de l'immunité protectrice
NP ou NC	Nucléoprotéine ou Nucleocapside: protection de l'ARN du génome
L et P	Transcriptase: Transcription du génome de l'ARN
M	Protéine matricielle: stabilité du virion
SH	Autres

Les protéines de virion sont classées en trois protéines de nucléocapside [protéine liée à l'ARN (NC), une phosphoprotéine (P) et une grande protéine polymérase (L)] et trois protéines membranaires [une protéine non glycosylée (M) et deux protéines d'enveloppe glycosylées -une protéine de fusion (F) et une protéine d'attachement, cette dernière étant une

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

hémagglutinine (H), une hémagglutinine-neuraminidase (HN) ou une glycoprotéine (G) qui n'a ni hémagglutinant ni activités neuraminidase (MacLachlan et Dubovi, 2017).

L'ensemble de la nucléocapside (NC), les phosphoprotéines (P) et la grande protéine (L) avec le génome forment la ribo-nucléoprotéine (RNP) du virus, ce dernier est typiquement de forme hélicoïdale. Les protéines P et L associées à la protéine NC ou libres dans le cytoplasme, se trouvent toujours dans un complexe et comprennent l'ARN polymérase virale essentiel à la transcription de l'ARNm viral et à la réplication de l'ARN génomique. La protéine M est la protéine virale la plus abondante dans une cellule infectée, elle est située sur la face interne de l'enveloppe et elle est essentielle dans l'assemblage du virus, le bourgeonnement et la libération des virions de la progéniture (Takimoto et Portner, 2004).

Les protéines non-structurales ou accessoires, V, C et D résultent de l'édition de l'ARN ou de l'insertion de résidus de nucléotides G dans le gène P par la polymérase virale. Cette édition résulte dans des cadres de lecture alternatifs, c'est une caractéristique des *Paramyxovirinae* et permet à un gène de coder plusieurs protéines. Les protéines V, C et D sont censées d'affecter l'inhibition de l'interféron α/β dans les cellules infectées par les *Respirovirus*. (Karron et Collins, 2007).

Les protéines NS1 et NS2 sont des protéines non-structurales qui existent uniquement chez les pneumovirus. Elles semblent moduler la réponse des cellules immunitaires contre l'infection. En effet, NS1 et NS2 ont été décrites comme des suppresseurs de l'induction de réponse d'interféron de type I et III (Bossert et al., 2003; Spann et al., 2004) ainsi que de la réponse des cellules T cytotoxiques (Kotelkin et al., 2006).

Les deux protéines d'enveloppe l'hémagglutinine-neuraminidase homotétramère (HN) et la glycoprotéine de fusion (F) l'homotrimère ont un rôle dans la pathogénie liée aux infections à *Paramyxovirus*. La glycoprotéine (HN, H ou G) est responsable de l'attachement cellulaire, tandis que la protéine F sert de médiateur de la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique de la cellule hôte (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Contrairement à l'entrée des virus par la voie endosomiale, la fusion membranaire initiée par la protéine F du *Paramyxovirus* ne dépend pas d'un environnement à pH faible. Les domaines de ces protéines transmembranaires sont exposés au milieu extracellulaire induisant des réponses d'anticorps protecteurs. (Karron et Collins, 2007).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

Les anticorps neutralisants spécifiques pour la glycoprotéine d'attachement (HN, H, ou G) inhibent l'adsorption du virus aux récepteurs cellulaires, mais les anticorps spécifiques à la protéine F peuvent également neutraliser l'infection virale (MacLachlan et Dubovi, 2017).

La ribonucléoprotéine est composée d'un génome, c'est une molécule d'ARN monocaténaire de polarité négative. Il est étroitement enrobé par la protéine de nucléocapside (NC). La structure de la nucléocapside contient également deux autres protéines, la phosphoprotéine (protéine P) et la grande protéine (protéine L), qui se produisent de manière discontinue comme les grappes. La NC est la protéine la plus abondante dans le virion et elle est censée être responsable, avec les protéines P et L de l'activité de l'ARN-dépendante de l'ARN polymérase (Hamaguchi et al., 1983). Des études sur l'immunité ont suggéré que la protéine NC de virus Sendai, un virus représentatif du genre *Respirovirus* de la famille *Paramyxoviridae*, induit la production d'anticorps IgG beaucoup plus que d'anticorps dirigés contre HN et F, et pourrait induire une immunité protectrice en particulier au stade tardif de l'infection par provocation (Sakaguchi et al., 1993).

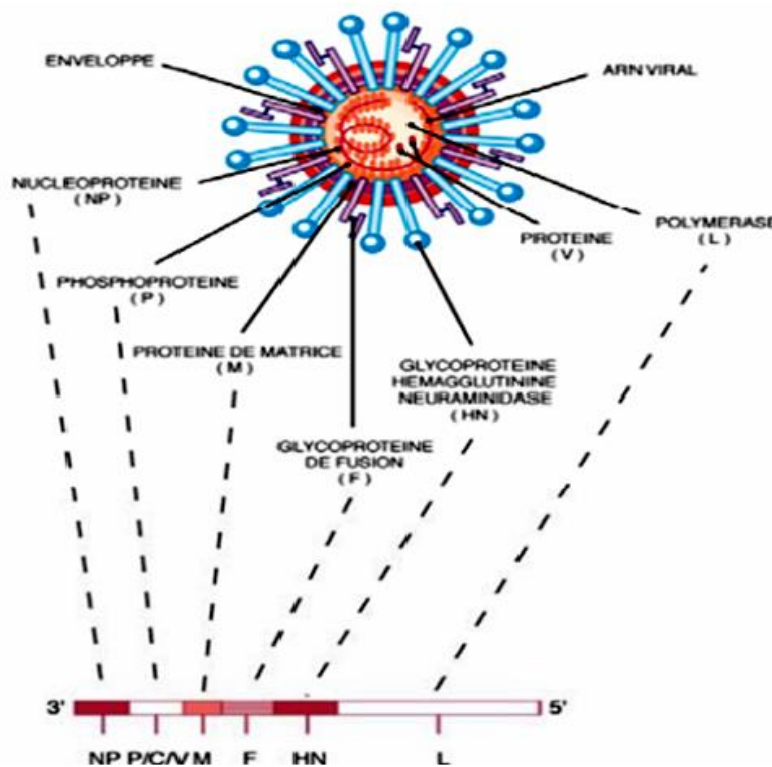


Figure 02: La structure et la carte génomique 3'-5' du virus genre *Respirovirus*

(Thiry, 2010)

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

I.3.1.1. Protéine de la nucléocapside

La protéine de la nucléocapside (NC) est l'une des protéines les plus abondantes dans les *Paramyxovirus* et se présente comme le premier gène transcrit, adjacente à la séquence chef à l'extrémité 3' de l'ARN génomique viral de tous les *Paramyxovirus*, à l'exception des pneumovirus, dans laquelle deux autres gènes non structuraux, NS1 et NS2 seront d'abord transcrits.

Cette protéine est composée de 489 à 553 acides aminés (aa) de poids moléculaire prédit de 53-58 kDa. La région N-terminale de la protéine NC est impliquée dans l'encapsulation de l'ARN viral, recouvre toute la longueur des ARN génomiques viraux de sens négatif et des antigènes de sens positifs pour former la nucléocapside hélicoïdale.

Cette structure hélicoïdale remplit plusieurs fonctions, notamment la protection contre la digestion par la nucléase, l'alignement des segments distaux d'ARN pour créer un promoteur terminal en position 3', l'interaction avec les protéines P et L pendant la transcription et la réplication et l'association avec la protéine M lors de l'assemblage du virus (Lamb et Parks, 2007).

I.3.1.2. Phosphoprotéine

La protéine P du *Paramyxovirus* a généralement une longueur de 400 à 600 acides aminés. Elle est fortement phosphorylée au niveau des résidus sérine et thréonine, principalement dans la région N-terminale (Lamb et Parks, 2007). Le module C-terminal et le domaine N-terminal de la protéine P jouent des rôles importants en tant que co-facteurs de la polymérase ainsi que dans l'assemblage de la chaîne naissante, respectivement. Le module co-facteur de la polymérase C-terminal est conservé dans la structure secondaire prédite pour tous les membres de *Paramyxovirinae*. Il contient des domaines P-P pour la multimérisation, pour les interactions de la protéine L et pour la liaison à la matrice du N-ARN (Horikami et al., 1992).

I.3.1.3. Protéine de la matrice

La protéine M est la protéine la plus abondante dans le virion, comprenant de 341 à 375 résidus ayant un poids moléculaire de 38,5-41,5 kDa. La charge nette à pH neutre est 14, ce qui en fait une protéine basique. Bien qu'il n'y ait pas de domaine transmembranaire ayant une longueur suffisante pour couvrir une bicouche lipidique, la protéine M est un peu hydrophobe et elle est associée de manière périphérique aux membranes (Lamb et Parks, 2007).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

Cette protéine est considérée comme l'organisateur central de la morphogénèse virale interagissant avec les queues cytoplasmiques des protéines membranaires intégrales, F et HN, la bicouche lipidique et les nucléocapsides (Blumberg et al., 1984; Sanderson et al., 1993; Stricker et al., 1994 ; Cathomen et al., 1998; Schmitt et al., 1999).

I.3.1.4. Protéine L

La protéine L, située dans la partie distale la plus promotrice du génome, est la protéine la moins abondante dans les particules virales. Une particule de *Paramyxovirus* ne contient qu'environ 50 copies de L (Lamb et al., 1976). La surexpression de la protéine L peut inhiber la croissance du virus (Banerjee et Barik, 1992). C'est une sous-unité essentielle de l'ARN de *Paramyxovirus* dépendant de l'ARN polymérase (RdRP). Le gène L contient environ 2200 acides aminés avec un poids moléculaire de 220-250 kDa.

La protéine L possède toutes les activités enzymatiques nécessaires à la polymérisation, au coiffage des extrémités 5', à la méthylation et à la polyadénylation aux extrémités 3' de l'ARNm (Grzelishvili et al., 2005; Ogino et al., 2005). Cette protéine s'associe à la protéine P pour former la polymérase virale active (Hamaguchi et al., 1983; Poch et al., 1990).

I.3.1.5. Protéine de fusion

La glycoprotéine F est une protéine membranaire intégrale de type I médiant la pénétration virale par fusion entre l'enveloppe du virion et la membrane plasmique de la cellule hôte à pH neutre. La protéine F est composée de 540 à 580 résidus acides aminés. Elle est synthétisée sous forme de précurseur inactif, F0, qui doit être clivé par protéolyse pour produire la protéine de fusion active, constituée de polypeptides F1 et F2 liés au disulfure, afin d'être biologiquement fonctionnels (Scheid et Choppin, 1974).

Cet événement de clivage est nécessaire pour que les virions de la progéniture deviennent infectieux (Nagai et al., 1976 ; Garten et al., 1980). Le clivage de F0 pourrait être un facteur déterminant de l'infectivité et de la pathogénicité de certains virus. Les Paramyxoviridae ont une séquence signal de clivage située à l'extrémité N-terminale de F avec un résidu basique unique ou multibasique au site de clivage. Le clivage des résidus multibasiques contenant F au site de clivage se produit de manière intracellulaire par la furine,

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

une endoprotéase de type subtilisine (Klenk et Garten, 1994), tandis que F avec un seul résidu basique au niveau du site de clivage doit être exprimée à la surface de la cellule et incorporée dans les virions libérés, puis peut être activée par clivage par addition de protéase exogène (Scheid et Choppin, 1974).

Celles qui présentent des résidus multibasiques au site de clivage présentent une virulence et se disséminent facilement à travers l'hôte, tandis que les souches ne contenant qu'un seul résidu basique au site de clivage sont avirulentes et tendent à se limiter aux voies respiratoire et digestive où la protéase sécrétée nécessaire est présente (Nagai et Klenk, 1977).

L'extrémité C-terminal de F possède un domaine transmembranaire hydrophobe (TM) qui ancre la protéine dans la membrane en laissant une courte queue cytoplasmique (~ 20 à 40 résidus). Un modèle 4-3 (heptad) de répétitions hydrophobes, appelées répétitions heptad, HRA et HRB peut être trouvé entre le peptide de fusion et le domaine TM, à environ 250 acides aminés séparés les uns des autres (Lamb et Parks, 2007). Des données biophysiques et des études cristallographiques ont montré que les protéines HRA et HRB peuvent former une structure hélicoïdale en épingle à cheveux ou en faisceau de six hélices (6HB) (noyau trimer) dans des homotrimères de protéine F et que cette formation de 6HB est étroitement liée à la fusion des bicouches lipidiques et on pense qu'elle couple l'énergie libre libérée lors du repliement des protéines à la fusion membranaire (Melikyan et al., 2000; Russell et al., 2003).

I.3.1.6. Protéine d'attachement

La protéine d'attachement est une autre glycoprotéine de Paramyxoviridae impliquée dans processus d'attachement de la cellule, qui est également une protéine membranaire intégrale (Lamb et Parks, 2007). La protéine de fixation du respirovirus, de l'avulavirus et du rubulavirus se lie aux récepteurs cellulaires contenant de l'acide sialique et est capable d'agglutiner les érythrocytes. En outre, ces protéines d'attachement ont également une activité neuraminidase qui clive l'acide sialique des particules du virus de la progéniture pour empêcher l'auto-agrégation virale (Scheid et Choppin, 1974) et permettre la libération de virions de la membrane cellulaire. Ainsi, la protéine a été désignée hémagglutinine-neuraminidase (HN).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

L'hémagglutinine-neuraminidase est une protéine membranaire de type II composée de 565 à 582 résidus (Hiebert et al., 1985), elle se présente à la surface des virions et infecte les cellules sous la forme d'un tétramère composé de paires d'homodimères (Thompson et al., 1988).

I.4. Cycle de replication du virus

L'entrée des *Paramyxovirus* dans la cellule s'effectue en deux étapes principales :
La fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire résulte suite à l'attachement du virion à la surface de la cellule. Les glycoprotéines de surface sont la clé de l'entrée du virus dans les cellules, et plus particulièrement la protéine F en provoquant la fusion membranaire. Les *Paramyxovirus* expriment à leur surface une seconde glycoprotéine, c'est la glycoprotéine d'attachement (HN, H ou G), capable de se fixer à un récepteur de la cellule cible chez la plupart des *Paramyxovirus* (Easton et al., 2004).

Après la liaison des glycoprotéines aux récepteurs cellulaires (1), le premier événement de la reproduction virale est la fusion du virus et les membranes lipidiques de la cellule hôte, la protéine F provoque cette fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de la cellule hôte, relarguant ainsi l'nucléocapside génomique virale (ARN simple brin de sens négatif) dans le cytoplasme (2). Par la suite, la transcription de ARNm de polarité positive à partir de l'ARN de polarité négatif est effectuée (3) (Figure 03) (Le Bayon et al., 2013).

Tout au long du cycle de réplication du virus, le génome existe sous forme d'un unique complexe ribonucléoprotéique. Seulement le NC peut servir pour la synthèse de l'ARN par le complexe RdRp (4), qui se compose des grandes protéines virales (L) et phosphoprotéine (P), en plus la protéine L contient tous des activités enzymatiques exercées par le complexe, tandis que P joue un rôle de co-facteur essentiel.

Les NC, P, et L sont des fonctions de complexes de base la replicase et la transcriptase. (Smallwood et Moyer., 2004; Dochow et al., 2012).

La réplication intracellulaire virale commence par la RdRP virale encapsulée dans le virion qui transcrit l'ARN du génome encapsidé en N en ARNm coiffé 5' et polyadénylés en 3'. Cet ARN de virion encapsidé avec le N et associé aux protéines P et L forme le complexe transcriptase qui est l'unité de transcription minimale du *Paramyxovirus*. En culture cellulaire,

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

un seul cycle de croissance prend environ 14 à 30 heures pour la plupart des *Paramyxovirus* (Lamb et Parks, 2007).

La transcription commence de manière linéaire à partir d'un seul site à l'extrémité 3' de l'ARN génomique. Puis il stoppe à la fin de chaque gène pour induire la polyadénylation de l'ARNm nouvellement synthétisé. Le processus appelé transcription 'stop-start' est dépendant de certains gènes de régulation qui modulent son efficacité. Ainsi, il y a un gradient décroissant de la transcription des gènes à partir de l'extrémité 3'. La réinitialisation du complexe RdRp ne se faisant pas systématiquement entre deux gènes, les gènes proches de l'extrémité 3' de l'ARN génomique sont les plus abondamment transcrits (Easton et al., 2004).

Après la traduction dans le réticulum endoplasmique rugueux (5), les glycoprotéines de surface (incluant HN/G pour les *Pneumovirinae* et quelques *Rubulavirus*) transitent par l'appareil de Golgi pour être exprimés sur la membrane à la surface de la cellule. La nucléocapside nouvellement formée ainsi que la protéine M sont assemblés à l'intérieur de la membrane cellulaire (6) avant le bourgeonnement de la progéniture virale (7) (Le Bayon et al., 2013).

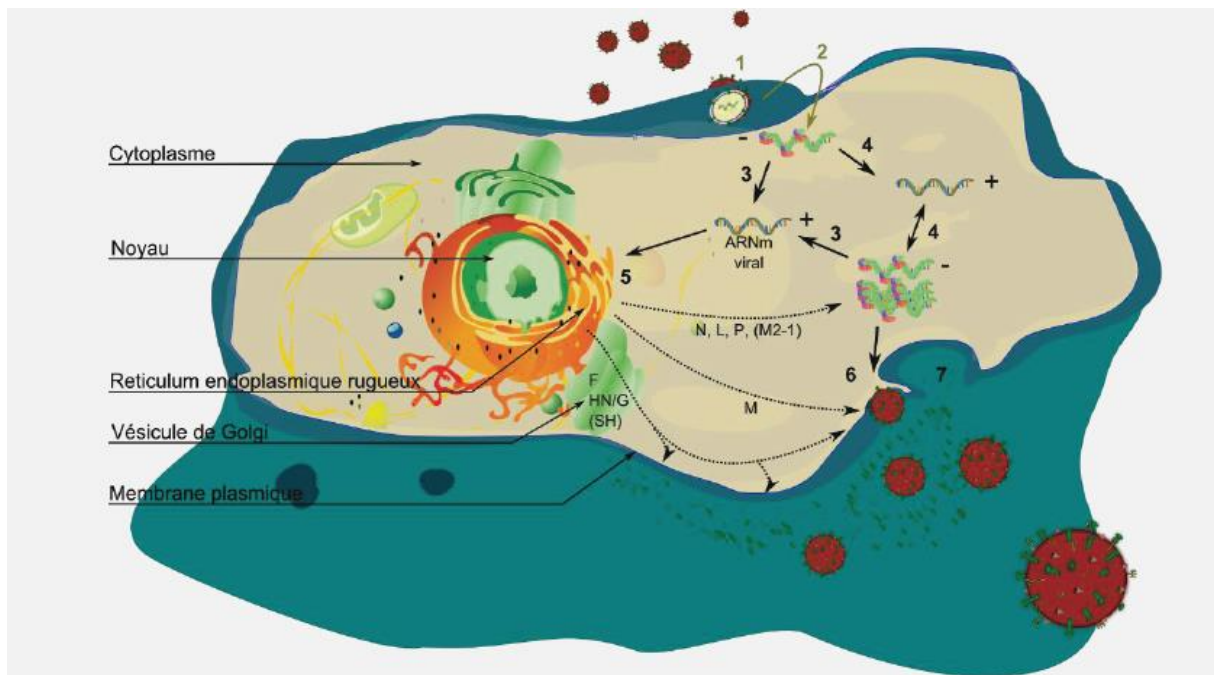


Figure 03: Cycle de réplication des *Paramyxovirus* (Le Bayon et al., 2013)

Sous-chapitre III-2: Maladie causée par le virus PI3

I. Immunité

Face aux pathogènes et notamment face aux infections virales, le système de défense de l'hôte combine des réponses innées et adaptatives. L'immunité innée représente une première ligne de défense mise en œuvre dès l'entrée du pathogène dans l'organisme (Caignard et al., 2012). Ces agents peuvent rencontrer la flore microbienne des cavités nasales et l'excrétion nasale (par exemple: les éternuements). Viennent ensuite le réflexe laryngé et de la toux, la clairance muco-ciliaire (avec le mucus recouvrant la muqueuse ciliée respiratoire ayant de nombreuses fonctions telles que le « trapping » des particules et des polluants et la non dessiccation de la muqueuse, la mise en contact avec des macrophages...), la réponse inflammatoire des cellules épithéliales, les macrophages alvéolaires puis les neutrophiles recrutés (Constable et al., 2017). Tandis que l'immunité adaptative permet la mise en place d'une mémoire immunitaire à long terme. Initialement décrits pour leur activité antivirale, les interférons de type I (IFNs-I) participent également à l'induction de l'ensemble des réponses immunitaires. Ces cytokines étant essentielles à la mise en place d'une réponse antivirale efficace. Les virus ont développé de nombreux mécanismes permettant de bloquer leur expression et leur signalisation. Les stratégies d'évasion de ces virus impliquent essentiellement les protéines non structurales codées par le gène de la phosphoprotéine (P). Ces facteurs de virulence ont la capacité d'interagir simultanément ou séquentiellement avec plusieurs protéines cellulaires, impliquant de multiples interfaces et des mécanismes complexes (Caignard et al., 2012).

Le système mucociliaire joue un rôle majeur dans la défense physique contre les micro-organismes inhalés (Traub-Dargatz et al., 1992). Il a été expliqué que dans certaines infections respiratoires virales la prolifération et la pénétration des bactéries a été causée par la diminution marquée du nettoyage des muqueuses en raison de la destruction de l'activité ciliaire dans les voies respiratoires (Yates, 1982 ; Carriere et al., 1983 ; Trigo et al., 1984; Cutlip et al., 1996; Narita et al., 2000). Il a été suggéré qu'il y avait plusieurs mécanismes qui contribuent à la formation de pneumonie dans les infections à virus PI3 qui altèrent la fonction des macrophages alvéolaires et détruisent les cils de la muqueuse bronchique. Cela compromet le mécanisme de suppression naturelle (mécanisme de défense pour enlever les organismes pathogènes des voies respiratoires inférieures) et les rend sensibles à une infection bactérienne secondaire (Radostits et al., 1994), en particulier l'infection par *P. haemolytica*

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

(Brogden et al., 1998). L'infection par le virus PI3 sans complications ne semble pas être une cause importante de décès, mais cela peut entraîner la mort à cause d'une pneumonie bactérienne (Dungworth, 1993).

Les virus respiratoires tels que le BRSV et le BPIV3 provoquent des dommages primaires au niveau des voies respiratoires supérieures et au niveau des poumons, entraînant la suppression du mécanisme de défense immunitaire local, ce qui peut faciliter la multiplication rapide des bactéries conduisant à une pneumonie aiguë à chronique de manière synergique. (Caswell, 2014).

II. Pathogénie

Le virus *Parainfluenza* type 3, comme les autres virus respiratoires, se transmet principalement par des gouttelettes (aerosols). Une fois inhalé dans les voies respiratoires, le virion de PIV3 rencontrerait d'abord la muqueuse avec une teneur élevée en acide N-acétyl-neuraminique (acide sialique). C'est un substrat naturel pour l'activité neuraminidase de la glycoprotéine HN de l'enveloppe virale. Basé sur des études menées sur des sécrétions nasales bovines *in vitro* (Morein et Bergman, 1972) il a été proposé que la molécule HN de l'enveloppe virale se lierait spécifiquement et séquentiellement aux résidus d'acide sialique dans le mucus, causant sa dégradation et permettant efficacement la pénétration du virus dans cellules épithéliales cibles sous-jacentes. Cette hypothèse n'a jamais été formellement prouvée pour BPIV3 ou d'autres virus avec des neuraminidases d'enveloppe en raison de l'absence d'un modèle approprié.

Des études sur le virus de la grippe humaine et des cultures de l'épithélium des voies respiratoires suggèrent que l'activité de la neuraminidase pourrait éliminer les récepteurs de leurre sur les mucines, les cils et le glycocalix cellulaire, dont la liaison pourrait empêcher l'accès des virus aux récepteurs fonctionnels des cellules épithéliales cibles (Matrosovich, 2004).

La pathogénie de l'infection par BPIV3 au niveau cellulaire commence lorsque la glycoprotéine HN de l'enveloppe virale se lie aux résidus d'acide sialique, probablement avec des liaisons spécifiques, sur les glycoprotéines et les glycolipides des cellules de l'hôte (Perlman, 1999). Ceci est accompli grâce à l'activité d'hémagglutination de la protéine HN qui est favorisée par le pH extracellulaire (neutre) et à la concentration en halogénure (Karron et Collins, 2007). La présence des molécules de récepteur de l'acide sialique explique l'infection

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

documentée de divers types de cellules dans le système respiratoire. Ces cellules comprennent des cellules trachéales, des bronches ciliées, cellules bronchiolaires ciliées et non ciliées et des pneumocytes de type I et II. (Tsai et Thomson, 1975; Bryson et al., 1983). Moins bien documentée, l'infection d'une variété de types de cellules de la cavité nasale et du pharynx est probable. Une fois liée, la protéine HN interagit avec la protéine F, provoquant un changement conformationnel de la protéine F, entraînant une fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de la cellule hôte (Lamb et al., 2006). Une fois la fusion réalisée, il y a un repliement des protéines dans la membrane cellulaire qui permet à la nucléocapside virale d'entrer dans la cytoplasme (Karron et Collins, 2007). Après décapsidation ou élimination de la protéine M de la nucléocapside par un mécanisme inconnu, la réplication virale se produit dans le cytoplasme et elle est associée à la présence de corps d'inclusion intracytoplasmiques (Tsai et Thomson, 1975; Bryson et al., 1983).

Cela implique, en premier lieu, la transcription d'ARNm à médiation par polymérase virale qui sert de modèle pour la traduction des protéines virales, puis après l'accumulation des protéines virales, la réplication de l'ARN par un antigénome intermédiaire ou (brin plus) qui est une copie complémentaire exacte du génome (Karron et Collins, 2007). Il y a deux modifications post-traductionnelles notables des glycoprotéines virales : la première, une condition préalable à l'infectivité virale, est le clivage du précurseur inactif de la protéine F (F₀) en une forme fusigène comprenant les sous-unités F1 et F2 qui restent liées par des liaisons disulfure lorsqu'elles sont insérées dans la membrane plasmique. Ce clivage est accompli par des protéases endocytotiques, notamment la furine, de la voie de sécrétion exocytaire de l'appareil de Golgi (Nagai, 1995). La seconde, qui empêche l'auto-fixation des particules virales et leur réattachement aux cellules infectées, et facilite le bourgeonnement, est l'élimination des résidus d'acide sialique des glycoprotéines virales nouvellement formées. Ce processus est accompli par l'activité neuraminidase de la protéine HN qui est favorisée par le pH plus faible et la concentration en halogénures dans les organites intracellulaires qui transportent les glycoprotéines à la surface des cellules (Karron et Collins., 2007).

La protéine M joue de multiples rôles dans l'assemblage, le bourgeonnement et la libération des virus de la descendance, notamment la coordination de l'assemblage et du transport intracellulaire des nucléocapsides vers la membrane cellulaire et le transport des glycoprotéines F et HN du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi vers la

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

membrane cellulaire, la concentration des glycoprotéines virales dans la membrane de la cellule hôte et la formation de bourgeons de virions naissants à partir de la membrane plasmique de la cellule hôte (Karron et Collins., 2007). Le bourgeonnement se produit de préférence à partir de la surface apicale (luminale) des cellules infectées (Tsai et Thomson, 1975; Bryson et al., 1983; Takimoto et Portner, 2004; Karron et Collins, 2007).

Le BPIV3 est capable d'infecter un grand nombre de types cellulaires de l'appareil respiratoire car il reconnaît comme premier récepteur l'acide sialique des cellules (Tamura et al., 2013). Il induit une hyperplasie et une nécrose de la muqueuse, une perte des cellules ciliées et finalement une pneumonie interstitielle. Le BPIV3, contrairement au BRSV, se multiplie dans les macrophages du poumon. Il en résulte une altération des fonctions macrophagiques (baisse de la phagocytose, de la cytotoxicité des cellules infectées, sécrétions de prostaglandines...). Par ailleurs, et contrairement au BRSV, l'infection par le BPIV3 entraîne chez le veau une perte de la ciliature des cellules ciliées trachéales, la présence d'inclusions cytoplasmiques et la desquamation et destruction des cellules épithéliales respiratoires. L'effet cytopathique observé, et potentiellement l'altération de la réponse immunitaire, expliquerait ainsi le rôle du BPIV3 comme agent initiateur des bronchopneumonies infectieuses. Malgré ces observations, le pouvoir pathogène direct du virus n'est pas encore clairement établi. La plupart des infections expérimentales n'induisent pas ou peu de signes cliniques et sur le terrain le virus est souvent détecté en présence d'autres pathogènes (Salem, 2018).

III. Symptômes

Dans les conditions d'élevage, les signes cliniques de l'infection par le virus *Parainfluenza* type 3 sont souvent obscurcis par la concurrence des infections des autres agents pathogènes. Lors de l'inoculation intra-nasale ou intra-trachéale de PIV3 seul, les veaux ne montrent qu'une légère fièvre et un écoulement nasal séreux (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Le virus *Parainfluenza* type 3 engendre des infections virales non compliquées allant des signes asymptomatiques aux signes légers des voies respiratoires supérieures. Les atteintes des voies respiratoires supérieures n'ont jamais été fatales (Underwood et al., 2015). Chez les veaux, les agneaux et les chèvres, l'infection est généralement sub-clinique, mais peut parfois se manifester par une fièvre, du larmoiement, des écoulements séro-muqueux,

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

une dépression, une dyspnée et une toux. Quelques animaux peuvent développer une pneumonie interstitielle qui affecte sélectivement les portions cranio-ventrales des poumons. La durée des infections respiratoires modérées causées par le virus *Parainfluenza* est de 3-4 jours qui est habituellement suivie d'une reprise complète et sans incident (MacLachlan et Dubovi, 2017). Le virus est retrouvé dans le jetage et les larmes des animaux malades pendant quelques jours (Thiry, 2010).

Les signes cliniques deviennent plus sévères suite aux associations d'autres virus pathogènes, tels que le BVD (Bovine Viral Diarrhea) ou une infection bactérienne secondaire (Underwood et al., 2015).

En cas de circonstances stressantes, les petits et les grands ruminants peuvent développer une bronchopneumonie bactérienne sévère appelée fièvre du transport (Shipping Fever). Dans ce cas, l'infection seule ou en association avec d'autres infections virales prédispose l'animal à une infection bactérienne secondaire, en particulier l'infection par *Mannheimia haemolytica*. Ce syndrome est caractérisé par un écoulement nasal purulent, une toux, une respiration rapide, une anorexie et une hyperthermie. Dans cette situation, la mortalité par une bronchopneumonie fibrineuse aiguë est notée.

Ce genre de maladies est favorisé par une mauvaise hygiène, l'encombrement, le transport, les conditions climatiques sévères et d'autres causes de stress (MacLachlan et Dubovi, 2017).

IV. Lésions

Les virus sont introduits principalement par l'inhalation et causent une bronchiolite primaire (Constable et al., 2017). Celle-ci se caractérise par une inflammation et un œdème des voies respiratoires, une production de mucus augmentée et une nécrose des cellules épithéliales respiratoires (Florin et al., 2017).

Beaucoup d'informations sont connues sur les mécanismes moléculaires de l'interaction du virus à la cellule hôte impliqués dans l'infection et la réplication des virus *Parainfluenza*, y compris BPIV3, mais on sait beaucoup moins sur la nature spécifique de la lésion cellulaire *in vivo*. Les lésions cellulaires peuvent impliquer différentes voies pour les différents virus *Parainfluenza* dans les différentes espèces hôtes (Karron et Collins, 2007). Des études sur l'infection par le BPIV3 et le HPIV3 chez les bovins et les humains respectivement dans les cultures primaires de cellules épithéliales des voies respiratoires ciliées ont montré la voie de la cytopathologie, y compris la formation de syncytium (Zhang et al., 2005 ; Goris et al., 2009).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

En revanche, dans les premières études, sans doute plus pertinentes, des cultures d'organes trachéaux infectés par le BPIV3 provenant de veaux nouveau-nés, Campbell et al. (1969), ont constaté une réduction initiale de la hauteur épithéliale, une perte de cils, des corps d'inclusion intra-cytoplasmiques, avec un gonflement et une desquamation des cellules superficielles, suivis d'une prolifération épithéliale et d'une formation de syncytium. Des résultats similaires ont été signalés dans des cultures d'organes de fœtus humains et d'adultes infectés par le HPIV3. (Craighead et al., 1968).

Les changements épithéliaux dans ces cultures d'organes étaient similaires à ceux rapportés dans les voies respiratoires des veaux atteints d'infections expérimentales non compliquées par le BPIV3 (Dawson et al., 1965; Omar et al., 1966; Tsai et Thomson, 1975 ; Bryson et al., 1979 ; Bryson et al., 1983) et ont été attribués à la nécrose (Bryson et al., 1983).

Au-delà des observations morphologiques suggestives, il n'existe aucune preuve formelle que la cytopathologie associée au BPIV3 est causée par la nécrose, l'apoptose ou la mort cellulaire programmée, comme dans le cas de l'infection par le virus Sendai (mPIIV) chez son hôte naturel la souris (Garcin et al., 1998), ou par un autre mécanisme de mort cellulaire ou une combinaison de ces deux mécanismes (Fink et Cookson, 2005).

Macroscopiquement, les lésions observées sont pulmonaires, évoquant une pneumonie interstitielle, les lobes crâniens étant les plus fréquemment atteints. Ils présentent des petites zones d'hépatation rouge. Particulièrement des zones de consolidation avec décoloration gris-rouge et d'atélectasie ainsi que la présence d'une congestion diffuse et d'un œdème pulmonaire ont été déterminées dans des poumons infectés naturellement et expérimentalement par les virus respiratoires (Ide et al., 1969; Yates, 1982; Belknap et al., 1995; Narita et al., 2002; MacLachlan et Dubovi., 2011; Rosadio et al., 2011; Sacco et al., 2012).

L'étude histopathologique a révélé la présence d'une nécrose et une inflammation des petites voies aériennes des poumons, en particulier une bronchite et une bronchiolite avec accumulation d'exsudats cellulaires dans la lumière des voies aériennes affectées (MacLachlan et Dubovi., 2017). Une hyperplasie des bronches, des bronchioles et des pneumocytes de type II, l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires, une atélectasie, une hyperplasie lymphoïde, des inclusions éosinophiles dans l'épithélium des voies respiratoires, sont observées dans ces infections virales (Ide et al., 1969; Viuff, 1996 ; Brodersen et al., 1998; Narita et al., 2000, 2002; Sacco et al., 2014).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

Les cellules épithéliales des voies respiratoires sont les principales cellules cibles pour le virus PI3, mais les pneumocytes de type II et les macrophages alvéolaires sont également infectés (MacLachlan et Dubovi., 2017), parfois avec la présence d'inclusions acidophiles dans les cellules des bronchioles et les cellules épithéliales alvéolaires (Thiry, 2010).

L'infection des macrophages alvéolaires interfère avec les mécanismes de protection mucociliaires normaux des poumons ce qui les prédispose à une invasion bactérienne et au développement d'une pneumonie (MacLachlan et Dubovi, 2017).

L'inoculation expérimentale de virus *Parainfluenza* type 3 ou l'un des divers adénovirus ovins peut entraîner l'apparition de zones d'hépatisation rougeâtre dans les lobes apicaux et cardiaques, caractérisées histologiquement par une hyperplasie de l'épithélium bronchiolaire, une inflammation interstitielle mononucléaire et une bronchiolite non-suppurative (Sharp et Nettleton, 2007). En cas de maladie naturelle, cependant, ces virus, ainsi que d'autres, comme divers virus respiratoires syncytiaux respiratoires ovins (Bryson et al., 1988a), divers Réovirus et l'herpès virus bovin type 4 (Sharp et Nettleton, 2007), jouent seulement un rôle prédisposant ou exacerbant pour les pneumonies bactériennes aiguës.

V.Diagnostic

V.1.Diagnostic clinique

Classiquement, les méthodes de diagnostic des maladies respiratoires sont basées sur des observations de signes cliniques, donc sur l'examen général et l'examen spécial respiratoire. Les atteintes respiratoires se caractérisent par de la dyspnée, de la toux, du jetage nasal voire oculaire, divers degrés d'abattement, de l'anorexie / un faible score de remplissage du rumen, de la fièvre allant de 40 à 41°C, des indications d'une pneumonie à l'auscultation, et un degré variable de réponse au traitement (Constable et al., 2017; Ives et Richeson, 2015).

Bien que le diagnostic clinique puisse être fait rapidement pour des cas sévères ou avancés, il est plus difficile d'identifier les animaux nouvellement infectés, dans des stades précoces de la maladie. Le repérage de ces stades est un facteur critique pour la bonne prise en charge de ces pathologies. En effet, plus le traitement médicamenteux est mis en place tôt dans le processus pathologique, plus il sera efficace. Les retards dans la mise en place d'un traitement sont considérés comme des facteurs majeurs d'échec de traitement (Constable et al., 2017).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

V.2. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de l'infection par le virus *Parainfluenza* type 3 est le plus souvent réalisé par l'isolement du virus dans des cultures cellulaires, la détection de l'antigène viral ou l'acide nucléique dans les prélèvements ou par la sérologie qui démontre une augmentation du titre d'anticorps (MacLachlan et Dubovi, 2017). Chaque méthode a ses avantages et ses limites. Les technologies récentes ont conduit à une domination croissante des tests basés sur les acides nucléiques (Landry et Ferguson, 2000).

La présence de l'infection par le virus *Parainfluenza* type 3 dans de nombreux pays du monde a été documentée principalement par l'isolement du virus et par les tests sérologiques.

Bien que l'isolement du virus puisse être effectué en culture cellulaire, il est souvent infructueux et constitue un processus fastidieux. Plusieurs tentatives ont été faites pour développer un test de diagnostic plus efficace, y compris des approches PCR qui peuvent détecter les acides nucléiques de BPIV3 dans des échantillons de bovins (Thonur et al., 2012).

En général, les tests sérologiques, y compris l'immunofluorescence indirecte (IF), le test de séro-neutralisation (SNT), la fixation du complément (CF), l'inhibition de l'hémagglutination (HI) et le test immuno-enzymatique (ELISA) ont été fréquemment utilisés pour détecter l'infection par le BPIV3 (Key et Derbyshire, 1984; Adair, 1986; Trybala et al., 1989 ; MacLachlan et Dubovi, 2017).

Plusieurs études ont utilisé différentes méthodes de détection du PIV3 à partir du sérum, écouvillon nasal, et/ou des poumons lésés des ruminants. En 2016, Saeed et al., ont mis en évidence le PIV3 par la recherche des antigènes en utilisant le test d'ELISA direct, les cas positifs obtenus par ce dernier ont été confirmés par la technique d'immunofluorescence direct (DFAT) et la détection du génome viral par RT-PCR.

Il a été décrit que la méthode de l'immunopéroxydase offre la possibilité de montrer clairement les antigènes viraux dans les lésions pulmonaires (Bryson et al., 1988b).

Les écouvillons nasaux ou les liquides de lavage trachéal sont les échantillons de choix pour la détection du virus, et peuvent être récupérés à partir des jetages nasaux pendant les 7 à 9 jours après l'infection sur cultures cellulaires d'origine bovine. Le virus peut être identifié

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

dans les cellules nasales, décharges ou tissus respiratoires par la coloration d'immunofluorescence, réaction d'amplification en chaîne par polymérase en temps réel (RT-PCR) ou par l'immuno-histochimie. Cependant, à cause de la grande variété d'agents associés aux maladies respiratoires et la forte incidence de l'infection sub-clinique du virus *Parainfluenza* type 3, la simple détection du virus n'est pas une preuve de toute causalité de la maladie. L'interprétation des résultats nécessite une évaluation de l'état clinique général de l'animal et du troupeau (MacLachlan et Dubovi, 2017).

V.2.1. Isolement du virus

Au laboratoire, la détection des infections à PIV3 est classiquement réalisée par isolement du virus dans la culture cellulaire (technique standard d'or et de choix) (Conceicao et al, 2007; Wen et al., 2012). Le virus induit la formation de syncytia et des inclusions intracytoplasmiques (Waner, 1999).

Des études menées dans les années 1960, ont montré que virus BPI3 peut se développer *in vitro*, dans des cellules d'origine bovine, porcine et humaine, et que cette croissance était associée à un développement d'un effet cytopathologique caractérisé par la formation de plaques, syncytia et corps d'inclusions éosinophiliques intracytoplasmiques (Dinter et al., 1960 ; McKercher, 1963; Burroughs et Suleiman, 1963).

Par la suite, des différences de la morphologie des plaques et formation de syncytia ont été signalées parmi les isolats de virus BPI3 (Shibuta et al., 1981; Shibuta et al., 1983).

La lignée cellulaire MDBK (Madin Derby Bovine Kidney) est une culture cellulaire très sensible pour la propagation du BPIV3 (Conceicao et al., 2007; Wen et al., 2012).

Théoriquement au moins, un seul virion viable présent dans un prélèvement peut être cultivé dans des milieux de culture, en l'élargissant ainsi pour produire suffisamment de matériel pour permettre une meilleure caractérisation détaillée (MacLachlan et Dubovi, 2017).

Un avantage de la culture cellulaire est qu'elle peut parfois identifier les virus qui ne pourraient pas être cliniquement suspectés (Landry et Ferguson, 2000).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

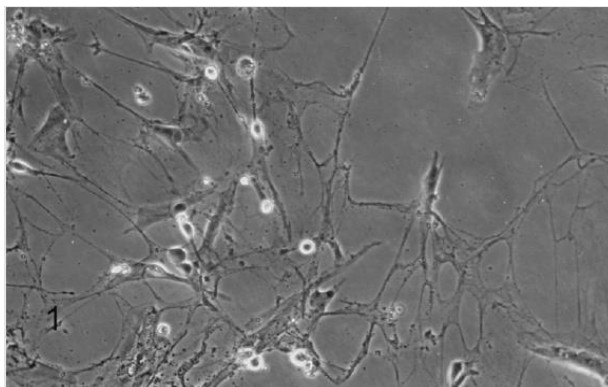


Figure 04 : Effet cytopathogène du virus PIV3 sur culture de cellules MDBK à partir du prélèvement des poumons d'ovin (Hearne et al., 2008)

V.2.2. Sérologie

La sérologie est le plus souvent utilisée pour le diagnostic lorsque les méthodes basées sur l'acide nucléique ou autres ne sont pas disponibles ou pour les infections dans lesquelles le titre viral diminue avant l'apparition des signes cliniques (Murray et al., 2016).

Le test ELISA fournit un outil essentiel pour détecter la présence d'anticorps contre les microorganismes pathogènes, ce test est largement utilisé dans l'industrie vétérinaire pour contrôler et surveiller les maladies (Reddy et al., 1997; Wawegama et al., 2014).

Plusieurs travaux ont détecté la présence des anticorps contre PIV3 par la technique d'ELISA (Yesilbag et Gungor, 2009 ; Calderon, 2011 ; Tiwari et al., 2016 ; Contreras-Luna et al., 2017).

V.2.3. Technique d'immunofluorescence

L'utilisation de la technique d'immunofluorescence pour la détection du PIV3 était rapportée par Van Der Maaten (1969) et Melvin et al. (1971). Cette technique est l'une des plus importantes techniques sensibles et spécifiques utilisées pour la détection de l'antigène et des anticorps pour différents virus (Ray et Minnich, 1987). En outre, la FAT est considérée comme un test rapide, simple et pas cher par rapport aux techniques ELISA et PCR. Ce test a été utilisé pour détecter l'antigène de PIV3 à partir des écouvillons nasaux prélevés sur des bovins présentant des maladies respiratoires (Alkan et al., 2000) et même dans les tissus de pneumonies (Saaed et al., 2016).

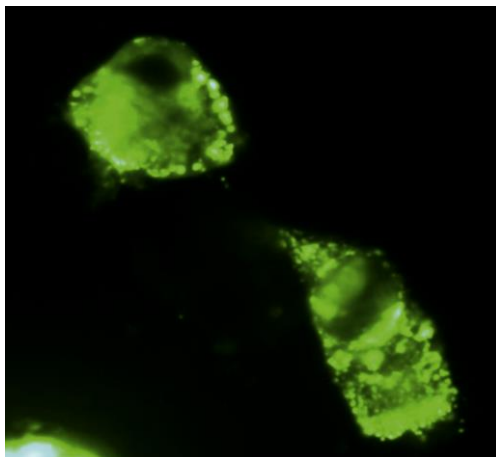


Figure 05: Technique d'immunofluorescence directe: détection de l'infection dans les cellules épithéliales respiratoires par le virus *Parainfluenza* à partir des écouvillons nasaux (Murray et al., 2016).

V.2.4. Biologie moléculaire: Réaction d'amplification en chaîne par polymérase transcriptase inverse en temps réel (RT-PCR)

La détection de petites quantités de l'acide nucléique viral est accomplie par des méthodes d'amplification de la cible y compris la PCR ou les technologies d'amplification de signal comme capture hybride. Les méthodes basées sur l'acide nucléique ne reposent pas sur la propagation de virions infectieux viables, ce qui permet une plus grande possibilité dans la collecte et le transport des spécimens et à étendre les tests à des virus qui ont été difficiles à répliquer dans la culture (Murray et al., 2016).

La PCR en temps réel (RT-PCR) est un outil moléculaire nécessaire pour la détection du virus *Parainfluenza* type 3 à partir d'échantillons d'acide ribonucléique (ARN) provenant de cellules des poumons des animaux abattus. Ceci est suivi par séquençage ainsi que les modèles d'enzymes de restriction du fragment amplifié du gène F qui confère la confirmation de la distinction des isolats. La disponibilité des amorces convenables de PCR permet la détection du virus *Parainfluenza* ovin spécifiquement (Lyon et al., 1997).

L'analyse phylogénétique de l'acide aminé ainsi que les séquences nucléotidiques sont également importantes (Maidana et al., 2012).

La RT-PCR multiplex peut aider à distinguer le virus *Parainfluenza* d'autres virus respiratoires comme l'adénovirus (Osiowy, 1998). L'amplification basée sur la séquence d'acides nucléiques (NASBA) a été développée pour lesquels comme les amorces ainsi que

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

des sondes ont été choisies parmi le gène de l'hémagglutinine-neuraminidase (HN) ainsi que de la phosphoprotéine (P) du virus *Parainfluenza* (Hibbitts et al., 2003; Rosadio et al., 2011).

V.2.5. Histopathologie

Microscopiquement ou histologiquement, la présence de lésions de bronchiolite avec des inclusions éosinophiles intracytoplasmiques et souvent des syncytia, suggèrent la présence d'une infection par BPIV3 ou par BRSV. Ces lésions peuvent être différenciées le plus efficacement et de manière cohérente avec coloration immuno-histochimique (Haines et al., 1992).

VI. Prophylaxie

L'infection par le virus PI3 est habituellement considérée comme une maladie relativement bénigne, ne nécessitant pas la mise en œuvre d'une prophylaxie. Cependant, les complications déclenchées par les autres microorganismes ont suscité un intérêt croissant pour les vaccins contre le PI3 (Martin, 1983).

VI.1. Prophylaxie médicale

Le virus *Parainfluenza* bovin 3 utilisé dans un vaccin intranasal bovin atténué est antigéniquement apparenté à celui des ovins—souche 5 et a été utilisé pour la vaccination des moutons dans des études expérimentales (Davies et al., 1980).

Dans une étude, le vaccin a été administré par voie intra-nasale à des brebis d'une ferme, ce qui a entraîné une séroconversion de nombreux moutons et des épidémies négligeables de pneumonie autour de la période d'agnelage; la protection du troupeau semblait durer une saison. Par la suite, les brebis et les agneaux d'autres exploitations ont été vaccinés et dans ces exploitations où la pasteurellose a entraîné moins de mortalité que prévu (Rodger, 1989).

Cependant, dans des études plus récentes, la vaccination contre ce virus n'a pas semblé réduire l'incidence de la pneumonie (Thoney et al., 2008). Il faut faire attention lors de l'utilisation des vaccins non approuvés pour les moutons contenant un virus vivant modifié pour lequel il n'existe aucune donnée de sécurité (Scott, 2011).

La prévention et le contrôle des maladies reposent sur un bon élevage, des stratégies de gestion visant à réduire le stress et une vaccination appropriée (Ballash et Kudron, 1993; Elze et Selbitz, 1993; Rebhun et al., 1995; Radostits et al., 2000).

Chapitre III : Atteintes respiratoires dues au virus *Parainfluenza* type 3

VI.2. Prophylaxie sanitaire

Une bonne hygiène générale, des paillages, raclages, curages réguliers évitent la prolifération et la conservation de germes qui, s'ils ne sont pas forcément directement impliqués dans une maladie respiratoire, peuvent induire une faiblesse immunitaire y prédisposant. De même, les vides sanitaires dans les bâtiments d'élevages sont importants. Ils permettent de diminuer la pression infectieuse entre chaque lot. Cependant, de nombreux bâtiments d'élevage contiennent plusieurs lots d'âges différents, ce qui empêche la mise en place de vide sanitaire (Norguet, 2015).

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

Matériels

I. Enquête sur terrain (au niveau des élevages)

I.1. Régions d'étude

L'enquête transversale a été effectuée sur des élevages situés dans deux régions d'Algérie comportant trois communes dans la wilaya de Boumèrdes et cinq dans la wilaya de Batna.

Les élevages ont été choisis selon les critères suivants :

- Présence des atteintes respiratoires chez les ovins,
- Coopération des services vétérinaires et des éleveurs pour faciliter l'accès aux élevages, de réaliser les prélèvements nécessaires et répondre au questionnaire préétabli pour l'enquête.

I.2. Echantillons Animaux

Les prélèvements ont été réalisés sur des ovins de 23 élevages appartenant à des propriétaires privés, répartis sur deux régions d'étude Boumerdes et Batna.

Au total, 108 prélèvements sanguins ont été effectués sur les ovins âgés de 04 mois à 06 ans, des deux sexes pour l'étude sérologique et 108 écouvillons nasaux ont été prélevés pour la recherche du génome du virus *Parainfluenza* bovin type 3 par des techniques moléculaires.

Le matériel utilisé pour réaliser les prélèvements sur les animaux vivants est le suivant :

- Des tubes sans anticoagulant (type Vacutainer), porte-aiguilles et aiguilles à usage unique pour les prélèvements sanguins (Photo 01).
- Des écouvillons avec milieu de transport (VTM) pour les prélèvements d'écouvillons nasaux (Photo 02).

I.3. Collecte des données

Une fiche des commémoratifs a été remplie pour chaque élevage et pour chaque animal inclus dans cette étude (Annexe 1).

I.3.1. Prélèvements sanguins

Les échantillons sanguins ont été prélevés à partir de la veine jugulaire de chaque animal, à l'aide d'une aiguille jetable dans un tube sous vide stérile (type Vacutainer) (Photo 03), et transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire. Les prélèvements ont été centrifugés à 3000 tours/ min (rpm) pendant 10 minutes pour obtenir le sérum (Photo 05).

Les sérums ont été récupérés dans des tubes Eppendorf (01ml) identifiés et conservés à - 20 C° jusqu'à leur analyse.

I.3.2. Ecouvillons nasaux

Les sécrétions nasales obtenues par écouvillonnage ont été réalisées sur des ovins présentant des atteintes respiratoires (jetage, écoulement nasal et hyperthermie, etc....) (Photo 04). Ces écouvillons ont été placés dans 03 ml de milieu de transport (VTM) dans des cryotubes et conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation (Photo 06).



Photo 01: Tube stérile (type Vacutainer) . (Originale)



Photo 02: Ecouvillon nasal avec milieu de transport (VTM). (Originale)



Photo 03: Prélèvement sanguin chez une brebis. (Originale)



Photo 04: Prélèvement du mucus nasal chez une brebis. (Originale)

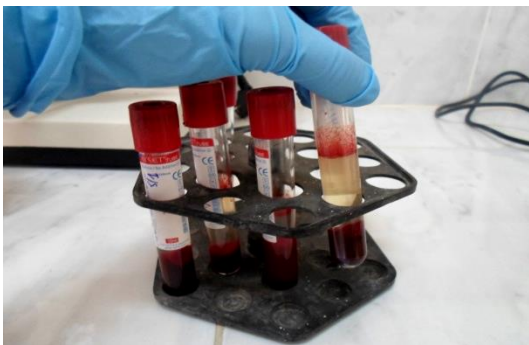


Photo 05 : Sérum sanguin obtenu après centrifugation. (Originale)



Photo 06 : Transfert du liquide d'écouvillonnage nasal dans un cryotube. (Originale)

II. Enquête au niveau de l'abattoir

II.1. Lieu d'étude

L'étude post-mortem pour la recherche des lésions pulmonaires a été réalisée au niveau de l'abattoir de la wilaya de Batna au cours de la période allant du mois Décembre 2018 au mois de Décembre 2019.

II.2. Echantillon d'étude

13164 ovins ont été sacrifiés au cours de notre enquête, dont 13084 mâles et 80 femelles. Les animaux sacrifiés au niveau de l'abattoir communal de la wilaya Batna proviennent généralement de la région de Batna et de ses environs ainsi que de la wilaya de Oued Souf, mais leur origine exacte est difficile à déterminer.

II.3. Collectes des données

Les lésions pulmonaires observées lors de l'examen post mortem sont classées en fonction de la nature de la lésion et sa localisation sur les différents lobes.

Selon la zone d'extension de la lésion on a :

- lésion légère: atteinte d'une partie d'un lobe
- lésion modérée : atteinte d'un lobe entier
- lésion sévère : atteinte de deux lobes et plus.

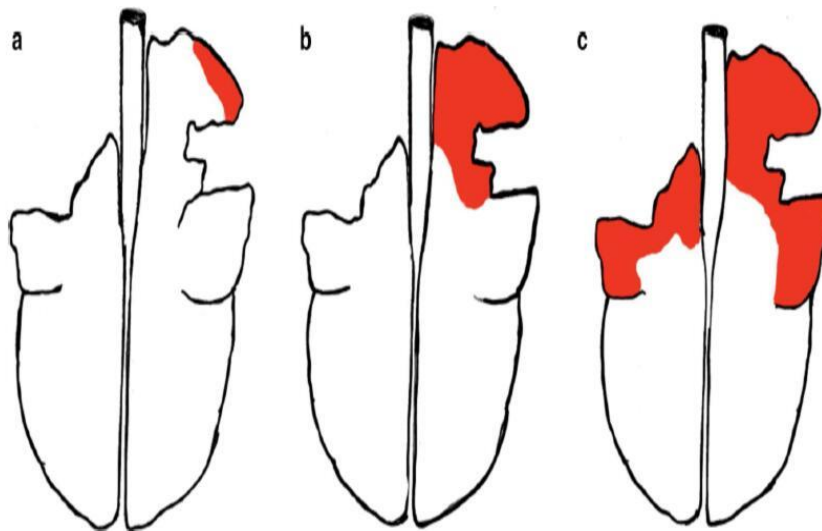


Figure 06: Exemples de système de notation de la pneumonie. a) Moins de 10% de tissu affecté, la pneumonie est considérée comme légère. b) 10-20% du tissu affecté, la pneumonie est considérée comme modérée. c) Plus de 20% du tissu affecté, la pneumonie est considérée comme sévère (Lindstrom et al., 2018).

II.3.1. Prélèvements au niveau de l'abattoir

Des fragments ont été prélevés à partir des poumons atteints et séparés en deux parties; une partie a été fixée dans le formaldéhyde à 10% pour étude histo-pathologique et l'autre partie a été congelée à - 20 C° pour la recherche de l'antigène virale par la technique d'immunofluorescence directe (DFAT) sur coupe congelée.

Méthodologie

I. Analyse sérologique

Les sérums ont été acheminés au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine pour les analyses sérologiques.

I.1. Technique d'ELISA indirect

Ce test a été réalisé par le coffret MONOSCREEN^{ab} ELISA du Laboratoire Biox Belgium- Belgique. 108 sérums ont été traités par la technique immuno-enzymatique, pour la détection des anticorps anti-BPIV3 dans les sérums des ovins.

I.1.1. Composition de la trousse

Tableau 02: Composition de la trousse d'ELISA

Nature de réactif	Reconstitution et conservation
Microplaque : 2 microplaques	2 microplaques de 96 puits (12 barrettes de 16 puits). Les colonnes impaires (1, 3, 5, 7, 9, 11) sont sensibilisées par l'antigène viral (BPI3) et les colonnes paires (2, 4, 6, 8, 10, 12) par un témoin.
- Solution de lavage : 1 flacon de 100 ml de solution de lavage concentrée 20 fois.	La solution cristallise spontanément à froid. En cas d'utilisation partielle, amener le flacon à 21°C +/- 3°C jusqu'à disparition complète des cristaux, mélanger la solution et prélever le volume nécessaire. Diluer 20 fois le tampon dans de l'eau distillée ou déminéralisée.
Tampon de dilution : 1 flacon de 30 ml de tampon de dilution coloré concentré 5 fois.	Le contenu du flacon est à diluer dans de l'eau distillée ou déminéralisée. Cette solution est utilisée pour la dilution des sérums sanguins, des plasmas et du conjugué.
Conjugué : 1 flacon	La Protéine G couplée à la peroxydase de

Chapitre I : Matériels et méthodes

	Raifort
Sérum positif : 1 flacon contenant le sérum positif.	Conserver ce réactif entre +2°C et +8°C.
Sérum négatif : 1 flacon contenant le sérum négatif.	Conserver ce réactif entre +2°C et +8°C.
Traceur : 1 flacon contenant le traceur.	Reconstituer ce réactif avec 0,5 ml d'eau distillée ou déminéralisée. Après reconstitution, le réactif se conserve à -20°C.
Solution de TMB monocomposant : 1 flacon de 25 ml de chromogène TMB (tétraméthylbenzidine).	Ce réactif se conserve à entre +2°C et +8°C à l'abri de la lumière. Il est prêt à l'emploi
Solution d'arrêt : 1 flacon de 15 ml	solution d'arrêt contenant de l'acide phosphorique.

I.1.2. Mode opératoire

1. Tous les constituants doivent être ramenés à 21°C +/- 3°C avant utilisation

2. Préparation et dilution des échantillons

2.1. Préparation des sérums sanguins

Les sérums sanguins ou les plasmas doivent être dilués au 1/100.

2.1.2. Dilution en microplaque

Distribuer 20 µl de chacun des échantillons dans les micropuits d'une plaque de dilution.
Ajouter 180 µl de tampon de dilution.

Mélanger 5 fois par aspiration-refoulement ou par agitation orbitale (dilution au 1/10).

Distribuer 90 µl de tampon de dilution dans la microplaque de la trousse.

Transférer 10 µl des échantillons pré dilués au 1/10. Mélanger 5 fois par aspiration-refoulement ou par agitation orbitale (dilution finale: 1/100).

3. Dilution des sérums de référence de la trousse (positif et négatif) et du traceur

Les sérums positif et négatif ainsi que le traceur doivent être dilués au 1/100 dans le tampon de dilution.

4. Distribution les échantillons à raison de 100 µl par puits.

A titre indicatif, on peut appliquer la disposition suivante : sérum positif : puits A1 et A2, sérum négatif : puits B1 et B2, traceur : puits C1 et C2, échantillon 1: puits D1 et D2, échantillon 2: puits E1 et E2 etc...

Couvrir et incuber la plaque à 21°C +/- 3°C durant une heure.

5. Rinçage la plaque à l'aide de la solution de lavage (rinçage automatique).

Pour ce faire, éliminer le contenu de la microplaque en la retournant vigoureusement au-dessus d'un récipient contenant un agent inactivant.

Egoutter la microplaque à l'envers sur une feuille de papier absorbant propre de manière à bien éliminer tout le liquide.

Ajouter 300 µl de la solution de lavage puis vider à nouveau la plaque par retournement au-dessus du récipient de confinement.

Répéter deux fois toute l'opération en évitant tout particulièrement la formation de bulles dans les cupules.

6. Dilution du conjugué à 1/50 dans le tampon de dilution (par exemple pour une plaque, diluer 250 µl de la solution mère de conjugué dans 12,25 ml de solution de dilution).

Ajouter dans chaque puits utilisé, 100 µl du conjugué. Couvrir et incuber la plaque 1 heure à 21°C +/- 3°C.

7. Lavage de la plaque.

8. Distribution du TMB sur la microplaque à raison de 100 µl par puits

La solution doit être parfaitement incolore. Si une coloration bleue devait être visible, cela indiquerait une contamination de la solution par de la peroxydase. Si cette éventualité se présente, la solution doit être éliminée et du nouveau TMB doit être prélevé avec du matériel parfaitement propre.

9. Incubation durant 10 minutes à 21°C +/- 3°C à l'obscurité et sans couvrir.

10. Distribution de la solution d'arrêt à raison de 50 µl par puits: La couleur passe de bleu à jaune.

11. Lecture et interprétation des résultats

La lecture est effectuée par l'appareil : The EnSpire® Multimode Plate Reader. Les densités optiques (DO) des échantillons ont été mesurées à une longueur d'onde de **450** nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats doivent être enregistrés le plus rapidement possible après l'application de la solution d'arrêt.

Soustraire de chaque valeur enregistrée sur les colonnes impaires le signal des puits témoins négatifs correspondants et noter le résultat obtenu (calcul des deltas D.O.). Pour effectuer ce calcul, tenir compte de l'existence éventuelle de valeurs négatives. Procéder de même pour les sérums positif et négatif. Le test ne peut être **validé** que si le sérum positif fournit une différence de densité optique en dix minutes supérieure à **0,800** et le sérum négatif une différence de densité optique inférieure à **0,300**.

Chapitre I : Matériels et méthodes

Diviser chaque valeur obtenue par la valeur correspondante obtenue avec le sérum positif et multiplier ce résultat par 100 pour l'exprimer sous la forme d'un pourcentage.

$$\text{Valeur} = \frac{\text{Delta DO échantillon} * 100}{\text{Delta DO positif}}$$

0		+		++		+++		++++		++++
Val <=	20%	< Val <=	40%	< Val <=	60%	< Val <=	80%	< Val <=	100%	< Val

*Val : valeur

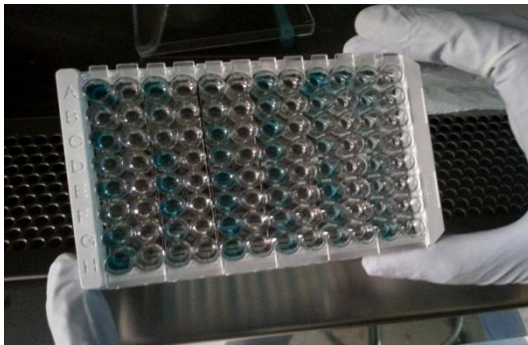


Photo 07 : Présence d'immunoglobulines spécifiques du virus BPI3 dans le sérum, la transformation du chromogène incolore en un produit bleu. (Originale)



Photo 08: Après l'ajout de la solution d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. (Originale)

II. Analyse moléculaire

Les analyses moléculaires ont été réalisées dans le Laboratoire National de la Grippe et autres Virus Respiratoires « laboratoire de référence OMS pour la grippe » au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie (Unité de Sidi Fredj-Alger). Les prélèvements ont été acheminés sous régime de froid (la glace carbonique -78C°) et traités par la RT-PCR en temps réel.

II.1. Extraction de l'ARN viral

L'extraction de l'ARN a été réalisée selon les instructions du fabricant de la trousse Mini kit QIAamp Viral RNA (Qiagen) à partir de 140µl de sécrétions nasales.

II.1.1.Etape de lyse

- Déposer 560µl de tampon de lyse AVL/ARN carrier (560µl AVL + 5.6µl ARNcarrier) dans un tube Eppendorf propre (1,5ml).
- Ajouter 140µl d'échantillon. Mélanger vigoureusement pendant 15 secondes au vortex.
- Incuber 10 min à température ambiante (15-25°C).
- Centrifuger brièvement pour récupérer les gouttelettes accumulées dans le capuchon.

II.1.2.Etape de fixation

- Ajouter 560µl d'Ethanol (96-100%) à l'échantillon.
- Mélanger vigoureusement (15 secondes au vortex).
- Centrifuger brièvement le tube Eppendorf.
- Déposer 630µl de la solution dans la colonne QIAamp (installée dans un tube collecteur de 2ml). Fermer le capuchon et centrifuger durant 01 minute (8000 rpm).
- Transférer la colonne dans un autre tube collecteur et jeter le tube contenant l'effluent
- Ouvrir la colonne QIAamp.
- Répéter l'étape précédente.

II.1.3.Etape de lavage

- Ouvrir la colonne QIAamp avec précaution : Ajouter 500µl de tampon de lavage (AW1). Fermer le capuchon et centrifuger pendant 01minute (8000 rpm).
Transférer la colonne dans un tube collecteur propre et jeter l'effluent.
- Répéter la même opération avec 500µl de tampon de lavage (AW2) (Centrifugation pendant 03minutes -vitesse maximale).
- Transférer la colonne QIAamp dans un nouveau tube collecteur et jeter l'ancien tube.
- Centrifuger durant 01 minute (8000 rpm).

II.1.4.Etape d'élution

- Transférer la colonne QIAamp dans un tube Eppendorf stérile (1,5ml). Jeter l'ancien tube collecteur et ouvrir la colonne avec précaution :
- Déposer au centre 60µl de tampon d'élution (AVE)
- Incuber pendant 05 minutes à température du laboratoire
- Centrifuger pendant 1 minute (8000 rpm)
- Conserver l'éluât (ARN) à (-20°C) ou à (-80°C): Stabilité d'un an.

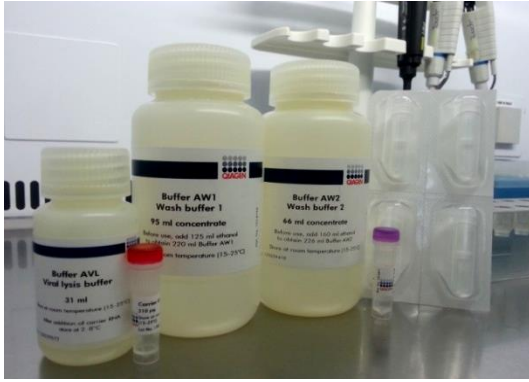


Photo 09: Produits utilisés pour l'extraction de l'ARN viral. (Originale)



Photo 10: Extraction de l'ARN viral. Etape d'élution. (Originale)

II.2. Détection du génome viral par RT-PCR en temps réel

86 écouvillons nasaux ont été testés par RT-PCR, en utilisant le coffret ViroReal® Kit Bovine *Parainfluenza* Virus 3 (DVEV02811). C'est un kit de PCR en temps réel à transcription inverse en une seule étape pour la détection de l'ARN du virus *Parainfluenza* bovin 3 (BPIV3). Le test a été réalisé par un Thermocycleur instrument ABI PRISM® 7500 (Applied Biosystems) utilisant un code-barres optique à plaque de 96 puits (Micro Amp Réf:Applied Biosystems/cat.4346907) et films optiques adhésifs (Applied Biosystems/cat.4311971).

II.2.1.Préparation du mélange réactionnel

L'amplification par RT-PCR a été réalisée par la réaction de mélange de 20 μ l, composé de 10 μ l éluât d'échantillon (ou ARN génomique) et 10 μ l de Master Mix composé de 2 μ l d'eau sans nucléase, 5 μ l de Mélange de réaction ARN (RNA Reaction Mix), 1 μ l mélange de bovine PI-3 assay, 1 μ l RNA IPC assay, et 1 μ l RNA IPC target (cible) dilué à 1 :500.

II.2.2.Dépôt des extraits /contrôles

Contrôle négatif = 10 μ l Master mix +10 μ l H₂O.

Contrôle positif = 10 μ l Master mix +10 μ l (1 μ l du contrôle positif dilué à 1/500+ 9 μ l de l'eau sans nucléase).

Extrait ARN viral = 10 μ l Master mix +10 μ l (Extrait ARN viral).

II.2.3. Amplification

- Automate : 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems)



Figure 07: Profil thermique de la technique RT-PCR

Les conditions d'amplification étaient la transcription inverse en une seule étape. Les échantillons ont été amplifiés en 47 cycles en commençant par la 1^{ère} étape qui est la synthèse du brin d'ADN complémentaire à l'ARN viral par la transcriptase inverse à 50 C° pendant 15 minutes, suivie d'un stade de dénaturation à 95 C° pendant 25 secondes puis une dernière étape d'élongation à 60 C° pendant 01 minute réalisée dans un Thermocycleur instrument ABI PRISM® 7500.

II.2.4. Analyse et interprétation des résultats

Tableau 03: Interprétation des résultats obtenus par RT-PCR

Contrôles	Ct IPC	Ct BPIV3	Interprétation
Contrôle négatif (H2O)	Négatif	Négatif	Valide
Contrôle positif	26-29	21-24	Valide
Echantillon (ARN viral)	26-29	Négatif	Négatif
	26-29 ou négatif	21-24	Positif

IPC : Internal positive control

III. Etude microscopique des lésions pulmonaires

III.1. Technique d'histologie classique

Elle a été réalisée au niveau du laboratoire d'histologie du CHU Nafissa Hamoud- ex Parnet- Alger et au niveau du laboratoire d'histologie de l'institut des sciences vétérinaires et des sciences agronomiques-Université de Batna 1.

Les fragments des poumons lésés ont été conservés dans le formaldéhyde à 10%.

Ces derniers sont mis dans des cassettes identifiées et rincées à l'eau courante.

D'après Luna (1968), les fragments ont été traités selon les étapes suivantes :

- **La déshydratation:** Cette étape est réalisée à l'aide d'un automate dans des bains successifs d'**alcool** suivie par la clarification qui consiste à immerger les échantillons dans deux bains successifs de **xylène** pour chasser l'alcool, dissoudre les graisses et rendre la pièce transparente. Par la suite, les fragments sont imprégnés dans la **paraffine** chaude (40C°- 60C°) pour solidifier le tissu.
- **La mise en bloc** est obtenue par inclusion du tissu dans un moule rempli de paraffine chauffée.

Le tissu est placé dans le moule selon une certaine position afin de voir toutes les structures désirées lors de l'examen microscopique. Ensuite les blocs sont détachés des moules après un refroidissement complet.

- **La confection des coupes** est réalisée à l'aide d'un microtome à paraffine (Reichert).
- **Le montage des coupes sur les lames:** Des rubans de 4 µm d'épaisseur sont soigneusement dépliés à l'aide d'une pince dans un bain-marie (40 à 50°C). Par la suite, les rubans sont repêchés, étalés et fixés sur une lame de verre. Immédiatement après l'étalement, les lames sont égouttées et desséchées dans une étuve à 40C°.
- **Coloration:** Les lames sont colorées par l'hématoxyline-éosine selon les étapes suivantes:

1-Xylène (2 minutes).	10-Eau distillée (15 minutes).
2-Xylène (2 minutes).	11-Ethanol 80% (02 minutes).
3-Ethanol 100 % (1 minute).	12-Eosine (15 secondes à 02 minutes).
4-Ethanol 100 % (1 minute).	13-Ethanol 95% (02 minutes).
5-Ethanol 95 % (2 minute).	14-Ethanol 100% (02 minutes).
6-Ethanol 80% (1 minute).	15-Ethanol 100% (02 minutes).
7-Eau distillée (10 minutes).	16-Xylène (02 minutes).
8-Hématoxyline (15 minutes).	17-Xylène (02 minutes).
9-Eau de robinet (15 minutes).	

Chapitre I : Matériels et méthodes

- **Montage:** La dernière étape consiste en un montage d'une lamelle couvre objet sur la lame colorée à l'aide du Eurokit Monting Medium.
- Les lames préparées ont été examinées par le microscope optique « **Optika** » au niveau de laboratoire de physiologie cellulaire et physio-pathologie de département de biologie-Université M'hamed Bougara –Boumerdes.
Les photos ont été prises par un appareil photo **Samsung** (Samsung ST66).

III.2. Technique d'immunofluorescence directe

Cette technique a été réalisée au niveau du laboratoire du service d'anatomo-pathologie du CHU Mustapha Pacha-Alger (106 lames) et au niveau du laboratoire d'histologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques-Université Hadj Lakhdar Batna 1 (une lame).

La technique d'immunofluorescence directe a été réalisée selon la procédure du protocole du fabricant **Cat No: BIO 030, Biox Jemelle, Belgium** (Anticorps monoclonaux anti-*Parainfluenza* bovin type 3 couplé à l'isothiocyanate de fluoresceine).

Des coupes de 3-4 μ m d'épaisseur ont été réalisées au cryostat à partir des fragments de poumons lésés congelés à -20 C°. Les coupes réalisées ont été montées sur des lames Super-Frost Plus (Thermo Scientific-Superfrost plus®GOLD). Les coupes obtenues ont été fixées dans l'éthanol à 100% pendant 15 minutes, puis rincées dans le PBS.

Les lames séchées ont été traitées par le conjugué contenant les anticorps monoclonaux Anti-PIV3 (FITC) dilué dans de PBS-Blue Evans à 1/20.

Après une incubation d'une heure à 21 C° \pm 3C° en obscurité, les lames ont été rincées pour une seconde fois et séchées. Un montage de lamelle sur lame est réalisé par une goutte de glycérol dilué dans le PBS à 1/9.

Finalement les lames préparées ont été examinées au microscope à fluorescence à différents grossissements dans un endroit obscur et les photos ont été prises par l'appareil photo **Samsung** (Samsung ST66).

Le test d'immunofluorescence direct permet une détection spécifique et qualitative du pathogène dans les échantillons. L'observation au microscope repose sur la recherche de la fluorescence, en cas de sa présence, cela indique que l'anticorps monoclonal couplé à l'isothiocyanate de fluoresceine est lié à antigène viral et l'échantillon est considéré comme positif.

IV. Analyses statistiques

Le logiciel R a été utilisé pour les analyses statistiques des résultats.

Le test du Chi-carré de Pearson (X_2) et le test de Fisher ont été utilisés pour :

-Comparer les résultats sérologiques et l'influence des facteurs de risque (âge, sexe et région.....), ainsi que la présence des symptômes respiratoires observés sur les animaux étudiés.

-Comparer la fréquence des différentes lésions pulmonaires selon l'âge et la saison d'étude.

Les différences sont considérées comme statistiquement significatives si la valeur P est inférieure à **0,05**.

La régression logistique binaire a été appliquée pour évaluer le taux d'Odds Ratios (OR) à 95% afin de déterminer l'association entre les facteurs de risque et la séropositivité du BPIV3 à l'aide d'IBM Spss® version 22.0 (Armonk, NY, USA).

Chapitre II

Résultats

I. Enquête sur terrain (au niveau des élevages)

I.1. Les régions d'étude

I.1.1. La wilaya de Boumerdès

La Wilaya de Boumerdès est située sur le littoral centre du pays et dispose d'une façade maritime de 100 km allant de cap Boudouaou Bahri à l'ouest à la limite orientale de la commune de l'Afir. Elle est limitée par: la mer Méditerranée au Nord, la wilaya de Bouira au sud ; la wilaya d'Alger à l'ouest et la wilaya de Tizi Ouzou à l'est.

Le chef-lieu de la wilaya est situé à 45 km de la capitale, Alger. La wilaya s'étale sur une superficie de 1456,16 km².

Le climat de Boumerdès est de type méditerranéen, caractérisé par deux saisons bien distincts: un hiver pluvieux et doux et un été humide et chaud.

Boumerdès est une ville à vocation agricole; elle s'étale sur une superficie agricole totale de 98 454 ha dont superficie agricole utile (SAU) de 62956 ha (DSA de Boumerdès, 2020).

Le potentiel animal est de 25393 têtes bovines et 33942 têtes ovines dont 13470 brebis (DSA de Boumerdès, 2020).

I.1.2. la wilaya de Batna

La wilaya de Batna est située au nord-est de l'Algérie, dans la région des Aurès avec une superficie de 12.038,76 km². Elle est délimitée : au nord, par la wilaya de Mila ; au nord-est : par la wilaya d'Oum-El-Bouaghi ; à l'est : par la wilaya de Khenchela, au sud : par la wilaya de Biskra ; à l'ouest : par la wilaya de M'sila et au nord-ouest : par la wilaya de Sétif.

Le climat de la région de Batna est celui d'une région semi-aride. La température moyenne est de 4°C en Janvier et de 35°C en Juillet. Durant l'hiver, la température descend en dessous de zéro la nuit avec souvent des gelées nocturnes. Durant l'été la température peut atteindre les 45°C à l'ombre.

C'est une wilaya à vocation agro-pastorale avec une prédominance pour la céréaliculture qui est la principale spéculation effectuée dans la Wilaya. La superficie agricole utile de la Wilaya est de 422677 ha. La wilaya de Batna compte un potentiel d'élevages bovin de 56052 têtes dont 35445 vaches laitières et ovin de 1.137.361 têtes dont 638.423 brebis (DSA de Batna., 2019).

I.2.Déroulement de l'enquête

L'enquête transversale s'est étalée sur une période allant du mois de Janvier au mois de Décembre 2018. La collecte des données est réalisée sur la base de nos observations ainsi que les réponses des éleveurs dans le but de déterminer les caractéristiques des élevages visités.

L'enquête possède deux volets :

- le premier volet basé sur l'identification de l'exploitation, le fonctionnement de l'élevage et le personnel (nombre des animaux, type de bâtiment d'élevage, conduite d'élevage, nettoyage...).
- le deuxième volet est basé sur les atteintes respiratoires observées dans les élevages ovins (historique, catégories d'animaux atteints, signes cliniques observés, facteurs favorisants....).

Une fiche de commémoratifs était remplie pour chaque élevage et pour chaque animal prélevé. A l'échelle individuelle, des informations ont été recueillies concernant l'âge, le sexe, les antécédents pathologiques de chaque animal prélevé.....

A l'échelle du troupeau, ce sont des informations relatives aux conditions d'élevage (introduction de nouveaux animaux sans mise en quarantaine, cohabitation des ovins avec d'autres espèces animales...).

Les données liées à l'hygiène des bâtiments ont été collectées selon les éléments suivants :

- Pour la qualité de l'aération, elle était appréciée par des éléments des bâtiments directement impliqués dans les phénomènes de ventilation (nombre, répartition et dimension des ouvertures, la hauteur sous toiture), ou par des indices indiquant la qualité de cette ventilation (odeur ammoniacale, accumulation des vapeurs d'eau, des particules de poussières...).
- L'état des bâtiments/ bergerie a été apprécié par l'état des murs (fissurations), la toiture (trous), le sol.
- La qualité de la litière par son humidité, la présence de déjections, la fréquence de nettoyage.

I.2.1. Echantillons touchés par l'enquête

L'enquête a porté sur 23 élevages repartis sur 08 communes : 03 communes de la wilaya de Boumerdès et 05 de la wilaya de Batna. Les élevages enquêtés sont des propriétés privées.

Tableau 04 : Nombre d'élevage inspecté selon les régions d'étude

Wilaya	Daira	Commune	Nombre d'élevages	Nombre total de têtes ovines dans les élevages inspectés
Boumerdès	Boumerdès	Tidjelabine	07	142
		Boudouaou	02	123
		Khemis ElKhachna	04	136
Batna		Khachna		
	Chemora	Chemora	01	115
		Boulhilat	02	169
	El-Madher	Ain Yagout	04	330
	Timgad	Timgad	02	55
	Tazoult	Ayoun El Assafeur	01	57
Total	07	08	23	1127

I.3. Identification de l'exploitation

I.3.1. Type d'élevage identifié

Notre enquête a permis d'identifier trois types d'élevage ovin selon la taille de l'effectif.

TYPE A : 12/23 éleveurs possèdent un effectif ovin de petite taille (10-50 têtes ovines).

TYPE B : 06/23 éleveurs ont un effectif ovin de taille moyenne (51-100 têtes ovines).

TYPE C : 05/23 éleveurs ont un effectif de grande taille (plus de 100 têtes ovines).

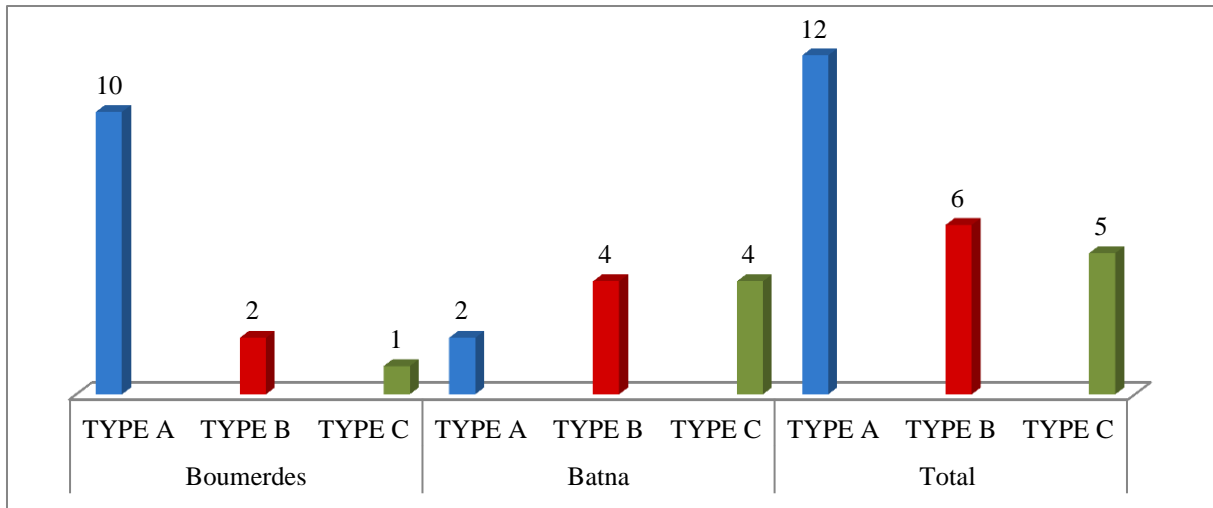


Figure 08: Répartition des élevages étudiés selon le nombre de têtes ovines

I.3.2. Surface de pâturage

18/23 élevages possèdent des surfaces de pâturage, alors que 01/23 fait recours à la location surtout durant le printemps, cependant 04/23 des élevages ne possèdent pas de pâturage.

08/23 élevages de type A ont des pâturages suivis de 05 élevages de type B et 05 de type C.

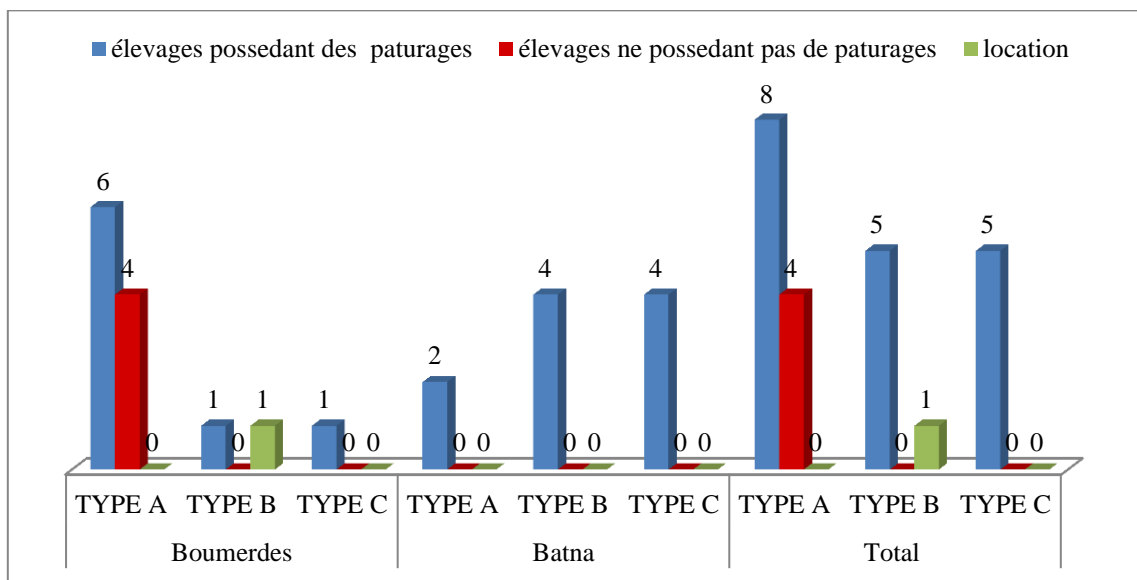


Figure 09: Répartition des exploitations possédant des pâturages

I.3.3. Utilisation de pâturages communs avec d'autres élevages

19/23 des élevages enquêtés utilisent le même pâturage avec d'autres élevages, alors que 04/23 n'en utilisent pas.

11 élevages de type A exploitent le même pâturage avec autres élevages suivis de 05 élevages de type B et 03 de type C, alors que 01 élevage de type A et 01 élevage de type B et 02 élevages de type C n'utilisent pas le même pâturage avec d'autres élevages.

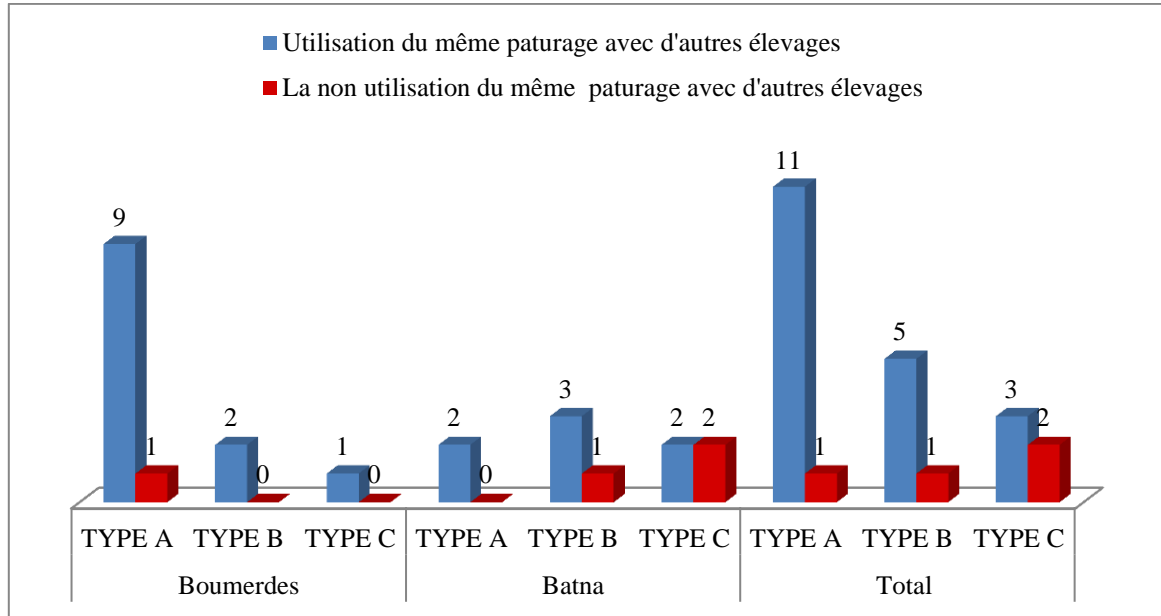


Figure 10: Répartition des élevages selon l'emploi du pâturage

I.4. Identification du bâtiment d'élevage

I.4.1. Type de bâtiment d'élevage

Au cours de notre enquête, 06 élevages de type A possèdent des bâtiments en dur suivis de 03 élevages de type B. Ces bâtiments sont dotés d'une toiture, de fenêtres pour l'aération naturelle et ont de bonnes pratiques d'élevage, tel que engraissement, traitement sanitaire...etc), tandis que, 04 élevages de type C et 03 élevages de type A et B ont des bâtiments en dur et des clôtures (abris ou Zriba).

Par ailleurs, 03 élevages de type A et 01 élevage de type C n'ont que des abris. Ces constructions en mauvais état, sont surtout des abris en terre battue et du bois, ne disposant d'aucun équipement et ne répondent pas aux normes d'élevage.

22/23 élevages ont un sol en terre battue et 01 seul bâtiment possède une plateforme en béton.

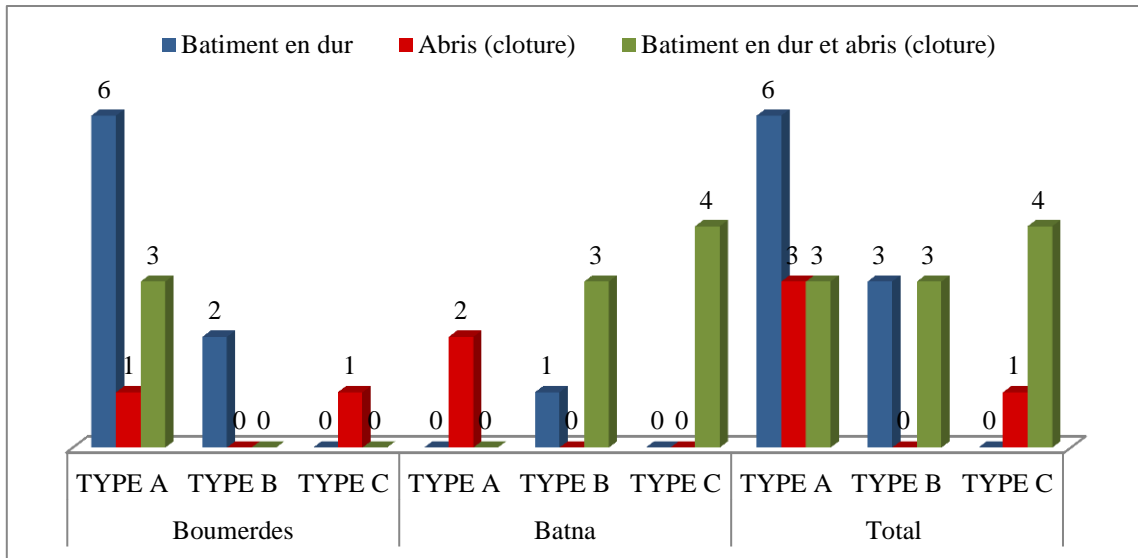


Figure11: Répartition des élevages selon le type de bâtiment d'élevage



Photo 11 : Elevage ovin dans un bâtiment en dur. (Originale).



Photo 12 : Présence d'une clôture pour élevage ovin. (Originale).



Photo 13: Présence d'un abri en bois pour l'élevage mixte ovin- caprin. (Originale).



Photo 14: Bâtiment en dur destiné à l'élevage de brebis-agneau. (Originale).

1.4.2. Nombre de bâtiments d'élevage

Sur les 23 élevages prospectés, 12 élevages possèdent un seul bâtiment d'élevage, par contre 08 élevages ont deux bâtiments d'élevage et 02 ont trois bâtiments d'élevage.

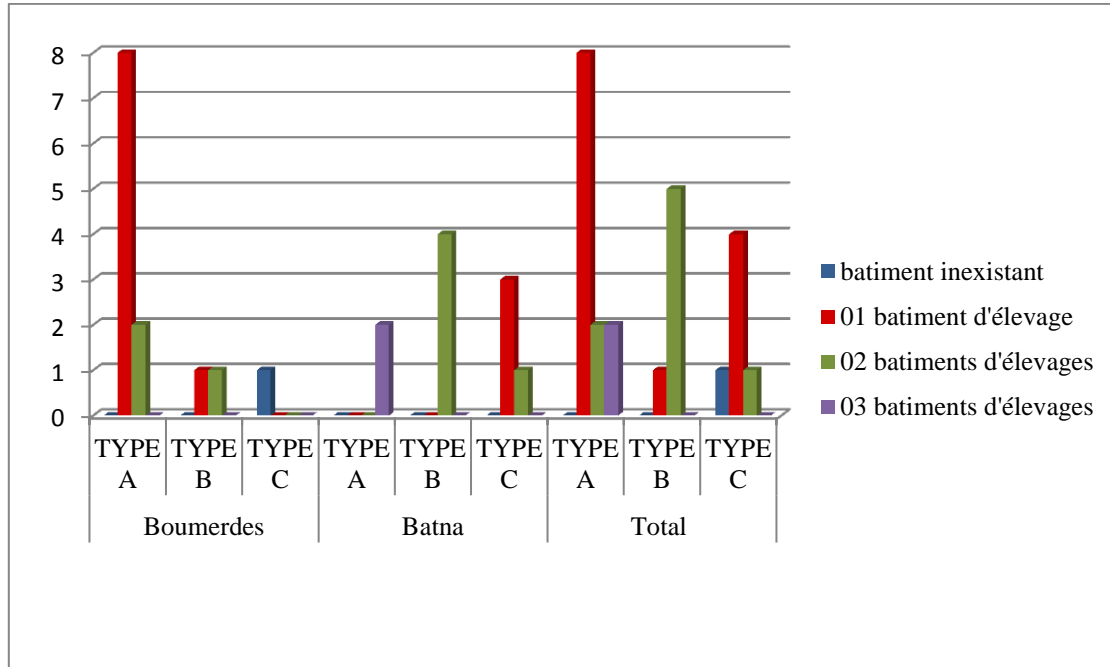


Figure 12: Nombre de bâtiments dans les élevages enquêtés

1.4.3. Superficie des bâtiments d'élevage prospectés

Notre enquête a révélé que l'ensemble des élevages de type A possèdent des bâtiments d'élevage d'une superficie qui varie de 15 à 50m², alors que, 03 élevages type B ont des bâtiments dont la superficie varie entre 50 et 100m² et 03 élevages ont des bâtiments avec une superficie de 100 à 150m².

01 élevage de type C a un bâtiment de superficie 15à 50m² et 02 élevages ont des bâtiments de superficie de 50 à 100m² alors que 02 élevages ont une superficie de 100 à 150m².

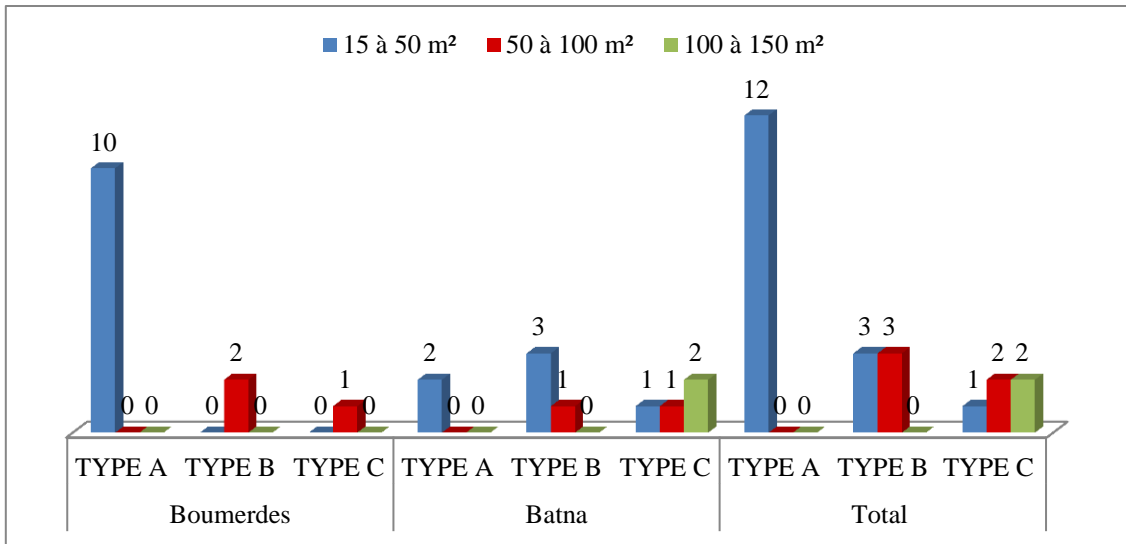


Figure 13: Répartition des élevages selon la superficie du bâtiment d'élevage

I.4.4. Etat des bâtiments d'élevage

Sur l'ensemble des élevages visités, 06 bâtiments sont en mauvais état, tandis que 17 bâtiments sont dans un état acceptable.

Selon la répartition des élevages prospectés, 04 bâtiments d'élevage de type A et 02 bâtiments d'élevages de type B sont en mauvais état.

Cependant, 08 élevages de type A, 04 de type B et 05 de type C ont des bâtiments dans un état acceptable.

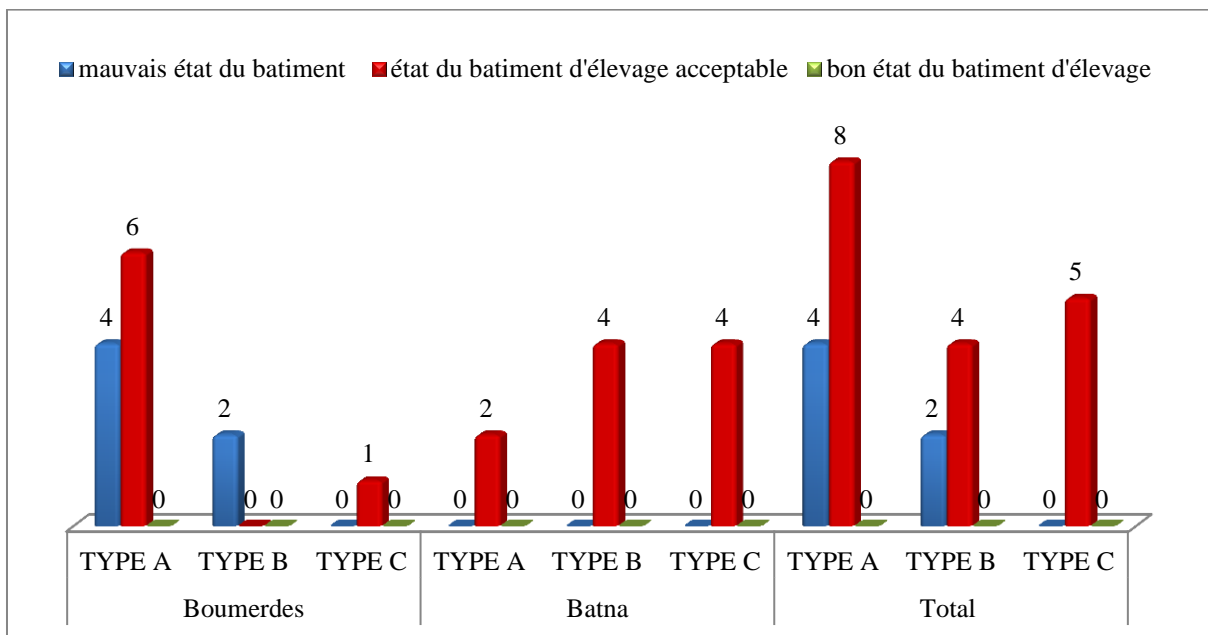


Figure 14: Etat des bâtiments d'élevage visités

I.4.5. Litière

Dans 15/23 élevages visités, la litière était inexistante. La paille réservée pour la litière dans certains élevages est utilisée pour l'alimentation des animaux. Au contraire, chez 08/23 élevages l'état de la litière était acceptable (sèche et fréquemment renouvelée).



Photo 15: Elevage dont la litière est sèche. (Originale)



Photo 16: Bâtiment sans litière (sol humide et sale). (Originale)

I.4.6. Fréquence du nettoyage

Au cours de notre visite, il a été constaté que l'état d'hygiène diffère d'un élevage à un autre.

06/23 des élevages étaient de propreté acceptable avec une fréquence de nettoyage de 2 à 3 fois par semaine, 07 éleveurs ont répondu qu'ils font le chaulage des bâtiments une fois par an. Cependant, 11 élevages étaient de propreté moyenne avec une fréquence de nettoyage d'une fois par semaine, alors que 05/23 des élevages étaient dans un état médiocre, avec un nettoyage du sol s'effectuant 1 fois par 15 jours voire par mois.

Un élevage était dans un état très sale avec absence totale du raclage, de nettoyage et de changement de la litière.

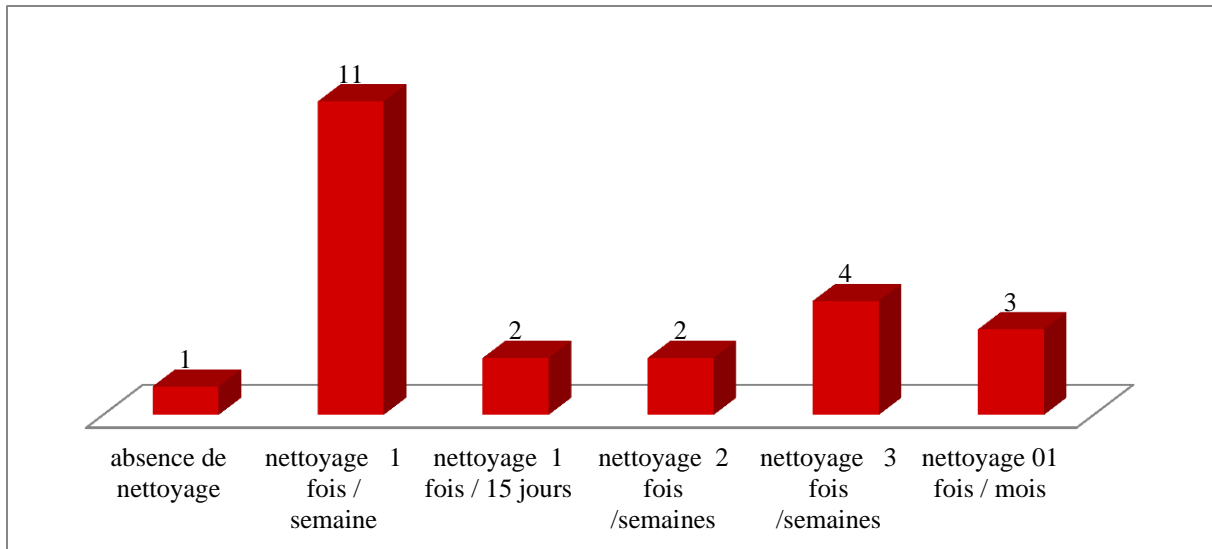


Figure 15: Fréquence du nettoyage dans les élevages visités

I.4.7. Ventilation

La ventilation est de type statique pour l'ensemble des élevages visités avec une aération acceptable dans 06/23 élevages. En revanche, 04/23 élevages ont de la poussière et des odeurs ammoniacales dans leurs bâtiments d'élevage.

En effet, le nombre réduit des ouvertures, leurs petites dimensions, leurs mauvaises répartitions, leurs localisations sur les murs par rapport aux fenêtres du mur opposé ou leur faible hauteur sous la toiture sont les causes de cette mauvaise aération. Par conséquent, le résultat est l'accumulation des odeurs surtout ammoniacales ainsi que des particules de poussière dans l'air ambiant, qui ont une mauvaise répercussion sur la santé des animaux notamment la santé de l'appareil respiratoire.

I.5. Les animaux prospectés

I.5.1. Classification des élevages selon les espèces animales

Au cours de notre enquête, il a été constaté que 16/23 élevages sont des élevages mixtes. En effet, les ovins sont élevés avec d'autres espèces animales tels que les bovins et les caprins, tandis que 07/23 élevages sont des élevages d'ovins seuls.

La promiscuité avec d'autres animaux dans le même élevage est observée dans 07, 05 et 04 élevages de type A, B et C, respectivement.

Les élevages d'ovins seuls sont observés dans 05 élevages de type A et 01 élevage de type B et C.

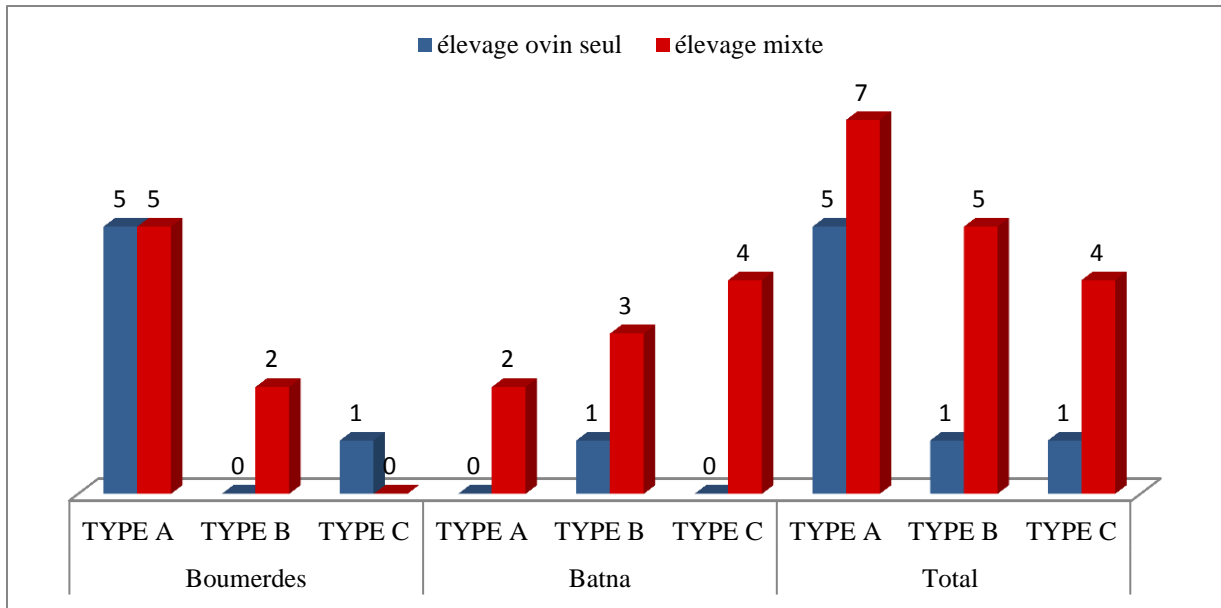


Figure 16 : Classification des élevages inspectés selon les espèces existantes

Sur les 23 élevages inspectés, 08 seulement détiennent un cheptel bovin, dont le nombre de têtes varie de 1 à 30 bovins dans 7 élevages, alors qu'un élevage possède un effectif de 60 têtes bovines.

L'élevage caprin est pratiqué dans 13 élevages prospectés, avec 09 élevages dans la région de Batna, tandis que seulement 04 élevages se trouvent dans la région de Boumerdès. Dans le système d'élevage, le mélange entre l'espèce ovine et l'espèce caprine est une pratique courante, les moutons pour la viande et la laine et les chèvres pour le lait de consommation quotidienne et la viande.



Photo 17: Promiscuité entre ovins et caprins dans un même élevage. (Originale)

I.5.2. Introduction de nouveaux animaux

Selon l'enquête menée auprès des éleveurs, 07 élevages de type A et un seul (01) élevage de type C assurent le renouvellement des animaux à partir des marchés à bestiaux.

Le renouvellement interne (naissance) des animaux est assuré par 05 élevages de type A, 06 élevages de type B et 04 élevages de type C.

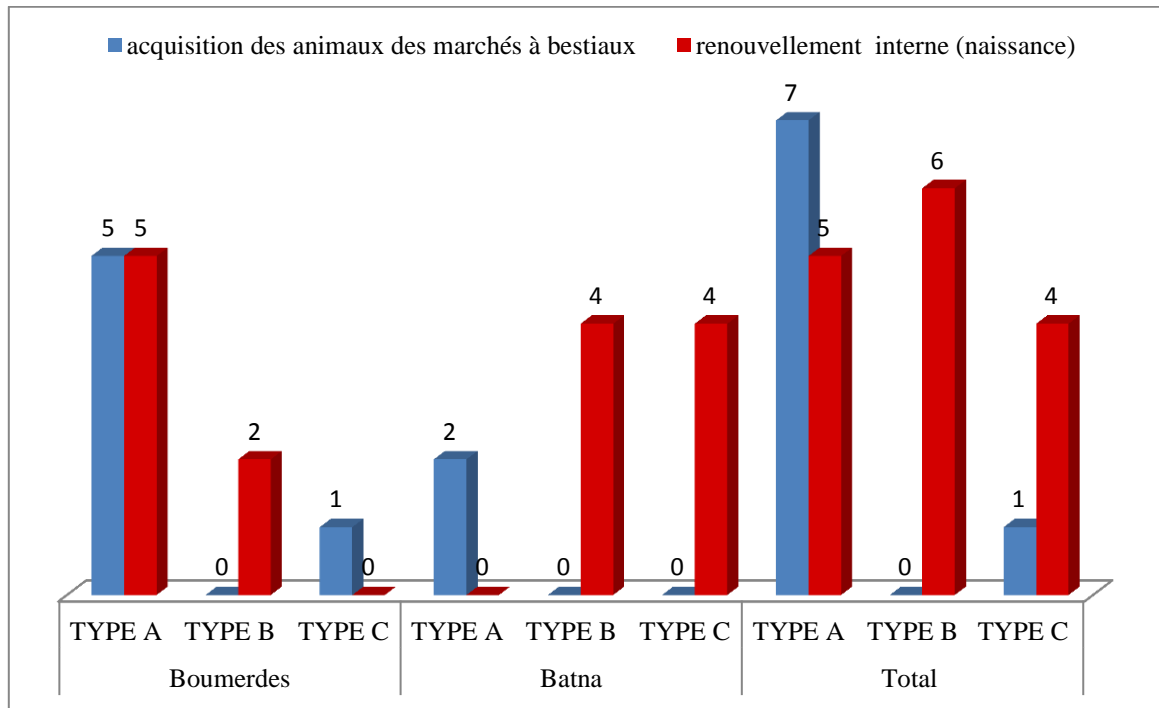


Figure 17: Acquisition des animaux dans les élevages visités

I.6. Conduite des élevages ovins

I.6.1 Alimentation

I.6.1.1. Fréquence de distribution de l'aliment

La fréquence de distribution des aliments est variable d'un élevage un autre, 11 assurent une seule distribution d'aliments par jour et 11 assurent une distribution de 2 fois / jour, alors que seulement 01 assure une fréquence de distribution de 3 fois / jours.

I.6.1.2. Stockage de l'aliment

Sur l'ensemble des élevages visités, 07 élevages possèdent un lieu de stockage des aliments (paille, foin...) dans le même bâtiment d'élevage des animaux, tandis que 16 élevages ont des lieux de stockage en dehors des bâtiments d'élevage.

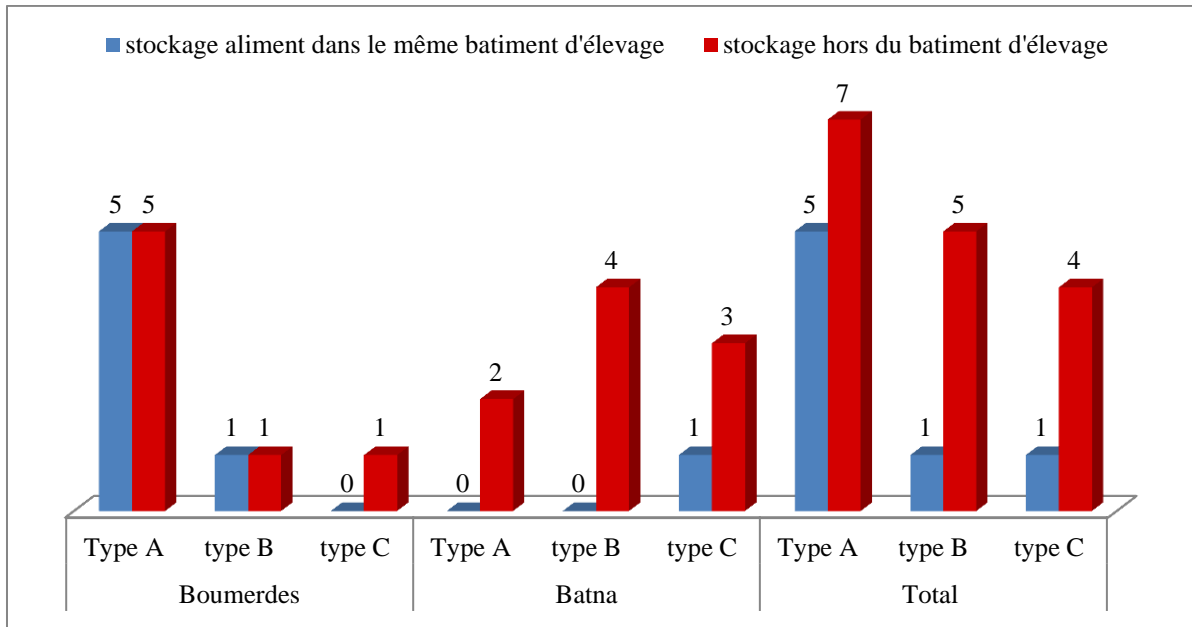


Figure 18: Répartition des élevages selon l'endroit du stockage de l'aliment



Photo 18: Endroit de stockage de l'aliment hors du bâtiment d'élevage. (Originale)



Photo 19: Stockage de l'aliment dans le bâtiment d'élevage. (Originale)

I.6.1.3. Période de pâturage

16 élevages pâturent durant toute l'année, alors que 07 élevages le font uniquement durant le printemps et l'été.

I.6.2. Transport des animaux (transhumance)

03/23 éleveurs ont répondu que leurs cheptels ont récemment été transportés.

I.6.3. Type de production

L'ensemble des élevages visités est de type semi-extensif, 16 élevages mixtes, 02 élevages d'engraissement et le reste est destiné au renouvellement des femelles (naissance).

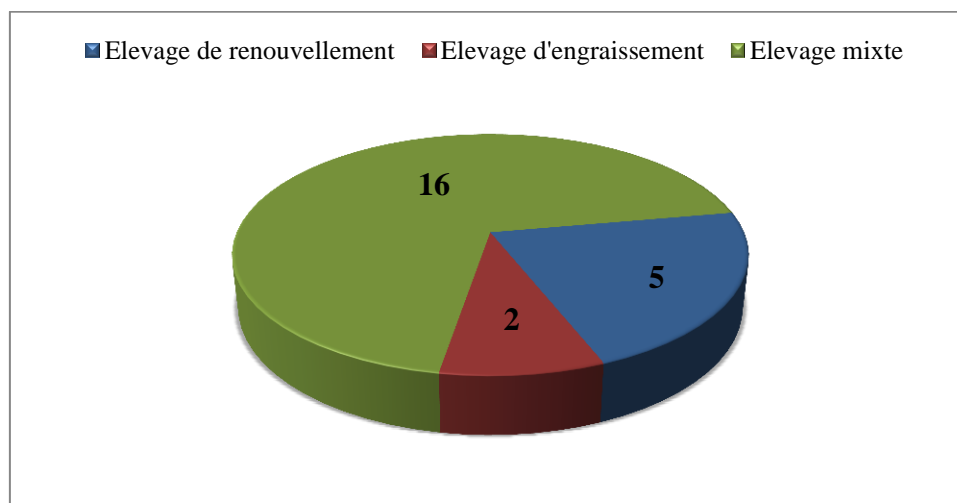


Figure 19: Répartition des élevages selon le type de production



Photo 20: Elevage d'engraissement ovin. (Originale)



Photo 21: Elevage des brebis, destinées à la reproduction et au renouvellement du cheptel. (Originale)

I.6.4. Conduite sanitaire

I.6.4.1. Déparasitage et suivi sanitaire des animaux

Aucun éleveur ne possède un registre de suivi sanitaire de son cheptel.

Le déparasitage des animaux n'est réalisé que chez 09 élevages inspectés. Les autres actes prophylactiques sont pratiqués dans 20 élevages notamment la vaccination contre les maladies infectieuses (vaccination anti-claveleuse, anti-brucellique, anti-aphteuse, contre la peste des petits ruminants).

Aucun cheptel des élevages prospectés n'a été vacciné contre le *Parainfluenza* virus type 3.

I.6.4.2. Pathologies co-existantes

Selon le questionnaire établi, les maladies observées lors des atteintes respiratoires;

13 éleveurs ont répondu qu'au cours de l'année les ovins avaient souffert des troubles digestifs, cependant 10 éleveurs ont observé des atteintes podales, alors que 7 ont répondu qu'ils avaient enregistré des atteintes parasitaires dans leur cheptel, alors que 01 seul élevage avait des troubles nerveux et 01 élevage avait des troubles de reproduction.

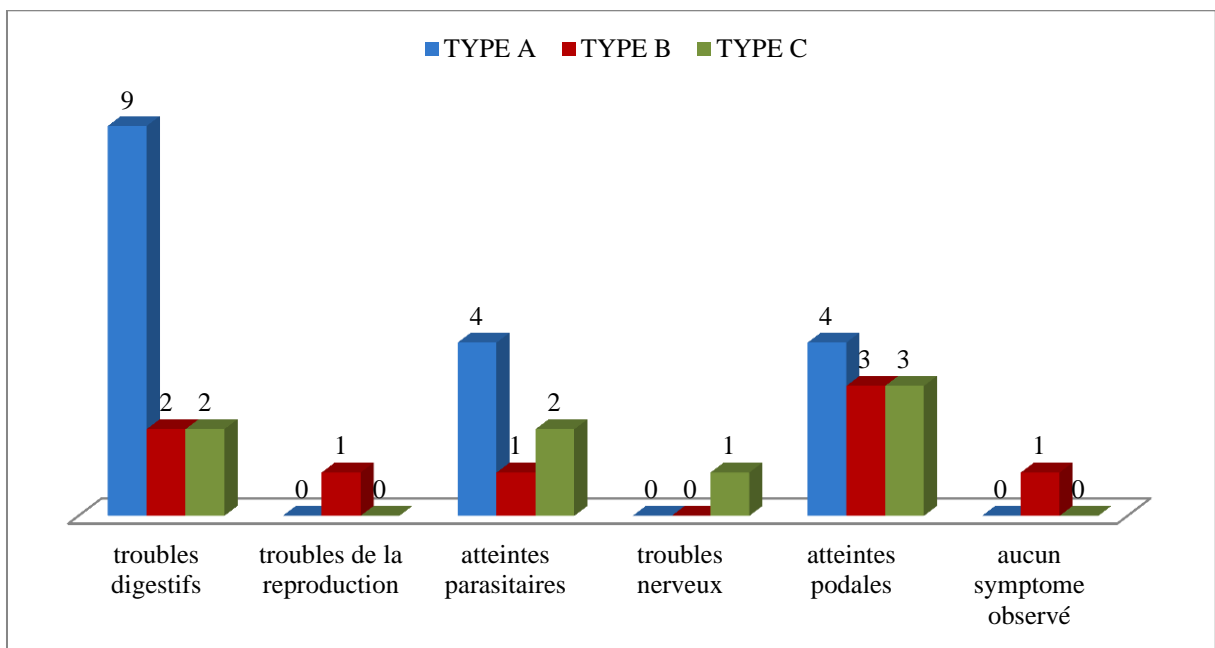


Figure 20: Fréquences des maladies co-existantes dans les élevages inspectés

I.6.4.3. Saison d'apparition des atteintes respiratoires

Selon l'enquête effectuée auprès des éleveurs, 13/23 ont observé les atteintes respiratoires au cours de l'hiver, alors que 03/23 les ont observées au cours du printemps, 04 en hiver/été et 03 en hiver/printemps.

I.6.4.4. Catégories d'âge touchées

Au cours de notre enquête, il a été observé les atteintes respiratoires chez les ovins adultes dans 21/23 élevages, chez les jeunes ovins dans 10/23 élevages et chez les nouveau-nés dans 4/23 élevages.

I.6.4.5. Facteurs favorisants

Selon le questionnaire adressé aux éleveurs, 13 ont répondu que le changement climatique brusque entraîne l'apparition des atteintes respiratoires dans leurs élevages, tandis que 04 ont répondu que la mauvaise nutrition favorise l'apparition des atteintes respiratoires, cependant 03 ont répondu que les atteintes respiratoires surviennent suite à la présence de poussières dans les bâtiments d'élevage et 03 ont répondu que les atteintes respiratoires apparaissent suite à un stress par exemple le stress de la mise-bas chez les femelles.

I.6.4.6. Mortalités suite aux atteintes respiratoires

09 éleveurs ont répondu que les atteintes respiratoires ont causé de la mortalité des ovins dans leurs élevages, alors que 14 ont répondu que les atteintes respiratoires n'entraînent pas la mortalité des ovins atteints.

I.6.4.7. Appel et intervention du vétérinaire

15/23 éleveurs font appel au vétérinaire lors d'apparition des maladies dans leur cheptel, cependant 03/23 ne demandent l'intervention du vétérinaire que dans les cas compliqués, tandis que 05/23 effectuent l'automédication.

I.7. Enquête sur les éleveurs

I.7.1. Pluriactivité

La plupart des éleveurs sondés, soit 19/23 ont une seule activité c'est l'élevage et l'agriculture, alors que 04/23 possèdent d'autres activités en parallèle à l'élevage et l'agriculture.

I.7.2. Niveau d'instruction des éleveurs

Tableau 05: Niveau d'instruction des éleveurs

	Analphabète	Primaire	Secondaire	Baccalauréat	Technicien supérieur
TYPE A	2	1	6	2	1
TYPE B	3	1	1	1	0
TYPE C	2	2	1	0	0
Total	7	4	8	3	1

Selon le tableau ci-dessus, 08 éleveurs sur 23 ont un niveau d'étude secondaire observé dans les 03 types d'élevages, alors que 07 éleveurs n'ont pas de niveau scolaire, 04 ont le niveau primaire et 03 ont un niveau de baccalauréat.

Aucun éleveur n'a fait une formation en agriculture. Les acquis de père en fils, en matière de savoir et savoir-faire, sont la règle.

I.7.2. Personnel travailleur

La présente enquête a révélé que 11 des éleveurs assurent les activités de l'élevage seuls, alors que 04 éleveurs ont un seul ouvrier, 5 ont deux ouvriers, et 3 ont 3 ouvriers. En général, le personnel employé appartient à la famille (fils, frères...).

II. Résultats des diagnostics sérologique et moléculaire

II.1. Nombre d'échantillons

Cent huit (**108**) ovins présentant des symptômes respiratoires ont fait l'objet de notre étude dans les 23 élevages enquêtés.

51 et **57** échantillons sanguins ont été prélevés dans les régions de Boumerdès et Batna, respectivement.

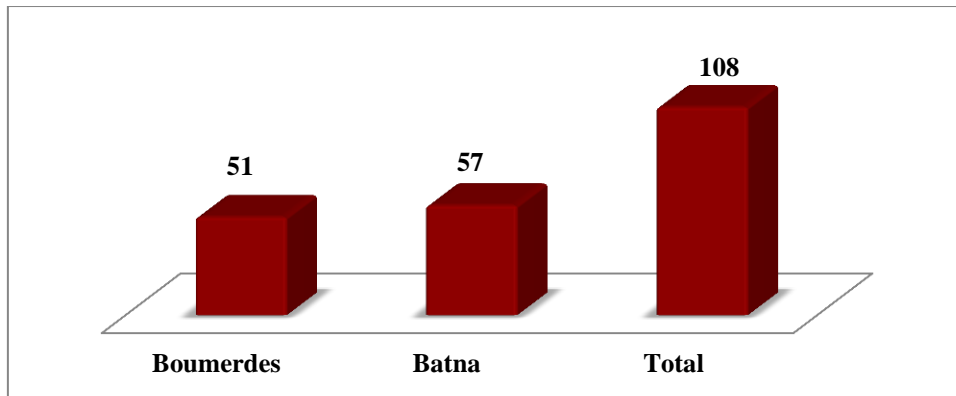


Figure 21: Nombre d'ovin objet de l'étude

II.2. Caractéristiques de la population d'étude

II.2.1. Répartition des échantillons selon le sexe des ovins

Dans notre étude, les ovins à partir desquels les prélèvements ont été réalisés sont répartis comme suit : **28** mâles et **80** femelles.

Le nombre de femelle était de **80** dont **33** dans la région de Boumerdès et **47** dans la région de Batna.

Pour les mâles : **18** dans la région de Boumerdès et **10** mâles dans la région de Batna.

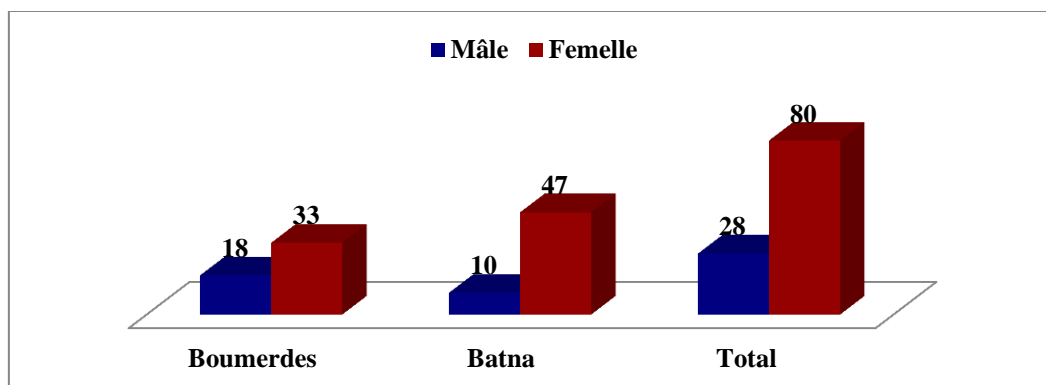


Figure 22: Répartition des échantillons selon le sexe des ovins

II.2.2. Répartition des ovins selon l'âge

L'âge des ovins étudiés varie de 04 mois à 06 ans (tableau 1) Les animaux sont classés selon l'ordre suivant : **45** des ovins sont âgés de < 01 an (**41,67%**), 22 ovins âgés 1 an à 3 ans (**20,37%**) tandis que **41(37,96 %)** des animaux ont un âge supérieur à 3 ans.

Tableau 06: Distribution du nombre de sérums ovins collectés selon l'âge et le sexe dans les deux régions d'étude

Région	Male	Femelle	Total	< 1 an	1 à 3 ans	> 3 ans	Total
Boumerdès	18	33	51	23	14	14	51
Batna	10	47	57	22	8	27	57
Total	28	80	108	45	22	41	108

II.2.3. Fréquence des symptômes liés aux atteintes respiratoires chez les ovins échantillonnés

Les ovins étudiés ont présenté différents symptômes liés à l'atteinte respiratoire. Sur l'ensemble, les symptômes suivants ont été observés (**Figures 23 et 24**) :

-L'hyperthermie: **45,37%** des ovins ont présenté des températures allant de 39,8 C° à 41,2 C° (**Photo 22**), alors que **54,63%** des ovins ne présentaient pas de la fièvre.

-Jetage séro-muqueux : **87,96%** des ovins ont présenté un jetage séro-muqueux tandis que **7,41%** ont présenté un jetage muco-purulent.

Sur **95** ovins qui ont montré un jetage séro-muqueux, **51** ont été recensés dans les régions de Batna contre **44** dans la région de Boumerdès (**Photo 23**).

-La toux a été observée chez **56,48%**. Elle a été notée chez **33** et **28** des ovins échantillonnés au niveau de la région de Batna et Boumerdès, respectivement.

-La faiblesse a été observée chez **35,18%** des ovins prélevés (**17** et **21** ovins au niveau de la région de Batna et Boumerdès respectivement).

-**26,85%** des ovins ont présenté une anorexie suite à l'atteinte respiratoire, **11** et **18** ovins dans la région de Batna et Boumerdès, respectivement.

-**32,41%** des ovins étaient maigres.

-La tachypnée a été notée chez **16,66%** alors que **12,96%** ont présenté une dyspnée.

-**5,55%** seulement des ovins échantillonnés ont présenté un larmolement lors des atteintes respiratoires, noté chez **01** et **05** ovins dans la région de Batna et Boumerdès, respectivement).

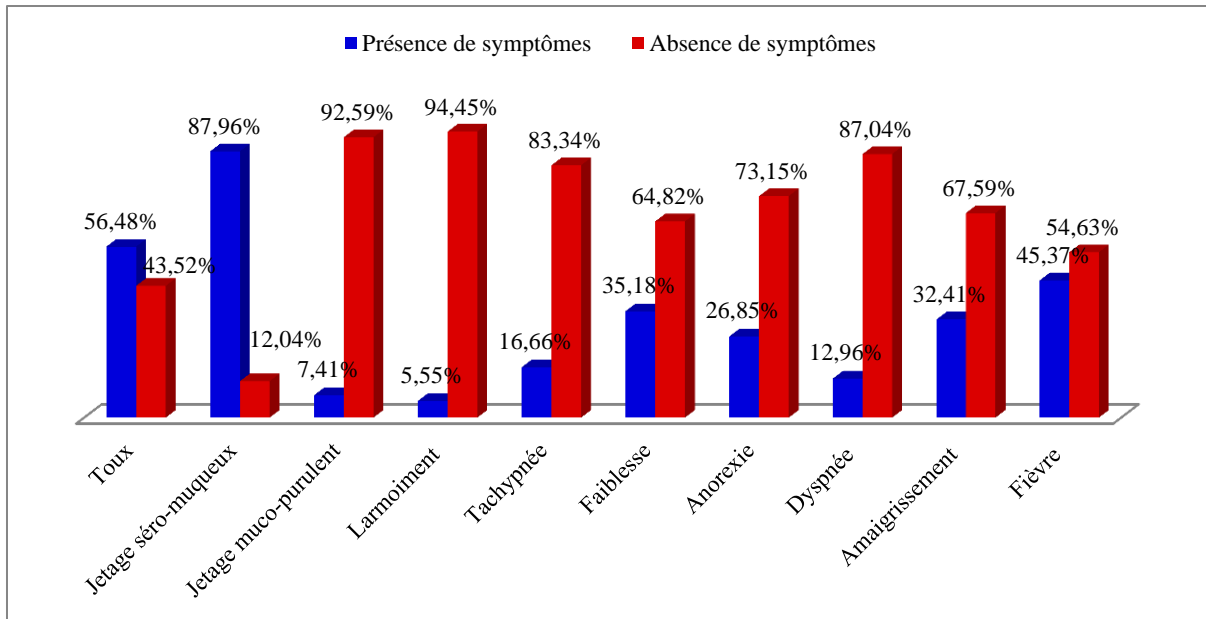


Figure 23: Fréquence des symptômes lies aux atteintes respiratoires chez les ovins échantillonnés

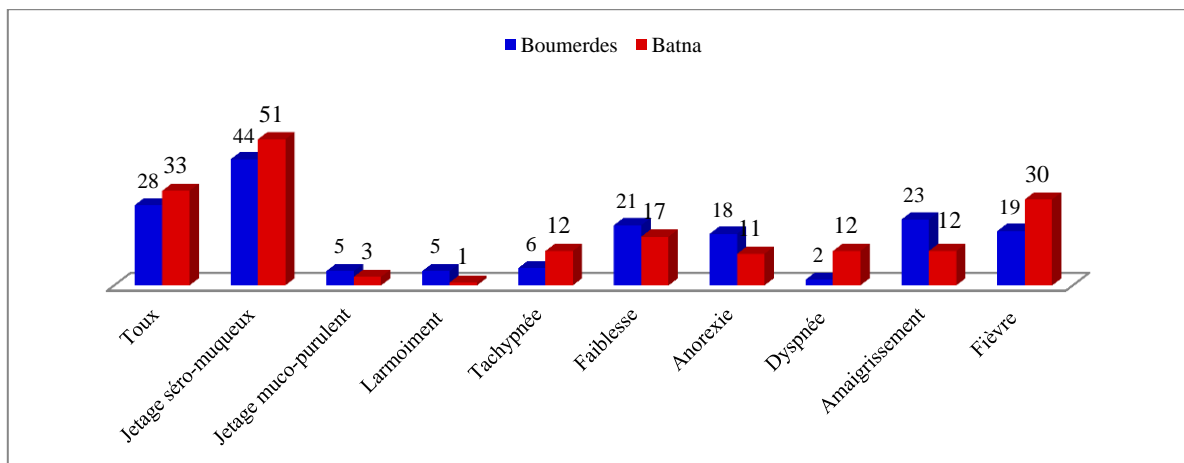


Figure 24: Répartition des symptômes lies aux atteintes respiratoires chez les ovins selon la région d'étude



Photo 22: Fièvre de 41,2 °C. (Originale).



Photo 23: Jetage séro-muqueux chez un agneau. (Originale).

II.3. Résultats sérologiques

Cent huit (108) sérums d’ovins ont été testés par la technique d’ELISA indirect pour la recherche des anticorps anti-BPI3V. 82 sérums se sont révélés positifs soit une prévalence de 75,93% par contre 26 (24,07%) sérums étaient négatifs.

II.3.1. Séroprévalence du virus *Parainfluenza* type 3 en fonction de la région d’étude

Dans la wilaya de Boumerdes, sur 51 sérums testés 40 ont présenté des anticorps soit une prévalence de 78,43% alors que 73,68% (42/57) se sont révélés positifs dans la wilaya de Batna. (Tableau 07).

Tableau 07: Facteurs de risque associés à la séroprévalence du BVPI3 chez les ovins en utilisant le test ELISA indirect

Facteurs de risque	Nombre d’animaux testés	Nombre de cas Positifs (%)	OR	(95%) IC _{OR}	P-value
Région					0,72
Boumerdès	51	40 (78,43)	ref	-	
Batna	57	42 (73,68)	0.7	0,31-1,87	
Age					0,0001*
<1 an	45	24 (53,33)	ref	-	
1-3 ans	22	20 (90,90)	8.75	1,82-41,93	
>3 ans	41	38 (92,68)	11.08	2,98-41,21	
Sexe					0,003*
Mâle	28	15 (53,57)	ref	-	
Femelle	80	67 (83,75)	4.46	1,72-11,56	
Saison					0,64
Hiver	68	53 (77,94)	1,34	0,45-3,29	
Printemps	40	29 (72,5)	ref	-	
Niveau d’hygiène					0,08
Sale	22	17 (77,27)	2.20	0,62-7,70	
Moyen	58	48 (82,76)	3.10	1,12-8,60	
Propre	28	17 (60,71)	ref	-	
Litière					0,88
Absence	78	60 (76,92)	1.21	0,46-3,18	
Existence	30	22 (73,34)	ref	-	
Promiscuité avec d’autres animaux					0,94
Oui	88	66 (75)	0.75	0,22-2,48	

Non	20	16 (80)	ref	-
Facteurs Favorisants				0,005*
Changement climatique	50	43 (86)	4.72	1,49-14,98
Déficit alimentaire	19	17 (89,47)	6.53	1,21-35,12
Stress postpartum	16	9 (56,25)	0.98	0,27-3,58
Poussière	23	13 (56,52)	ref	-
Transport				0,94
Oui	15	12 (80)	1.31	0,34-5,07
Non	93	70 (75,27)	ref	-
Introduction des animaux dans l'élevage				0,82
Oui	16	13 (81,25)	1.44	0,37-5,52
Non	92	69 (75)	ref	-
Taille du cheptel				0,003*
10-50	46	33 (71,74)	ref	-
51-100	31	30 (96,77)	11.81	1,45-95,85
> 100-150	31	19 (61,29)	0.62	0,23-1,64

OR: odds ratios; 95%CI_{OR}: 95% Intervalle de confiance de OR; Ref : référent
 * P-value statistiquement significative:P<0.05

Le test Chi-deux a montré qu'il n'y a pas une association entre la présence des anticorps contre PIV3 et les deux régions d'étude **P=0,72**.

II.3.2. Séroprévalence de virus *Parainfluenza* type 3 en fonction de l'âge

La séropositivité la plus élevée a été détectée chez les ovins les plus âgés (>3 ans) dans les deux régions d'étude (**92,68%**), suivie de celle des ovins âgés de 1 an à 3 ans (**90,90%**). La séroprévalence de BPIV3 était inférieure chez les jeunes ovins (<1 an) (**53,33%**).

L'analyse statistique a montré qu'il y a une association significative entre l'âge des animaux et la séroprévalence de BPIV3 (**P<0.0001**). Les ovins adultes âgés de >3 ans ont **11,08** plus de risque de montrer des anticorps contre BPIV3 que chez les jeunes ovins âgés de moins d'un an (**Tableau 07**). Cependant les animaux âgés de 1-3 ans ont **8,75** plus de risque d'être infectés par BPIV3 que chez les jeunes ovins de moins d'un an.

II.3.3. Séroprévalence du virus *Parainfluenza* type 3 en fonction du sexe de l'animal

Sur **108** ovins testés, **80** étaient des femelles et **28** mâles. **67** femelles ont présenté une séroconversion avec une prévalence de **83,75%**, alors que chez les mâles seulement **15** ovins ont des anticorps contre PIV3 soit une prévalence de **53,57%**.

La séropositivité du BPIV3 était significativement différente selon le sexe des ovins (**P<0,003**), où le risque d'infection était **4,46** plus élevé chez les femelles que chez les mâles.

La promiscuité des ovins avec d'autres espèces animales (bovins) dans l'élevage devrait être un facteur de risque important lié à la séropositivité de BPIV3. Néanmoins, dans notre étude, ce facteur n'était pas significatif (**p<0,94**).

Selon les facteurs de risque, il n'y a pas une association significative entre la saison d'étude, la litière, le transport et l'introduction de nouveaux animaux dans le troupeau et la séroprévalence du BPIV3 (**Tableau 07**).

Cependant, la taille du troupeau et les facteurs favorisants étaient des facteurs de risque significatifs. Le risque de montrer des anticorps contre BPIV3 était **6,53** fois plus élevé chez les ovins avec un déficit alimentaire et **4,72** fois plus élevé chez les ovins exposés au changement climatique (**Tableau 07**).

Le risque de présence de la maladie est **11,81** plus important dans les élevages de taille moyenne que dans les élevages de petite taille (**Tableau 07**).

L'analyse statistique a révélé qu'il n'y a aucune association entre la présence des signes cliniques de la maladie respiratoire et les anticorps dirigés contre BPIV3 chez les ovins étudiés (**Tableau 08**).

Des degrés variables de positivité ont été observés dans les sérums testés (**Tableau 09**). Selon le degré de positivité, **37,96%** des ovins ont un degré de positivité 1+ suivi de **25,93%** des ovins ont un degré de positivité 2+, alors que seulement **9,26%** et **2,76%** ont un degré de positivité de 3+ et 4+, respectivement.

Tableau 08 : Séroprévalence du BPIV3 selon les signes liés aux atteintes respiratoires observés chez les ovins testés

Signes cliniques	Nombre d'animaux testés	Nombre de cas Positif (%)	Nombre de cas Négatif (%)	p-value
Toux				0,32
présence	61	49 (80,33)	12 (19,67)	
Absence	47	33 (70,21)	14 (29,79)	
Jetage séro-muqueux				01
présence	95	72 (75,79)	23 (24,21)	
Absence	13	10 (76,92)	3 (23,08)	
Jetage muco-purulent				0,67
présence	8	7 (87,5)	1 (12,5)	
Absence	100	75 (75)	25 (25)	
Tachypnée				0,06
présence	18	17 (94,44)	1 (5,56)	
Absence	90	65 (72,22)	25 (27,78)	
Fièvre				0,5
présence	49	39 (79,59)	10 (20,41)	
Absence	59	43 (72,88)	16 (27,12)	
Anorexie				0,45
présence	29	24 (28,76)	5 (17,24)	
Absence	79	58 (73,42)	21 (26,58)	
Faiblesse				0,86
présence	38	28 (73,68)	10 (26,32)	
Absence	70	54 (77,14)	16 (22,86)	

* P-value statistiquement significative: P<0.05

Tableau 09: Degré de positivité (titre) des anticorps BPIV3 détectés dans le sérum des ovins dans les régions étude par le test ELISA indirect

Région	Degrés de positivité						Total
	-	1+	2+	3+	4+	5+	
Boumerdès	11	19	13	6	2	0	51
Batna	15	22	15	4	1	0	57
Total (%)	26 (24,07%)	41 (37,96%)	28 (25,93%)	10 (9,26%)	3 (2,78%)	0	108

II.4. Résultats de la recherche du virus PI3 par la technique RT-PCR

Sur **108** écouvillons nasaux prélevés à partir des ovins présentant des atteintes respiratoires, **86** ont été testés par la technique RT-PCR pour la recherche du génome viral. L'ensemble des échantillons testés ont été négatifs (**Figure 25**).

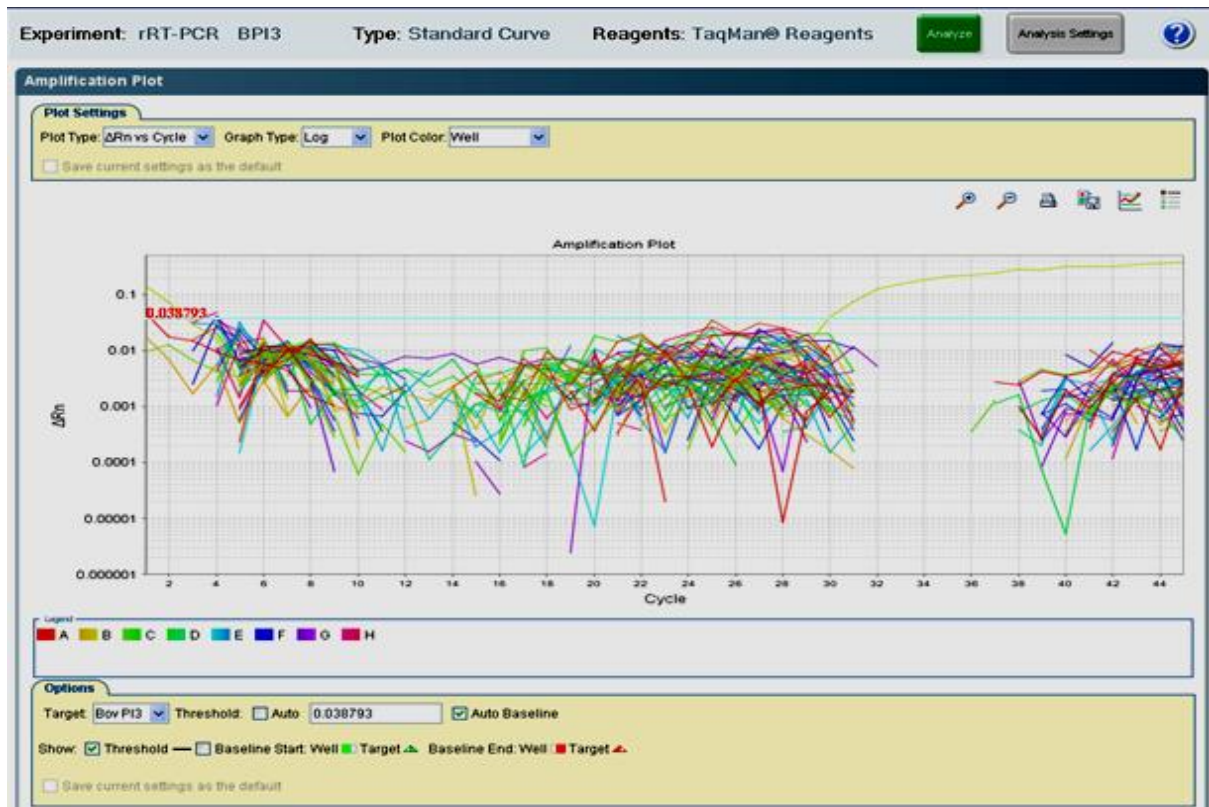


Figure 25: Les courbes d'amplification logarithmique de l'ensemble des échantillons testés et du contrôle positif. (Originale)

III. Résultats de l'enquête à l'abattoir

L'enquête descriptive a été réalisée au cours de la période allant de Décembre 2018 à Décembre 2019.

III.1.Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de l'âge

Tableau 10: Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de l'âge

	Nombre d'ovins inspectés	Nombre d'atteinte pulmonaire	Prévalence
Total	13164	2366	17,97%
Jeunes	13084	2308	17,63%
Adultes	80	58	72,5%

L'étude lésionnelle détaillée réalisée au niveau de l'abattoir municipal de Batna a montré que sur **13164** ovins inspectés **2366** ont présenté des lésions pulmonaires (seules ou associées) soit une prévalence égale à **17,97%** (Tableau 10).

13084 poumons appartenaient à des ovins âgés entre 6 mois et 18 mois et **80** à des ovins adultes (agés de 5ans et plus).

Le nombre des jeunes qui ont présenté des lésions pulmonaires est **2308**, soit une prévalence de (**17,63%**).Cependant, le nombre des adultes qui ont présenté des lésions pulmonaires est **58** soit une prévalence de **72,5%** (Tableau 10).

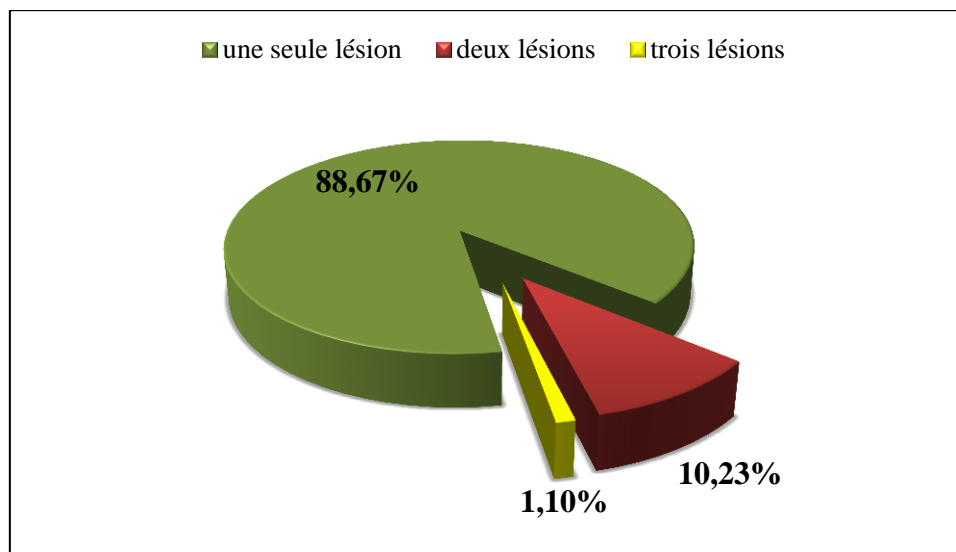
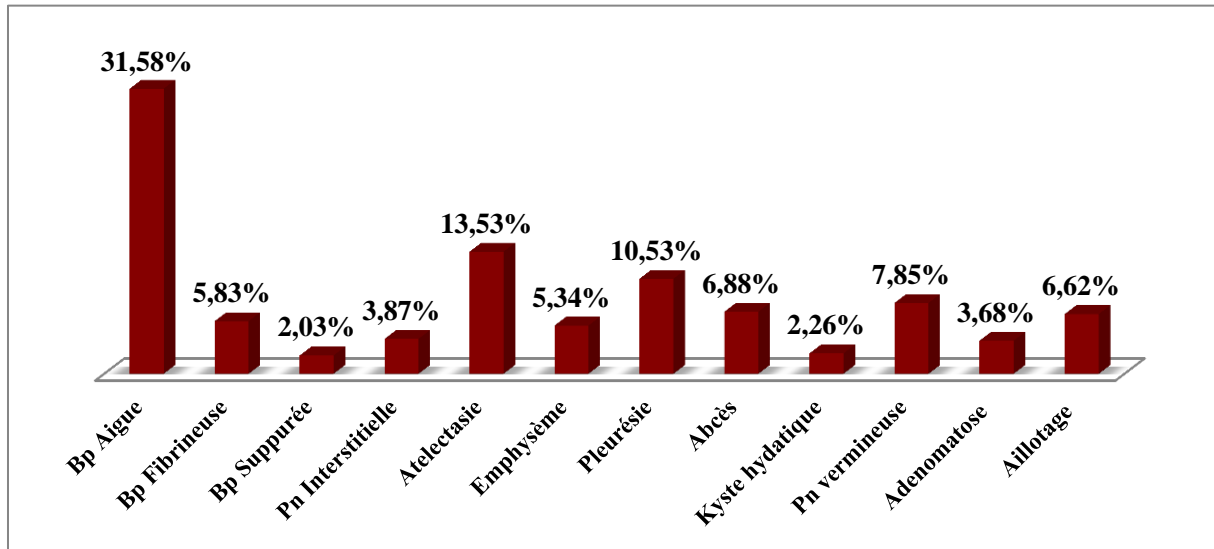


Figure 26: Répartition des ovins atteints selon le nombre des lésions pulmonaires

Le nombre des ovins qui ont présenté:

- ✦ Une seule lésion pulmonaire est de **2098/2366** soit une fréquence de **88,67%**,
- ✦ Deux lésions **242/2366** soit une fréquence de **10,23%**,
- ✦ Trois lésions **26/2366** soit une fréquence de **1,10%** (**Figure 26**).

III.2. Fréquence des principales lésions pulmonaires



Pn : pneumonie, Bp : bronchopneumonie

Figure 27 : Fréquence des principales lésions pulmonaires

Au cours de notre enquête, **2660** lésions ont été observées sur l'ensemble des poumons inspectés, soit une fréquence de **20,21%**.

La bronchopneumonie aigue est la lésion la plus fréquemment notée sur les poumons inspectés avec un taux de **31,58%** (840/2660), suivie de la lésion d'atélectasie **13,53%** (360/2660) (**Figure 27**).

Le kyste hydatique et la bronchopneumonie suppurée sont les lésions les moins observées avec un taux **2,26%** (60/2660) et **2,03%**(54/2660), respectivement.

III.3.Prévalence des poumons atteints en fonction de la saison

La prévalence des atteintes pulmonaires au cours de l'hiver est de **25,30%** (709/2802) suivie de celle de l'été avec **19,65%** (525/2671), alors que le nombre des atteintes pendant l'automne est de (786/5084) soit une prévalence de **15,46%**, alors que la prévalence des atteintes respiratoires est moins observée durant le printemps **13,27%** (346/2607) (**Figure 28**).

La saison d'étude a un effet significatif sur la présence des atteintes pulmonaires chez les ovins inspectés au cours de notre étude. La prévalence était hautement significative au cours de l'hiver comparée aux autres saisons ($p < 0,0001$).

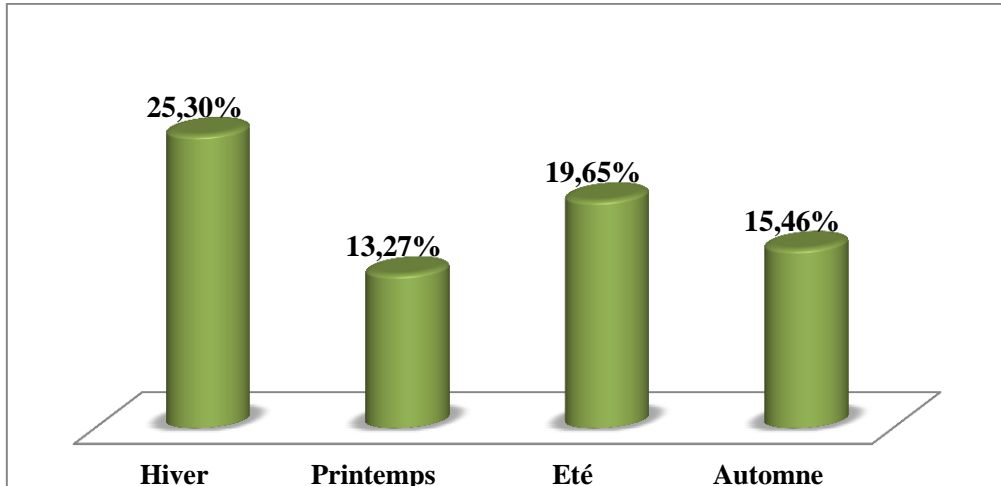


Figure 28: Prévalence des poumons atteints en fonction de la saison

III.4. Fréquence des lésions pulmonaires en fonction de la saison

Sur 2660 lésions pulmonaires, 867 ont été observées au cours de l'automne (32,59%), alors que 819 ont été observées en hiver (30,79%) suivies de celles de l'été 592 (22,26%) et du printemps 382 (14,36%).

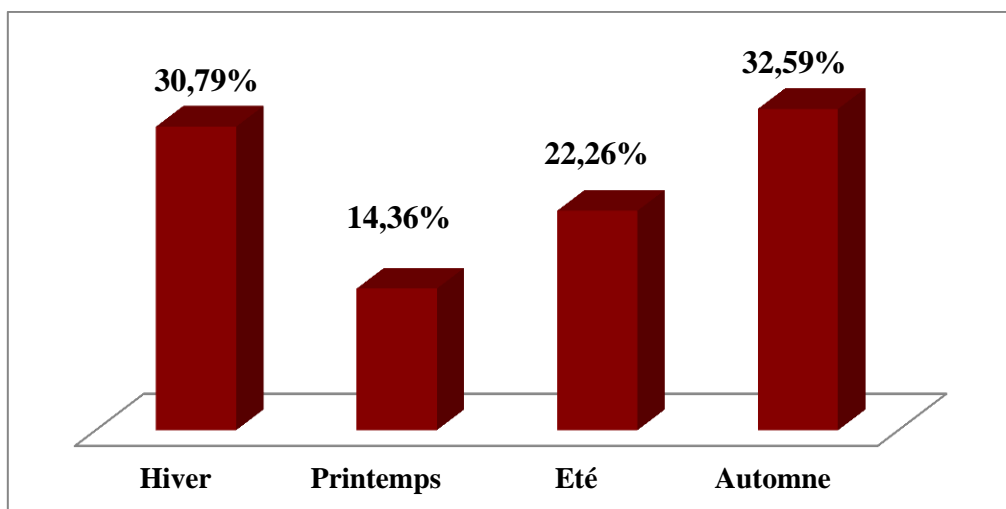


Figure 29: Répartition des lésions pulmonaires en fonction de la saison d'étude

III.5. Répartition des lésions selon les lobes pulmonaires

Le lobe apical droit est le plus affecté par les lésions pulmonaires enregistrant une fréquence de **42,18%**. Cependant la fréquence d'atteinte des lobes caudaux droit et gauche est de **8,68%** et **7,93%**, respectivement.

Par contre, les lésions sont beaucoup moins observées sur les lobes moyens droit et gauche et le lobe apical gauche avec une fréquence de **6,17%**, **4,21%**, **4,29%**, respectivement.

12,93% des poumons entiers ont présenté des lésions, suivis de **9,96%** des poumons droit et **3,65%** pour le poumon gauche. (**Tableau 11**).

Tableau 11: Répartition des lésions selon les lobes pulmonaires

Lobes pulmonaires	Nombre de lésions	Pourcentage
Lobe apical droit	1122	42,18%
Lobe apical gauche	114	4,29%
Lobe moyen droit	164	6,17%
Lobe moyen gauche	112	4,21%
Lobe caudal droit	231	8,68%
Lobe caudal gauche	211	7,93%
Poumon droit	265	9,96%
Poumon gauche	97	3,65%
Poumon entier	344	12,93%

III.6. Fréquence des lésions pulmonaires selon l'âge de l'animal

Chez les jeunes ovins, parmi les lésions observées, la bronchopneumonie aiguë était la lésion la plus fréquemment rencontrée au cours de l'examen post-mortem soit une fréquence de **32,37%** (837/2586), suivie de la lésion d'atélectasie **13,88%** (359/2586) et la pleurésie **10,67%** (276/2586).

Par contre, le kyste hydatique et la bronchopneumonie suppurée sont moins fréquemment observés sur les poumons des jeunes ovins sacrifiés avec un taux de **0,58%** et **1,93%**, respectivement (**Tableau 12**).

Chapitre II : Résultats

Les lésions de parasitoses sont les lésions pulmonaires les plus dominantes chez les femelles sacrifiées, en particulier le kyste hydatique enregistrant une fréquence de **60,81%** (45/74) suivi de la strongylose **14,86%** (11/74) (**Tableau 12**).

Tableau 12: Fréquence des lésions pulmonaires selon l'âge de l'animal

Age des ovins	jeunes		adultes		P-value
	Nombre	%	Nombre	%	
Lésions					
Bp aigue	837	32,37%	3	4,05%	0,0001**
Bp fibrineuse	154	5,96%	1	1,35%	0,12
Bp suppurée	50	1,93%	4	5,41%	0,06
Pn interstitielle	103	3,98%	0	0	-
Atélectasie	359	13,88%	1	1,35%	0,0004**
Emphysème	142	5,49%	0	0	-
Pleurésie	276	10,67%	4	5,41%	0,17
Abcès	179	6,92%	4	5,41%	0,8
Kyste hydatique	15	0,58%	45	60,81%	0,0001**
Pn vermineuse	198	7,66%	11	14,86%	0,04*
Adénomatose	98	3,79%	0	0	-
Alliotage	175	6,77%	1	1,35%	-
Total	2586	100%	74	100%	

Pn : pneumonie, Bp : bronchopneumonie
P-value<0.05, *significative, très significative.**

III.7.Fréquence des différents types de lésions pulmonaires selon la saison d'étude

La lésion de bronchopneumonie aigue est dominante au cours des quatre saisons d'étude (**Tableau 13**) suivie de lésion d'atélectasie. Cette dernière est plus fréquemment observée durant l'automne, l'hiver et l'été, alors que la pleurésie est plus fréquemment observée pendant l'été. L'étude statistique a révélé qu'il y a une différence significative entre la présence des lésions et la saison d'étude à l'exception du kyste hydatique et de l'abcès pulmonaires (**Tableau 13**).

Tableau 13: Fréquence des lésions pulmonaires selon la saison

Saison	Hiver		Printemps		Eté		Automne		P.value
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	
Lésion									
Bp aigue	217	26,50%	147	38,48%	174	29,39%	302	34,83%	0,0001**
Bp fibrineuse	30	3,66%	18	4,71%	27	4,56%	80	9,23%	0,0001**
Bp suppurée	17	2,07%	7	1,83%	22	3,72%	8	0,92%	0,003*
Pn interstitielle	45	5,49%	19	4,97%	15	2,53%	24	2,77%	0,005*
Atélectasie	119	14,53%	26	6,81%	73	12,33%	142	16,38%	0,0001**
Emphysème	34	4,15%	29	7,60%	41	6,92%	38	4,38%	0,01*
Pleurésie	86	10,50%	36	9,42%	86	14,53%	72	8,30%	0,001*
Abcès	61	7,45%	21	5,50%	37	6,25%	64	7,38%	0,5
Kyste hydatique	19	2,32%	3	0,79%	18	3,04%	20	2,31%	0,11
Pn vermineuse	94	11,48%	14	3,66%	49	8,28%	52	6,00%	0,0001**
Adénomatoze	18	2,20%	35	9,16%	19	3,21%	26	3,00%	0,0001**
Alliotage	79	9,65%	27	7,07%	31	5,24%	39	4,50%	-
Total	819	100%	382	100%	592	100%	867	100%	-

Pn : pneumonie, Bp : bronchopneumonie
P-value<0.05, *significative, très significative.**

III.8. Gravité des lésions

Lors de l'inspection post-mortem, les lésions pulmonaires ont été classées selon leur étendue en : lésions légère, modérée et sévère lorsqu'elles affectent respectivement moins de 10 %, 10-20 et plus de 20 % du tissu pulmonaire respectivement. Des exemples du système de notation sont présentés dans la **Figure 06**.

Sur **2366** poumons atteints, **55,24%** ont présenté une lésion légère, qui touchait une partie du lobe apical, alors que **33,86%** avaient présenté des lésions modérées qui siègent au niveau d'un lobe voire deux lobes et **10,90%** avaient des lésions sévères qui s'étendaient sur plusieurs lobes voire sur le poumon entier (**Figure 30**).

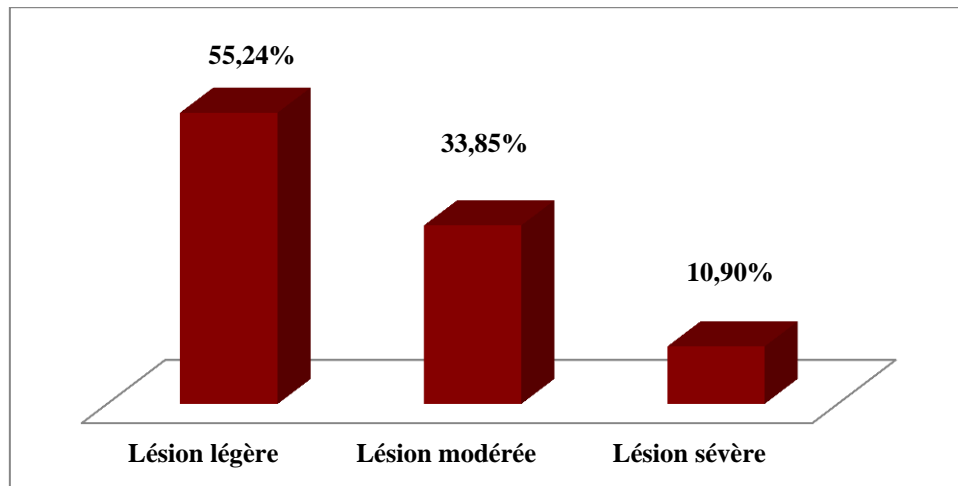


Figure 30: Classification des poumons atteints selon la gravité de la lésion

IV. Examens macroscopique et microscopique des lésions pulmonaires

IV.1. Classification des lésions pulmonaires

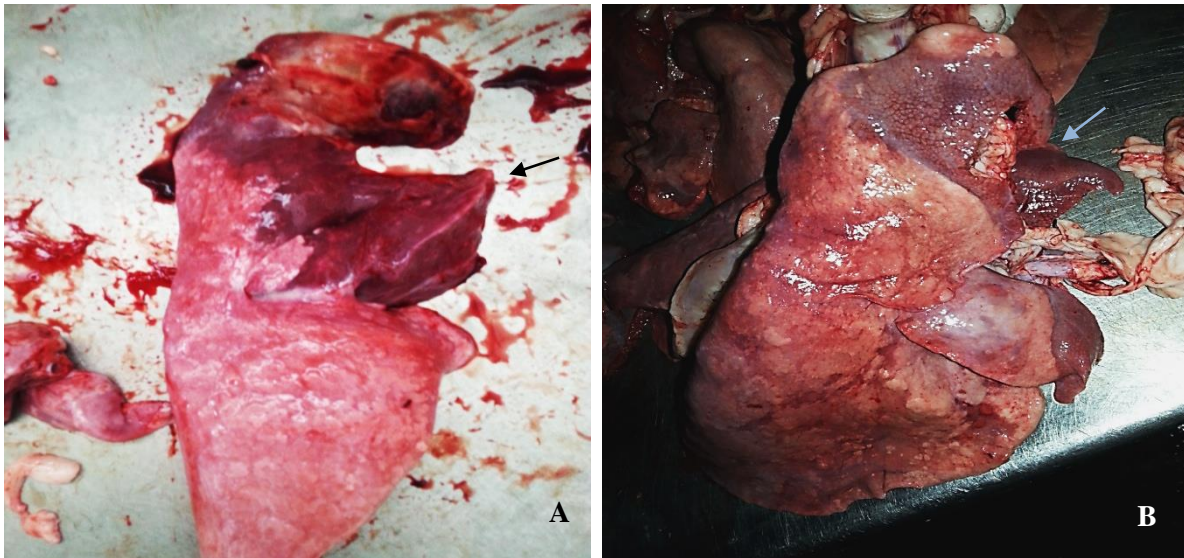
IV.1.1. Bronchopneumonie aigüe

Sur l'ensemble des lésions rencontrées au cours de la période d'étude, la bronchopneumonie aigüe était la lésion dominante avec une fréquence de **31,58%**.

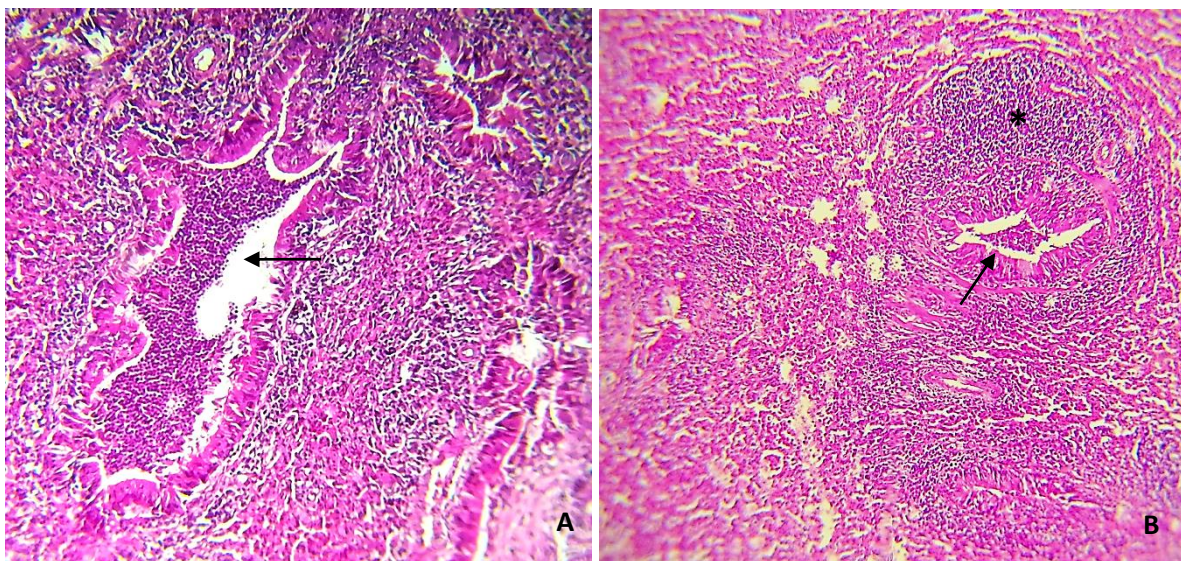
-L'aspect macroscopique est caractérisé par un durcissement de tissu comme un morceau de chair, avec une couleur sombre siégeant surtout dans les lobes apicaux surtout le lobe droit. Elle atteint soit une partie soit la totalité de ces derniers, et s'étend parfois au lobes cardiaques. La zone consolidée est nettement délimitée (**Photos 24**).

-L'aspect microscopique se caractérise par l'absence totale de la lumière alvéolaire, avec présence des polynucléaires neutrophiles au niveau des bronchioles ou autour de ces derniers (**Photos 25**).

Il y a une différence significative de la fréquence de cette lésion selon l'âge des animaux au cours de la saison d'étude (**p<0,0001**).



Photos 24 : (A, B) Aspect macroscopique de la bronchopneumonie aiguë: caractérisé par un durcissement localisé au niveau des lobes apical et moyen droit (flèches) (aspect de chair). (Originale)



Photos 25: (A, B) Coupes histologiques de cette lésion sont caractérisées par l'absence de la lumière alvéolaire, et présence des cellules inflammatoires à l'intérieur de la lumière des bronches et bronchioles (flèches), une hyperplasie lymphoïde peri-bronchiolaire (*), H&E (x100). (Originale)

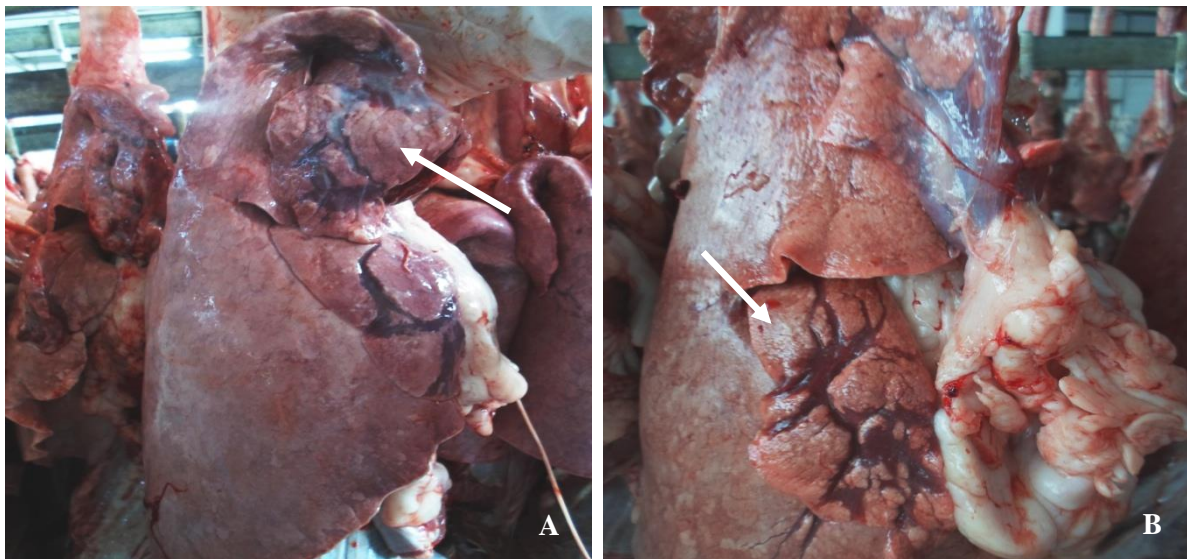
IV.1.2. Atélectasie

Cette lésion est enregistrée à une fréquence de **13,53%**. Elle se caractérise par un affaissement du parenchyme pulmonaire en forme linéaire ou en plage, de couleur sombre, de consistance ferme avec perte d'élasticité dans ces régions et la coupe est sèche.

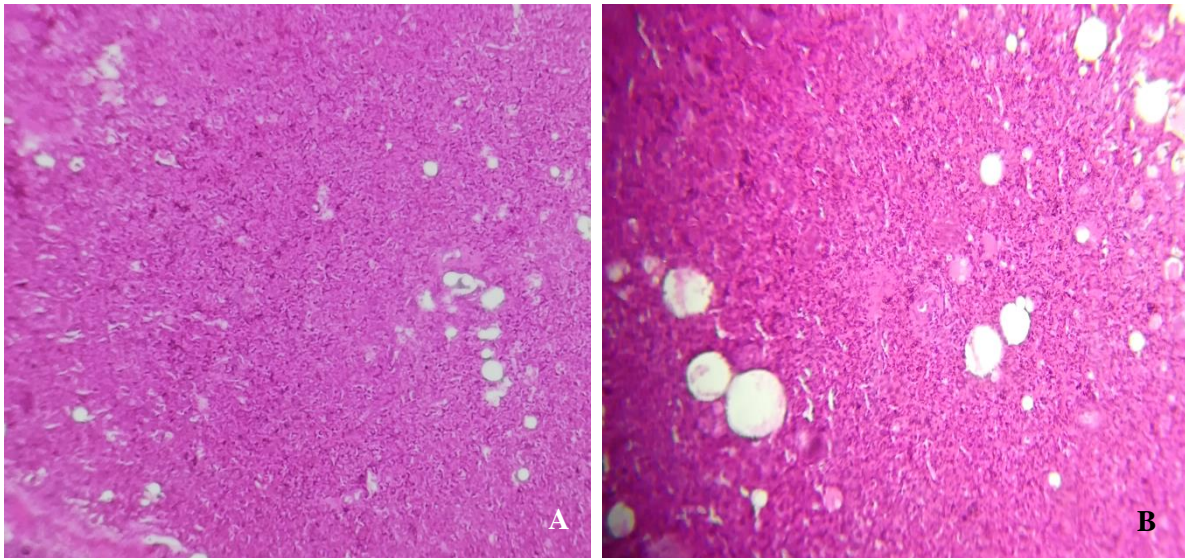
Cette lésion est rencontrée au niveau des lobes apicaux et moyens, elle est toujours en dépression par rapport à la surface pulmonaire (**Photos 26**).

Microscopiquement l'atélectasie se caractérise par l'affaissement total des alvéoles et l'absence totale de l'air dans la zone atteinte (**Photos 27**).

L'âge et la saison ont un effet significatif sur la présence de la lésion d'atélectasie $p < 0,0004$ (**Tableau 12**), où cette lésion était fréquemment observée en saison automnale (**Tableau 13**).



Photos 26: (A, B) Aspect macroscopique d'atélectasie, caractérisée par l'affaissement de la région atteinte par rapport au parenchyme pulmonaire (flèches). (Originale)



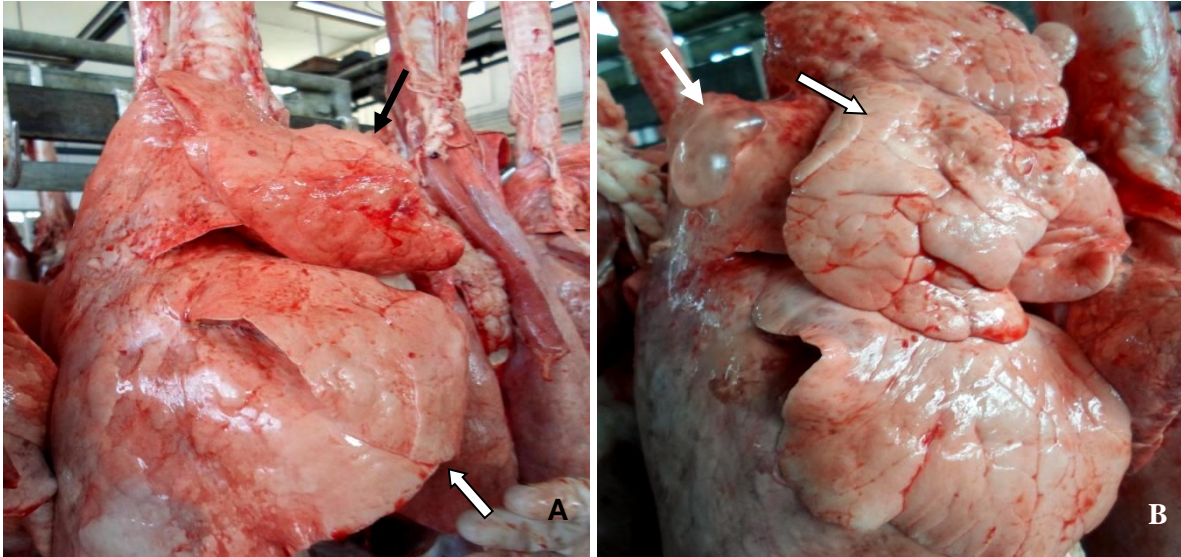
Photos 27: (A, B) Histologiquement l'atélectasie est caractérisée par la disparition totale de la lumière alvéolaire, H&E (A : x100, B: x200). (Originale)

IV.1.3. Emphysème pulmonaire

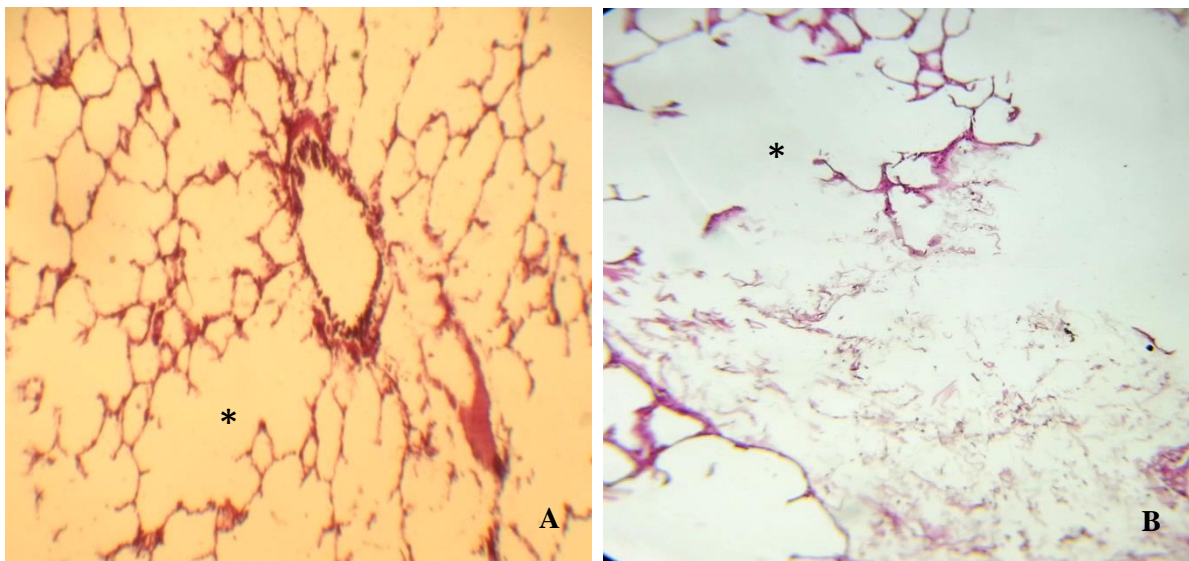
L'emphysème pulmonaire est une lésion secondaire qui apparaît suite à quelques atteintes pulmonaires. Dans notre étude il est observé à une fréquence de **05,34%**. Cette lésion se caractérise par un aspect volumineux du lobe atteint, de couleur rose clair, avec des crépitations à la palpation, suite à la présence de l'air dans le tissu conjonctif interlobulaire (**Photos 28**).

Microscopiquement l'emphysème se caractérise par la distension de l'espace inter-alvéolaire suite à la présence de l'air en excès, ce qui entraîne une rupture des parois alvéolaires (**Photos 29**).

Il y a une différence significative de la fréquence de l'emphysème pulmonaire selon la saison d'étude ($p < 0,01$). (**Tableau 13**).



Photos 28 : (A, B) L'emphysème pulmonaire avec une augmentation de la taille de la région atteinte par l'air enfermé dedans (flèches), ainsi que la présence de crépitation à la palpation. (Originale)



Photos 29 : (A, B) Coupes histologiques de l'emphysème pulmonaire : amincissement voire destruction de la paroi alvéolaire (*), H&E (A : x40), (B: x100). (Originale)

IV.1.4. Aillotage

Aillotage n'est pas une pneumonie, mais c'est une lésion due à un accident d'abattage. Elle est consécutive à une aspiration du sang dans les voies aériennes suite à la saignée de l'animal.

Elle est observée dans **6,62%** des lésions rencontrées au cours de l'inspection post-mortem.

Chapitre II : Résultats

Elle se caractérise macroscopiquement par une couleur rouge sombre, soit une partie du poumon ou parfois l'ensemble du poumon, à la coupe il y a un écoulement du sang (**Photo 30**).

Le poumon est saisi suite à la présence d'une quantité importante du sang qui favorise la multiplication des germes.

Sur le plan microscopique, cette lésion est caractérisée par la présence du sang dans les capillaires sanguins, dans les bronchioles, ainsi que dans l'espace intra-alvéolaire (**Photo 31**).



Photo30: Poumon gorgé de sang par aspiration suite à la saignée d'abattage. (Originale)

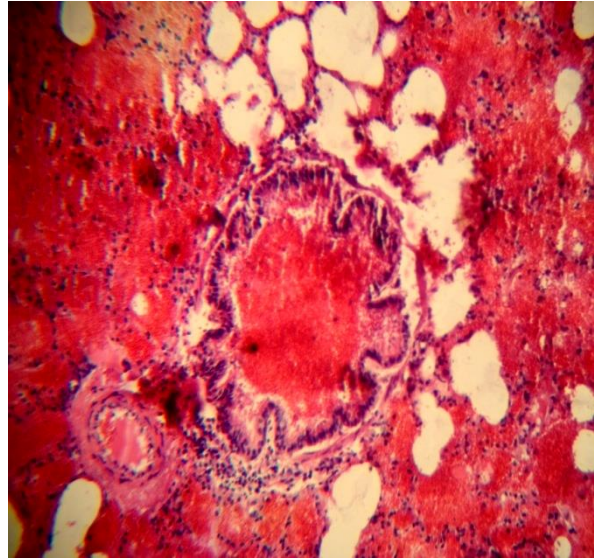


Photo31 : Aspect microscopique de cette lésion caractérisé par la présence de sang dans la lumière alvéolaire et dans les bronchioles, H&E (x40). (Originale)

IV.1.5.Pleurésie

La pleurésie est observée dans **10,53%** des poumons atteints. Cette lésion est marquée par une invagination tissulaire et épaissement de la plèvre sur les bords caudaux du poumon suite à son inflammation avec adhérence du poumon à la cage thoracique (**Photos 32**).

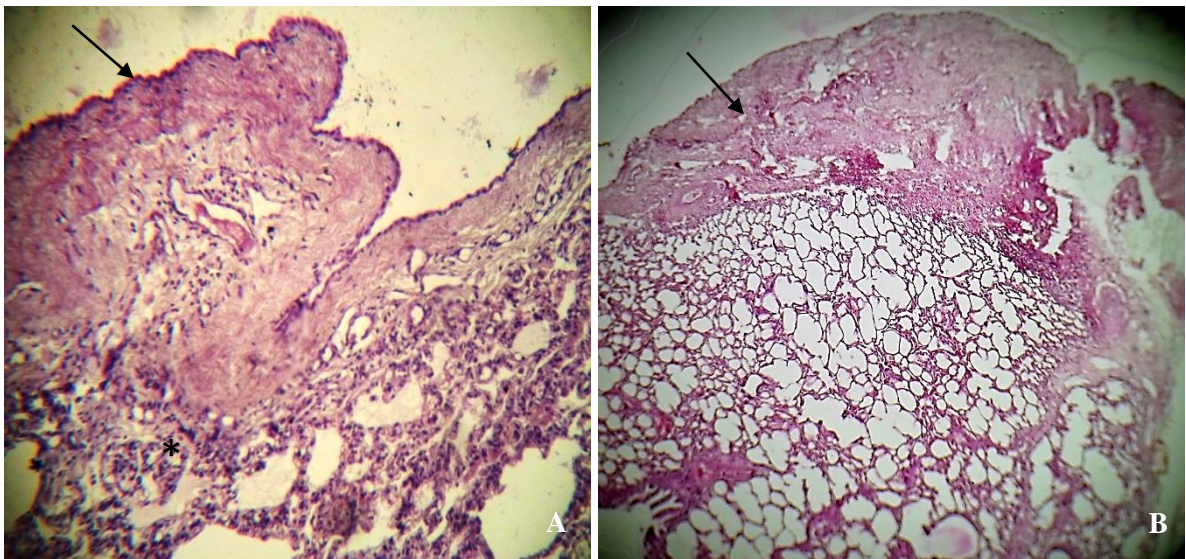
Microscopiquement, elle est caractérisée par un épaissement de la plèvre, avec la présence de cellules inflammatoires dans le parenchyme pulmonaire (**Photos 33**).

Chapitre II : Résultats

Il n'y a pas une différence significative de la fréquence de la pleurésie selon l'âge de l'animal ($p < 0,1$), tandis que la saison a un effet significatif sur la présence de la lésion de pleurésie ($p < 0,001$). Cette lésion est toujours associée à une pneumonie.



Photos 32 : (A) Pleurésie est caractérisée par un épaissement de la plèvre pariétale (flèche). (B) Adhérence de la plèvre à la cage thoracique (flèche). (Originale)



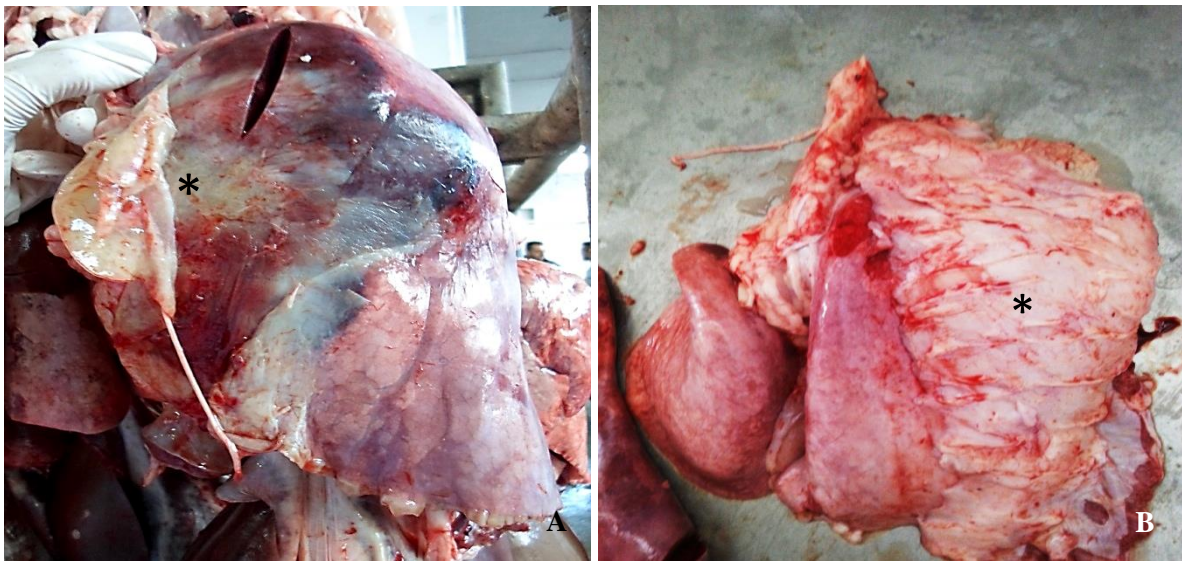
Photos 33 : (A, B) Coupes histologiques de pleurésie, avec épaissement de la plèvre (flèches), présence des cellules inflammatoires dans le parenchyme pulmonaires (*), H&E (x40). (Originale)

IV.1.6. Bronchopneumonie fibrineuse

La bronchopneumonie fibrineuse est enregistrée à un taux de **05,83%**. Elle siège dans les lobes cranio-ventraux, et se caractérise par une perte d'élasticité du parenchyme pulmonaire atteint et elle est entourée d'une couche de fibrine (**Photos 34**). Cette lésion se développe, généralement suite à l'infection par *Mannhaemia hemolytica*.

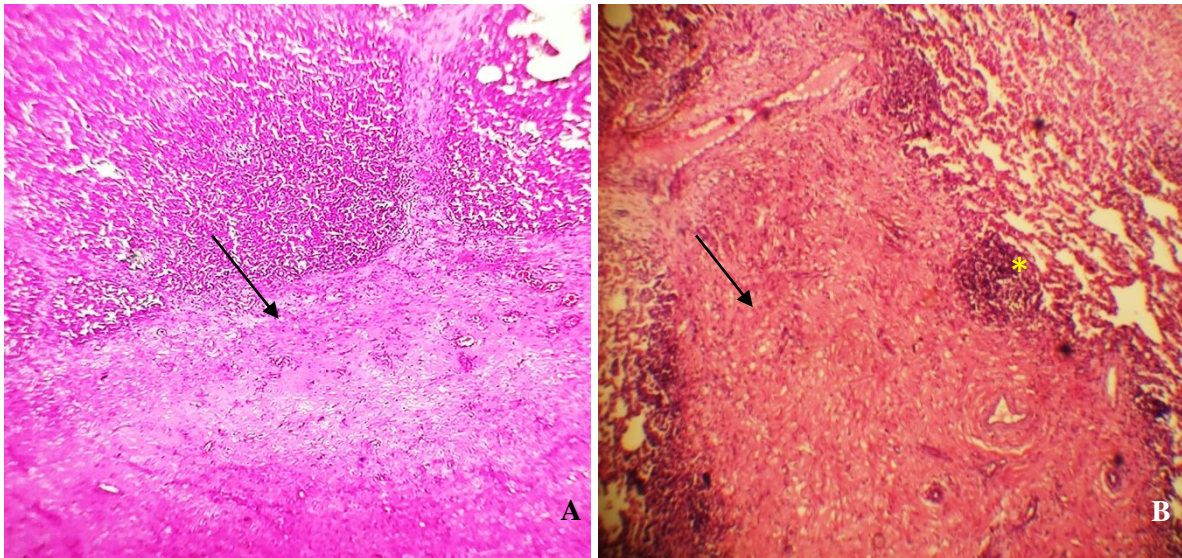
Les lésions microscopiques se caractérisent par une exsudation des bronches, des bronchioles et les alvéoles majoritairement composées de fibrine et de neutrophiles. Les septa interlobulaires sont épaissis par une infiltration d'exsudats fibrino-cellulaires (**Photos 35**), entouré de cellules inflammatoires.

Il n'y a pas une relation significatif entre la présence de la bronchopneumonie fibrineuse et l'âge des ovins abattus ($p < 0,12$), alors que la saison a un effet significatif sur l'apparition de cette lésion ($p < 0,0001$).



Photos 34 : Aspect macroscopique de la bronchopneumonie fibrineuse (A, B): la partie atteinte est sombre et d'une texture dure, la consolidation observée au niveau des lobes apical et moyen entourée d'une couche épaisse de fibrine (*), la partie caudale est d'aspect normal (A).

(Originale)



Photos 35: (A, B) Les coupes histologiques de bronchopneumonie fibrineuse sont déterminées par un dépôt de fibrine (flèche) entouré de cellules inflammatoires, épaissement des septa alvéolaires et présence d'un foyer de nécrose (*), H&E (x100). (Originale)

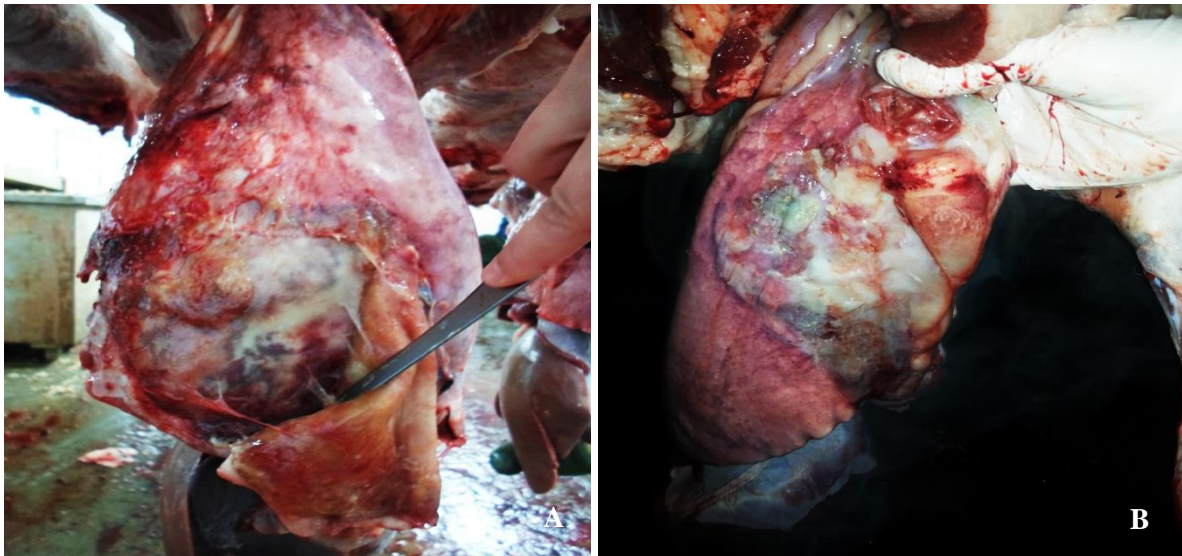
IV.1.7. Bronchopneumonie suppurée

L'inspection post mortem a révélé la présence de bronchopneumonie suppurée dans **02,03%** des cas.

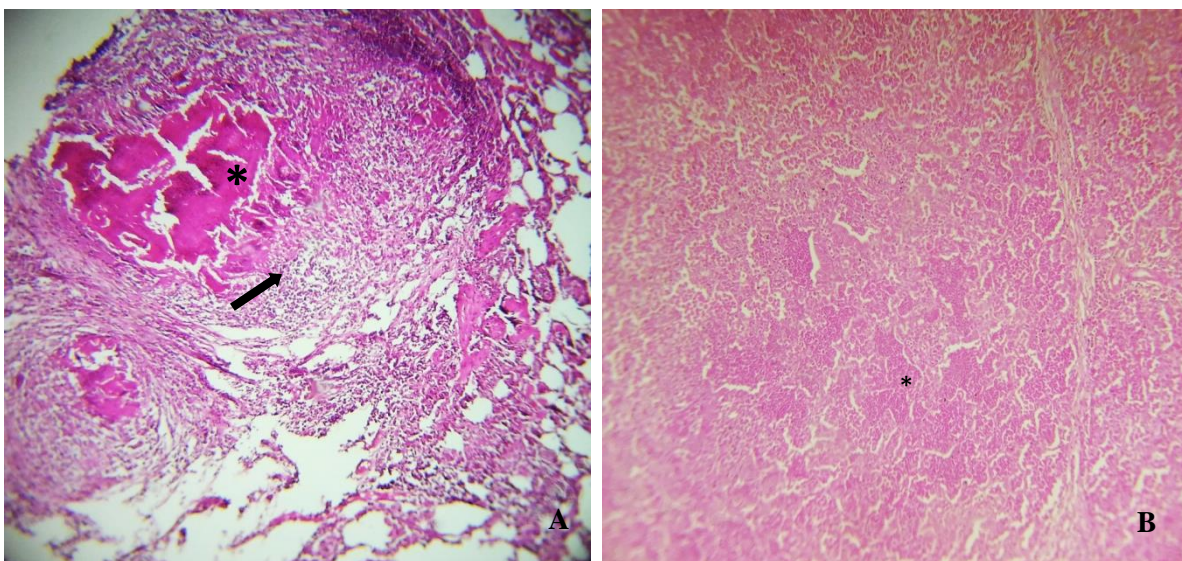
Cette lésion se caractérise macroscopiquement par la présence de zones de consolidation de couleur sombre qui touche surtout les lobes apicaux et moyens, parfois on observe la présence des abcès de taille variable. A l'incision on note l'écoulement de matériel nécrotique (**Photos 36**).

Microscopiquement, les espaces alvéolaires et les bronchioles sont remplis d'exsudat et de cellules inflammatoires, principalement des neutrophiles, des débris nécrotiques, des dépôts de fibrine et une congestion ont été observés dans ces zones (**Photos 37**).

Selon l'étude statistique, il n'y a pas une relation entre la présence de la lésion de bronchopneumonie suppurée et l'âge de l'animal ($p < 0,06$), tandis que la saison a un effet significatif sur la présence de bronchopneumonie suppurée ($P < 0,003$).



Photos 36: Bronchopneumonie suppurée caractérisée par l'atteinte des lobes apicaux et moyens et présence d'un exsudat purulent au niveau des bronches (A, B). (Originale)



Photos 37: (A) Microscopiquement la bronchopneumonie suppurée montre la présence d'un tissu nécrotique (*) entouré de cellules inflammatoires (flèche), (H&E) (x 100).

(B) Présence de cellules inflammatoires (*), Absence de la lumière alvéolaire, H&E (x200).

(Originale)

IV.1.8. Abscès pulmonaire

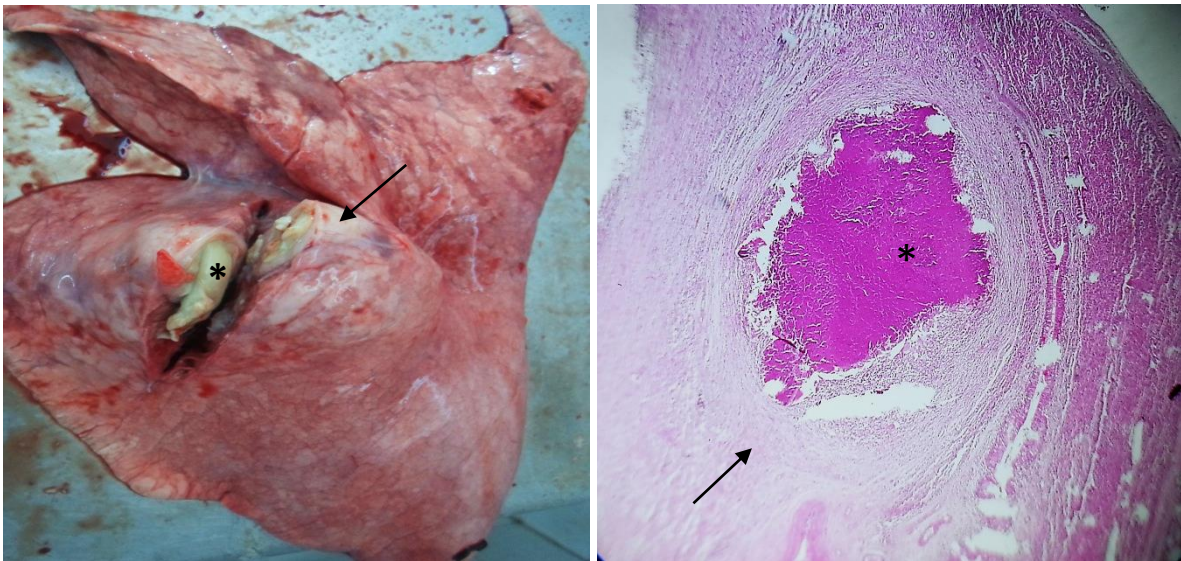
Sur 2660 lésions enregistrées 183 étaient des lésions d'abcès soit une fréquence de **6,88%**.

L'abcès pulmonaire est un foyer limité de nécrose suppurée, peut être unique ou multiple et de taille variable. L'amas de nécrose est entouré par une capsule à paroi fibreuse épaisse et dure.

Cette lésion a généralement une localisation cranio-ventrale mais parfois observée sur l'ensemble du poumon.

Histologiquement l'abcès se caractérise par la présence d'une zone limitée de nécrose entourée de tissu fibreux ainsi que la présence des cellules inflammatoires surtout les neutrophiles au niveau de la lumière alvéolaire et la lumière des bronchioles (**Photos 38**).

L'âge et la saison n'ont aucun effet significative sur la présence de l'abcès pulmonaire ($p < 0,5$).



Photos 38: (A) Abscès unique, entouré d'une capsule fibreuse (flèche). A l'incision il a été constaté un écoulement de pus de couleur verdâtre (*). (Originale)

(B) Aspect microscopique de l'abcès pulmonaire avec la présence de foyers de nécrose (*) entouré d'une large couche de fibrine (flèche), H&E (x100). (Originale)

IV.1.9. Pneumonie interstitielle

Contrairement aux bronchopneumonies, dans lesquelles la répartition des lésions est généralement cranio-ventrale, dans les pneumonies interstitielles, les lésions sont distribuées de façon plus diffuse et impliquent généralement tous les lobes, ou dans certains cas, elles semblent être plus prononcées dans les lobes dorso-caudaux des poumons.

La pneumonie interstitielle est observée à une fréquence de **03,87%**. Il y a une relation entre la présence de la pneumonie interstitielle et la saison d'étude ($p < 0,005$).

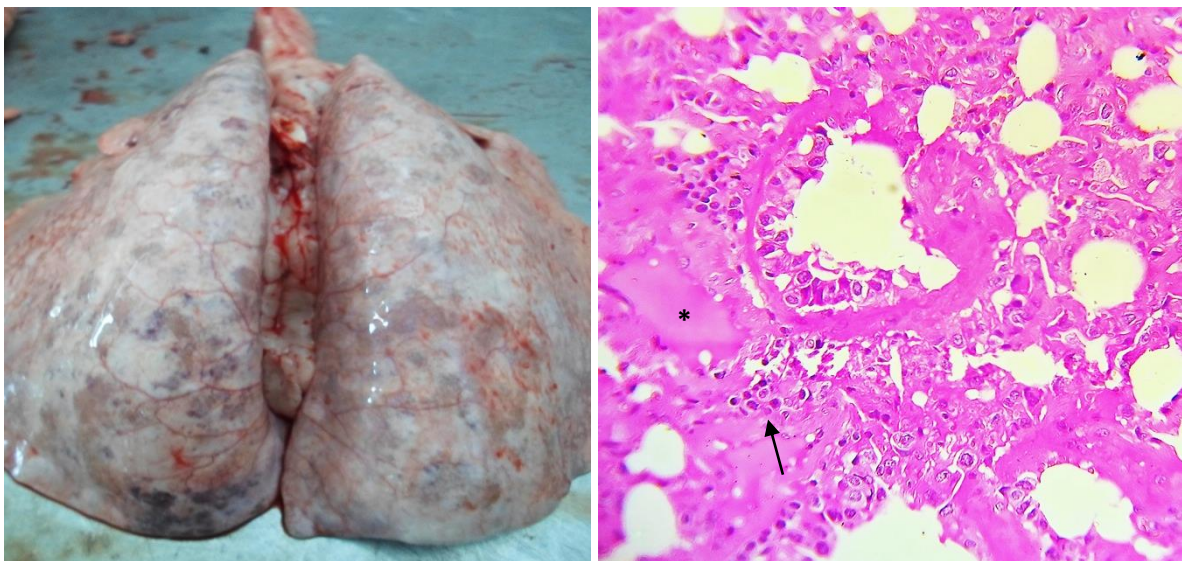
Les principales caractéristiques de la pneumonie interstitielle sont :

La défaillance des poumons de s'affaisser lorsque la cavité thoracique est ouverte.

Présence occasionnelle d'empreintes de côtes sur la surface pleurale du poumon indiquant le mauvais affaissement des poumons et le manque d'exsudats visibles dans les voies respiratoires sauf complication d'une pneumonie bactérienne secondaire.

La couleur des poumons affectés varie du rouge diffus dans les cas aigus au diffus gris pâle à rouge marbré.

Histologiquement, cette lésion se caractérise par épaissement de la paroi alvéolaire et la présence d'un exsudat inflammatoire (**Photos 39**).



Photos 39 : (A) Pneumonie interstitielle : poumon distendu de couleur gris pâle.

(B) Microscopiquement la lésion se caractérise par l'épaississement des septa alvéolaires par infiltration interstitielle de cellules inflammatoires (flèche) et présence de liquide dans les alvéoles (*), H&E (x100). (Originale)

IV.1.10. Adénomatosose pulmonaire ovine

L'adénomatosose pulmonaire ovine (OPA) est enregistrée à une fréquence de **03,68%** (98/2660) sur l'ensemble des lésions rencontrées.

La forme classique d'adénomatosose pulmonaire est la plus observée au cours de l'examen post mortem, elle se traduit par un gonflement du poumon avec perte de son élasticité.

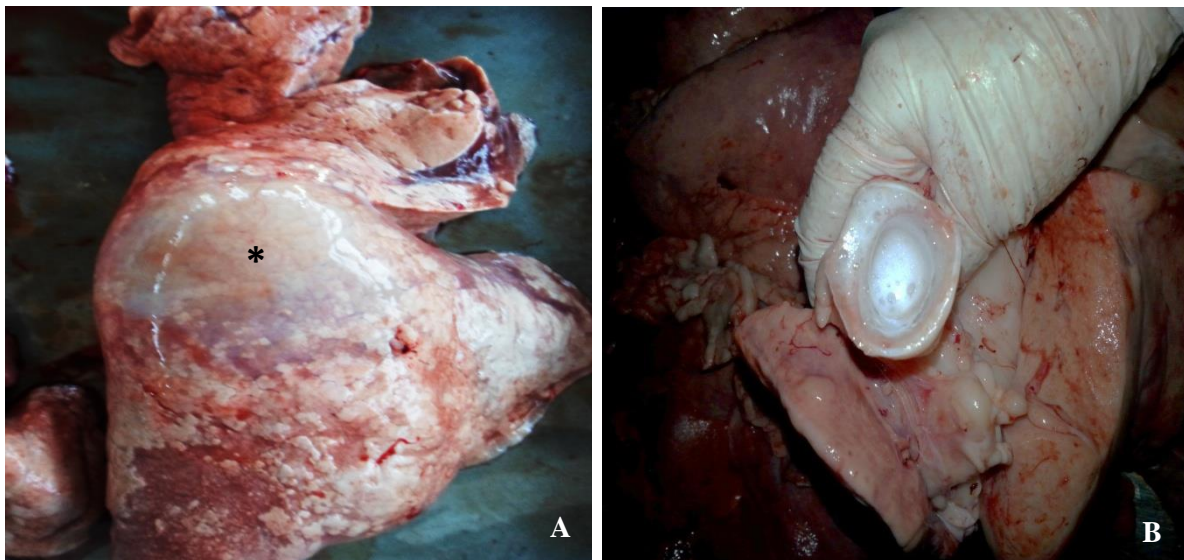
Les poumons sont lourds, plus pâles que la normale avec présence de larges masses dures (tumeurs). A la section il s'écoule de grandes quantités de liquide (sous l'action de faible pression, parfois on constate de la spumosité qui encombre les bronches et les bronchioles (**Photos 40**)).

Du point de vue microscopique, les lésions sont caractérisées par la prolifération de forme papillomateuse et/ou acineuse, principalement, des pneumocytes de type II, des cellules épithéliales sécrétoires dans les alvéoles pulmonaires. Des cellules non ciliées (cellules de Clara) et des cellules épithéliales des bronchioles terminales peuvent être impliquées.

Les cellules tumorales cuboïdales ou cylindriques remplacent les fines cellules alvéolaires et forment des proliférations papilliformes qui se projettent dans les alvéoles.

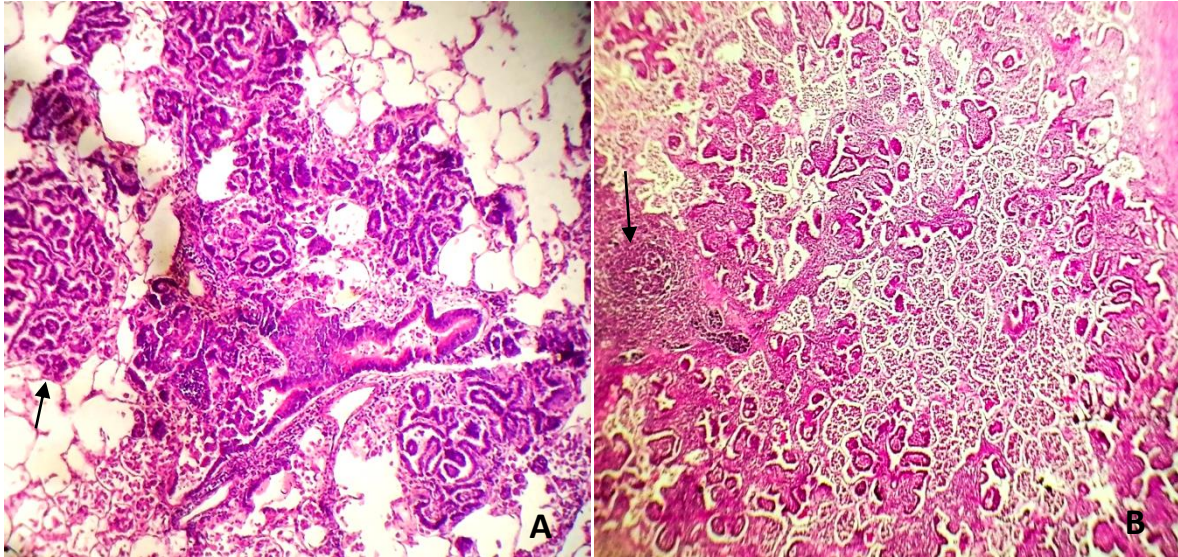
Une prolifération intra-bronchiolaire peut être observée.

La fréquence de l'adénomatosose pulmonaire ovine diffère significativement selon les saisons d'étude, elle est fréquemment observée en saison d'automne ($P < 0,0001$).



Photos 40 : (A) Adénomatosose pulmonaire : le poumon atteint est lourd et distendu.

Présence d'une masse tumorale dure de couleur pale (*). (B) présence de liquide mousseux au niveau de la trachée. (Originale)



Photos 41: Coupes histologiques d'OPA montrant une prolifération néoplasique.

(A) Extension des pneumocytes de type II vers la lumière alvéolaire (flèche), entourées des alvéoles d'aspect normal, H& E (x100).

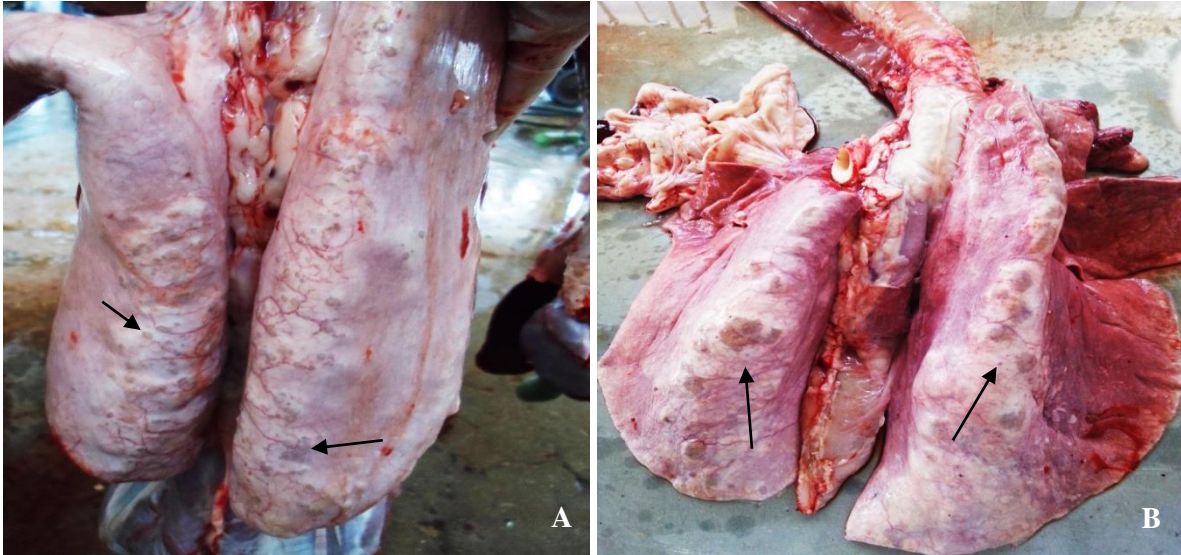
(B) Croissance de forme acineuse des cellules alvéolaires (pneumocytes de type II), entourées de cellules inflammatoires. Présence d'une hyperplasie lymphoïde (flèche), H&E (x40). (Originale)

IV.1.11. Pneumonie vermineuse

Cette lésion parasitaire est observée dans **07,85%** des poumons atteints. Elle est caractéristique d'une pneumonie strongylienne sur la face dorsale des poumons, sous la plèvre sans incisions ou sans ouverture. Il y a la présence de deux formes : forme nodulaire caractérisée par des nodules de couleur grisâtre alors que la forme lobulaire se caractérise par des lésions en plaque de quelques centimètres de diamètre de couleur jaune grisâtre (taches de bougie), sa consistance est caoutchouteuse, les deux formes sont localisées surtout sur les lobes caudaux droit et gauche (**Photos 42**).

Histologiquement, la lésion se caractérise par la présence des parasites aux différents stades (œufs et larves) au niveau de la lumière des bronchioles et des alvéoles, la présence d'une infiltration du tissu adjacent par des cellules inflammatoires (**Photos 43 et 44**).

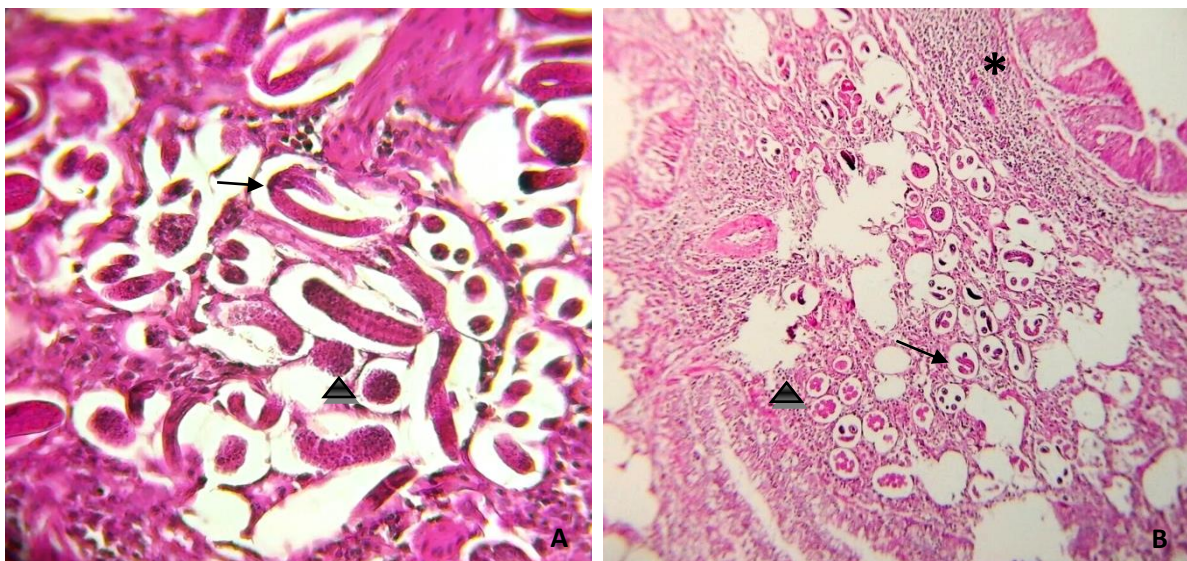
L'âge et la saison ont un effet significatif sur la présence de la pneumonie strongylienne ($p < 0,04$ et $p < 0,0001$ respectivement).



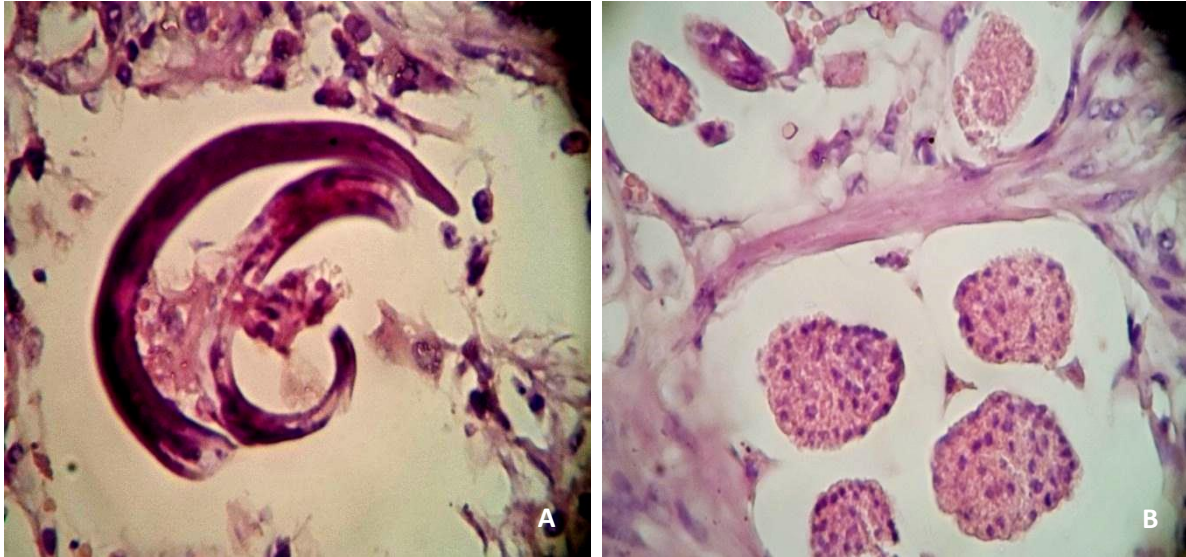
Photos 42: Aspect macroscopique de pneumonie strongylienne.

(A) Forme nodulaire : caractérisée par la présence de nodules gris, de consistance dure sur la face dorsale du poumon (flèche).

(B) Forme lobulaire : des lésions de quelques centimètres notées sur les lobes diaphragmatiques des poumons atteints (flèche). (Originale)



Photos 43: Coupe histologique d'une pneumonie vermineuse caractérisées par la présence de nombreuses larves (flèche) et d'œufs (tête de flèche) dans la lumière alvéolaire avec présence de cellules inflammatoires. Présence d'une hyperplasie lymphoïde peri-bronchiolaire (*), H&E (A: x 200) (B: x100). (Originale)



Photos 44: Aspect microscopique du parasite (A) et d'œufs de parasite (B) localisés dans la lumière alvéolaire, H&E (x400). (Originale)

IV.1.12. Kyste hydatique

Sur l'ensemble des poumons inspectés, le kyste hydatique est observé dans 60 cas soit une fréquence de **02,26%**. Il y a une association significative entre l'âge de l'hôte et l'infestation par le kyste hydatique ($p < 0,001$). Les adultes sont plus susceptibles de développer le kyste hydatique que les jeunes ovins car ils ont bénéficié du temps nécessaire au développement du parasite.

Il n'y a pas une différence significative de la fréquence du kyste hydatique au cours des saisons d'étude ($p < 0,1$).

Macroscopiquement, le kyste hydatique est observé soit seul ou multiple, localisé dans un ou plusieurs lobes à la fois, de taille variable allant de quelques millimètres à 2-4 cm. Certains kystes étaient adhérents au parenchyme pulmonaire et n'étaient détectables qu'à la palpation, d'autres superficiels bien saillants donnant un aspect bosselé au poumon et change complètement la forme du poumon (**Photos 45**).

Le kyste hydatique a une paroi épaisse et opaque, parfois entouré d'une capsule fibreuse. A la palpation, on sent un liquide sous pression.

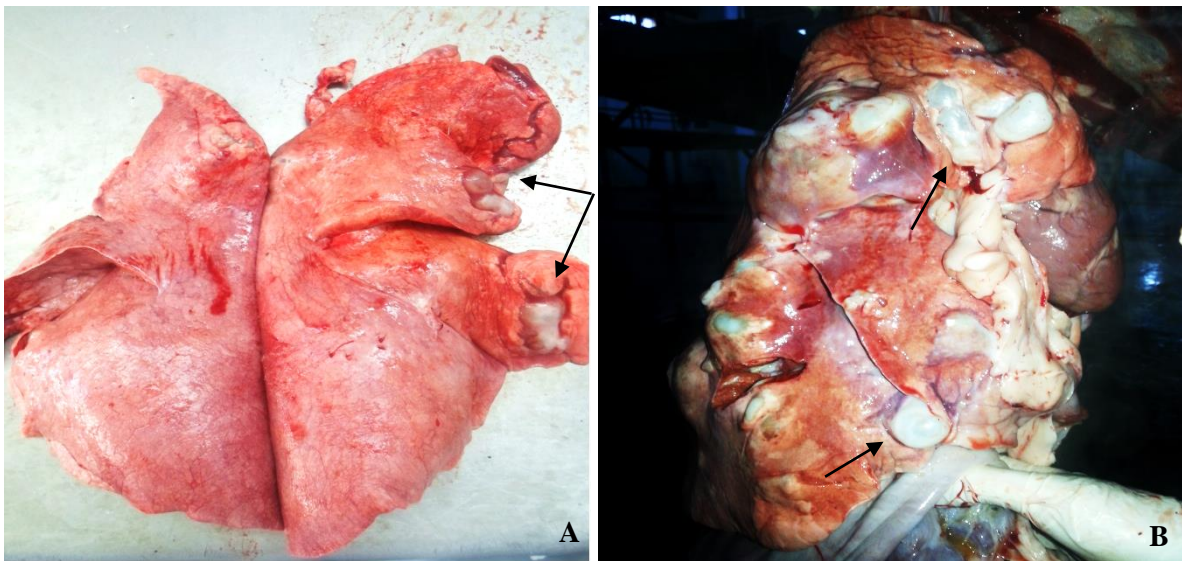
Chapitre II : Résultats

Microscopiquement le kyste hydatique se caractérise par la présence de 03 couches de l'extérieur à l'intérieur :

- *Une couche externe (adventice)* : L'adventice ou péri kyste est le résultat d'une réaction inflammatoire du parenchyme hôte autour de l'hydatide, parcourue par un infiltrat inflammatoire diffus, réduisant à son contact quelques lumières alvéolaires. Par ailleurs, le parenchyme pulmonaire est le siège d'une atélectasie avec un processus inflammatoire diffus réactionnel.

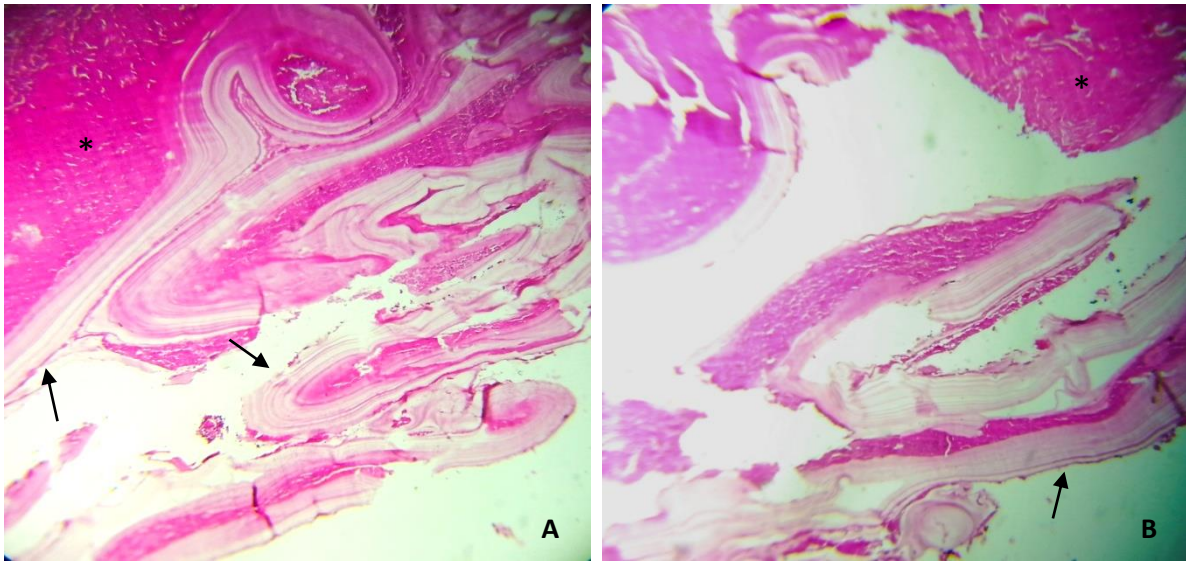
- *Une couche moyenne* : qui est lamellaire, épaissie, homogène réalisant l'aspect d'une cuticule.

- *Une couche interne* : en contact avec la lumière, elle est cellulaire, mince, à partir de laquelle se détachent des vésicules de taille variable (vésicules filles), d'aspect hyalin. Cette membrane donne naissance aux capsules prolifères génératrices de protoscolices. Elle élabore aussi le liquide hydatique. Cet aspect réalise le kyste hydatique du poumon.



Photos 45: (A) Kystes hydatiques de taille variable enchâssés dans le parenchyme pulmonaire (flèche). Le kyste contient du liquide sous pression.

(B) Infestation massive du poumon par des kystes hydatiques avec un aspect bosselé (poumon de brebis). (Originale)



Photos 46: (A, B) Coupes histologiques du kyste hydatique, présence d'une couche germinative (flèches) et d'une adventice constituée de tissu normal de l'hôte (*), H&E (x40). (Originale)

IV.2. Résultats de la technique d'Immunofluorescence directe sur les coupes congelées

Seules les lésions de bronchopneumonie aiguë, de bronchopneumonie fibrineuse et de pneumonie interstitielle ont été traitées par la technique d'immunofluorescence directe pour la détection de l'antigène du BPIV3, car le BPIV3 est l'un des germes respiratoires incriminés dans l'apparition et le développement de ces pneumonies.

107 fragments de poumons lésés ont été traités par le conjugué de la technique d'immunofluorescence directe. L'antigène viral de BPI3 a été détecté dans 12 coupes congelées enregistrant une prévalence de **11,21%**.

12,28% cas positifs ont été observés sur les coupes de la lésion de bronchopneumonie aiguë (7/57), **6,25%** ont été détectés sur les lésions de bronchopneumonie fibrineuse (2/32) et **16,66%** (3/18) d'antigènes décelés sur des coupes de la lésion de pneumonie interstitielle.

D'après la présente étude, la fluorescence spécifique a montré la présence de l'antigène viral établi par la technique DFAT dans les bronchioles et la lumière alvéolaire. La fluorescence était de taille différente parfois sous forme de granules (**Photos 47 et 48**).

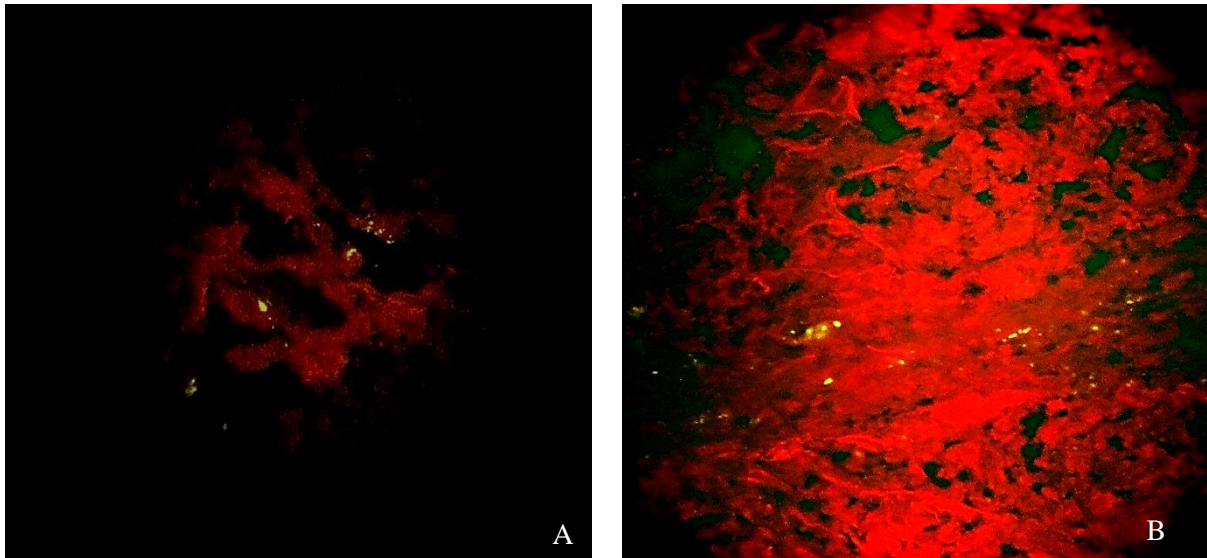
IV.3. Les changements histopathologiques des lames positives à BPIV3

Les lésions dans lesquelles l'antigène viral de BPI3 a été détecté sont caractérisées, histo-pathologiquement, par une hyperplasie de l'épithélium bronchique, un épaissement des septa inter-alvéolaires, une atelectasie, une hyperplasie lymphoïde, des infiltrations péri-bronchiolaires par des cellules inflammatoires et un œdème intra-alvéolaire (**Tableau 14**).

Tableau 14: Changements microscopiques observés sur les lames positives au BPIV3

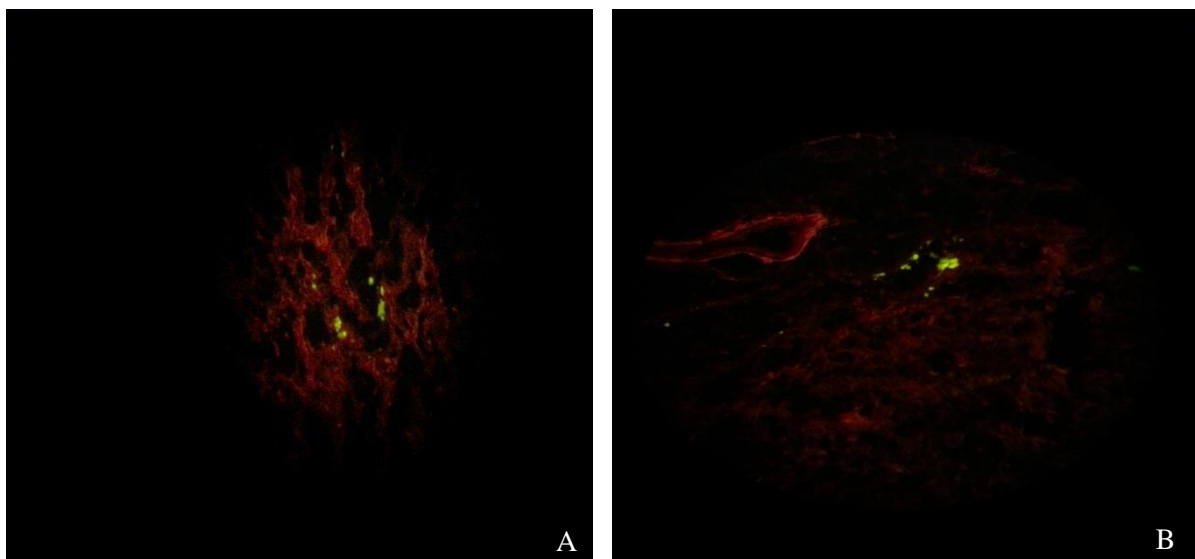
Lésions	Bp aigue	Bp fibrineuse	Pn interstitielle	Total	%
Hyperplasie bronchiolaire	5/7	2/2	0/3	7/12	58,33%
Epaissement des septa inter-alvéolaires	2/7	0/2	1/3	3/12	25%
Atelectasie	7/7	2/2	0/3	9/12	75%
Hyperplasie lymphoïde	3/7	1/2	0/3	4/12	33,33%
Infiltration des cellules inflammatoires	4/7	1/2	1/3	6/12	50%
Oedeme intra-alvéolaire	0/7	0/2	1/3	1/12	8,33%

Pn : pneumonie, Bp : bronchopneumonie



Photos 47: (A) Coloration par immunofluorescence sur coupe de tissu pulmonaire congelé. Présence de la fluorescence dans l'épithélium alvéolaire (x40) indiquant la positivité à la DFAT. (Originale)

(B) Fluorescence granulaire observée dans l'épithélium alvéolaire par DFAT (x100). (Originale)



Photos 48: Coloration par immunofluorescence indiquant la présence de l'antigène de BPIV3 au niveau des alvéoles (A) et des bronchioles (B), (x40). (Originale)

Chapitre III

Discussion

I. Séroprévalence de BPIV3 chez les ovins

Le virus *Parainfluenza* 3 est l'un des virus connus responsables de l'infection respiratoire. S'il n'y a pas de complications, la maladie elle-même n'est pas grave (Blood et Henderson., 1976; Murphy et al., 1999). Dans les conditions de stress, les bovins et les ovins peuvent développer consécutivement une bronchopneumonie bactérienne sévère, ce qu'on appelle la fièvre de transport (MacLachlan et Dubovi, 2011). De plus, les signes cliniques deviennent visibles ou plus sévères lorsque des agents pathogènes viraux supplémentaires ou des infections bactériennes secondaires, telles que *Mannheimia haemolytica*, sont impliqués (Underwood et al., 2015).

Il s'agit de la première étude séro-épidémiologique du virus BPI3 dans des élevages ovins réalisée dans deux régions d'Algérie. Dans la présente étude, les anticorps dirigés contre le virus BPI3 ont été détectés dans les sérums des ovins en utilisant le test d'ELISA indirect.

La séroprévalence du BPIV3 était de 75,93% (82/108). Ce résultat est similaire à celui obtenu par Saad. (2002) en Egypte avec 72,1% des ovins ayant des anticorps contre le BPIV3 et celui obtenu par Al-momani et Abo-Shehada. (2020) au Nord de la Jordanie (76%).

Un tel résultat est inférieur à celui rapporté chez les ovins au Brésil: 82% (Calderon, 2011) et (Aline et al., 2018). Cette prévalence est supérieure à la valeur enregistrée à Grenade 16,7% (Tiwari et al., 2016). Plusieurs études ont rapporté des prévalences de 52,5% au Brésil (Franco et al., 2020), 11,73% au Japon (Giangaspero et al., 2013), 31,3% en Bulgarie (Rusenova et Bochev, 2009), 38,5% au Mali (Maiga et Sarr, 1992) et 47,1% chez les bovins en Colombie (León et al., 2019).

En Turquie, Yesilbag et Gungor. (2009) ont signalé la plus faible prévalence d'anticorps dirigés contre BPIV3 chez les ovins étudiés 8,8%.

Au Soudan, l'antigène du virus PI3 a été détecté dans 9,8% des échantillons de poumons d'ovins par la technique d'ELISA direct (Saeed et al., 2016).

La variation des prévalences de virus BPI3 parmi les ovins de différents pays pourrait être expliquée par plusieurs facteurs tels que les différences dans la région géographique, les méthodes d'élevage et les conditions de gestion, la taille du troupeau, le type de reproduction, l'âge des animaux, la gestion des maladies, les programmes de lutte contre les maladies, type d'échantillons prélevés et méthodes de diagnostic de laboratoire (Orjuela et al., 1991; Mainar-Jaime et al., 2001 ; Hussain et al., 2019).

Chapitre III : Discussion

Les anticorps neutralisants du virus peuvent persister dans le sérum de 3 à 5 mois, tandis que les anticorps dans les sécrétions nasales diminuent à des concentrations faibles ou indétectables en 6 à 8 semaines (Marshall et Frank, 1971).

Il est important de noter que la détection des anticorps ne nécessite pas de maladie récente alors que la détection d'antigène viral nécessite des échantillons en phase aiguë de la maladie.

Il existe de nombreux facteurs de risque qui prédisposent l'animal au développement de maladies respiratoires complexes, notamment les changements de température, le transport des animaux, le changement d'alimentation, la forte densité du cheptel, l'introduction d'animaux dans le troupeau, etc. Il existe également des facteurs de risque associés à l'âge de l'animal et à son statut immunitaire (Figueroa-Chavez et al., 2012).

Dans cette étude, il n'y a pas eu de différences significatives entre la prévalence des anticorps au BPIV3 chez les ovins dans les deux régions étude, malgré les conditions environnementales différentes des deux régions. Cependant au Mexique, une différence significative a été constatée entre les animaux de différentes régions d'étude ($P < 0,05$) (Contreras-Luna et al., 2017).

En ce qui concerne l'âge des animaux, dans cette étude, la prévalence du BPIV3 était plus élevée chez les ovins adultes que dans les autres groupes d'âge (tableau 07). Cet âge est un facteur de risque significatif pour la transmission de virus. La forte prévalence des anticorps anti-BPIV3 chez les adultes peut être attribuée à de multiples infections antérieures dans ce groupe d'âge (Noori et al., 2018).

La séroprévalence du BPIV3 chez les ovins adultes était de 92,68 %. Ce résultat était supérieur à la prévalence signalée au Pérou (50%) (Cabello et Rivera, 2006), au Mexique (81,4%) (Contreras-Luna et al., 2017) ainsi que chez les bovins adultes en Colombie (47,3%) (León et al., 2019).

Par ailleurs, la séroprévalence du BPIV3 chez les ovins de moins d'un an était inférieure au résultat signalé au Mexique, où 84,3% des agneaux étaient positifs au BPIV3 (Contreras-Luna et al., 2017).

Dans cette étude, il y avait une relation entre l'âge et la présence d'anticorps contre le BPIV3. Cette conclusion contraste avec les résultats obtenus au Mexique où il a été démontré que l'âge n'avait aucun effet sur la prévalence des anticorps anti-BPIV3 chez les ovins étudiés

(Contreras-Luna et al., 2017), tandis qu'en Colombie l'âge avait un effet significatif sur la présence des anticorps chez les bovins étudiés (León et al., 2019).

En ce qui concerne le sexe de l'animal, les femelles présentaient un facteur de risque significatif à l'infection par BPIV3 (OR=4,46), ce résultat est en accord avec le résultat obtenu par León et al., (2019). Alors que ce résultat diffère de celui enregistré par Betancur et al., (2017) qui ont trouvé aucune association significative entre le sexe et l'infection par BPIV3. Dans cette étude, la plupart des adultes sont représentés par des femelles et les jeunes animaux par des mâles, c'est pourquoi la séroprévalence du BPIV3 était plus élevée chez les femelles que chez les mâles.

Il y avait des différences significatives de la séroprévalence du BPIV3 selon la taille des troupeaux. Les chances qu'un animal soit infecté étaient plus faibles dans le cheptel de grande taille que dans le cheptel de petite taille (Tableau 07). Cette constatation est en contradiction avec le résultat rapporté au Mexique, où il a été indiqué que la séropositivité du BPIV3 chez les bovins était plus élevée dans les grands troupeaux. Il a été suggéré que dans les grands troupeaux, l'exposition aux autres animaux devrait être la plus importante (Solis-Calderon et al., 2007).

Une association significative a été trouvée entre la séroprévalence du BPIV3 et les facteurs favorisants. Le système respiratoire des animaux est compromis par des facteurs environnementaux tels qu'une alimentation inadéquate, un sevrage précoce, des températures basses ou élevées, peu de repos et du transport provoquent un stress immunosuppresseur. En outre, les particules de poussière peuvent également servir d'irritants et prédisposent les animaux aux maladies respiratoires (Callan et Garry, 2002). Le climat joue un rôle majeur dans la modulation de la virulence de l'agent pathogène. En outre, il réduit les défenses de l'hôte et augmente par conséquent sa sensibilité (Rahal et al., 2014).

Aucun rapport n'a été observé entre la présence des signes d'atteinte respiratoire et la détection des anticorps anti-BPIV3 chez les ovins (Tableau 08). Ce résultat est en accord avec celui obtenu au Brésil (Franco et al., 2020).

II. RT-PCR

86 écouvillons nasaux ont été analysés pour la détection du génome du BPIV3 par la technique RT-PCR. Malgré la présence des signes d'atteinte respiratoire et les anticorps contre le BPIV3 chez les sujets testés, les résultats se sont révélés négatifs.

Notre résultat est en accord avec celui de Gaeta et al., (2017), qui ont mentionné qu'aucun génome viral n'a été détecté dans les prélèvements trachéo-bronchique des bovins présentant des atteintes respiratoires malgré la présence des anticorps contre BPIV3 dans le sérum de ces derniers.

Plusieurs travaux ont détecté le génome viral du BPI3 à partir des prélèvements nasaux, au Mexique où 69,3% des ovins ont été positifs (Contreras-Luna et al., 2017).

En Serbie, le génome viral a été détecté dans 6,7% des échantillons testés par la technique RT-PCR (Veljovic et al., 2016), tandis que AL-abudy et Alrodhan. (2014) ont décelé le génome du BPIV3 chez les bovins par la technique RT-qPCR dans 14 écouvillons nasaux sur 28 testés.

En Turquie, 2/127 écouvillons nasaux ont été positifs à la RT-PCR chez les bovins (Timurkan et al., 2019).

Nos résultats pourraient être expliqués soit: que les signes d'atteinte respiratoire observés sont causés par d'autres germes, soit par l'absence du génome viral au moment des prélèvements. Selon Grubor et al. (2004) et Ackermann. (2014) le PIV3 et le RSV disparaissent des voies respiratoires après 17 et 14 jours respectivement après l'infection, chez les jeunes agneaux infectés expérimentalement. Cela pourrait expliquer pourquoi il n'a pas été possible de trouver le génome viral au moment du prélèvement, en supposant que les animaux ont été en contact avec les virus dès leur plus jeune âge.

La présence d'anticorps contre le virus BPI3 en plus de l'absence de l'antigène viral pourrait être liée à la possibilité que les animaux présentent une infection régressive et aient développé des réponses immunitaires spécifiques (Gaeta et al., 2017).

III. Etude lésionnelle au niveau de l'abattoir

Les ovins sont considérés comme l'espèce dominante dans les élevages de la région de Batna. Ils sont destinés à la production de la viande pour la consommation humaine et de la laine.

L'étude réalisée à l'abattoir nous a permis de détecter des lésions sans manifestation clinique chez l'animal vivant et de déterminer l'étendue et la gravité des lésions.

L'étude post-mortem réalisée au niveau de l'abattoir nous a montré que sur 13164 poumons d'ovins inspectés, 2366 ovins présentaient des lésions seules ou associées, enregistrant une prévalence de 17,97% (Tableau 10).

Chapitre III : Discussion

Le nombre de mâles abattus est 13084 ce qui dépasse largement le nombre de femelles (80 brebis). Cela s'explique par l'interdiction de l'abattage des animaux reproducteurs, des géniteurs et des femelles de moins de cinq ans conformément à la loi vétérinaire **88-08** du **26** janvier **1988**, Chapitre **IV**- Article **83** et le Décret exécutif **91-514** du **22** décembre **1991** relatif aux animaux interdits à l'abattage.

L'âge des mâles abattus ne dépassait pas les 24 mois, alors que les femelles abattues sont des animaux âgés abattus pour cause de réforme.

Au total 2660 lésions ont été détectées sur l'ensemble des poumons inspectés (13164) soit une fréquence de 20,21%.

Notre résultat s'avère supérieur à ceux obtenus en Ethiopie 18,29% (Mekibib et al., 2019), en Iraq 13% (Mahdi et al., 2015) et en Iran 4,2% (Azizi et al., 2013). En Inde, sur 106000 poumons inspectés, seulement 215 poumons présentaient des lésions pulmonaires (0,20%) (Mugale et Balachandran, 2019). Cependant, notre résultat est inférieur à celui rapporté par Hashemnia et al. (2019) en Iran 41% et par Tiwari en Inde 23,40% (Tiwari, 2017).

Cette différence pourrait être liée à plusieurs facteurs déterminants, à savoir la différence dans la région d'étude, la saison d'étude, l'âge des animaux ainsi que le type de microorganismes engendrant la pneumonie. En plus, les systèmes d'élevage, les facteurs de stress, les changements climatiques, les conditions d'hygiène, les changements soudains dans l'alimentation et le faible niveau de santé du troupeau sont des facteurs prédisposant à l'infection par des germes pathogènes qui représentent la cause primaire du développement des lésions pulmonaires et des mortalités des animaux infectés. (Azizi et al., 2013; Mahdi et al., 2015; Mishra et al., 2018)

Les lésions pulmonaires observées au cours de l'inspection post-mortem siègent beaucoup plus préférentiellement dans le poumon droit (67,3%) que dans le poumon gauche (20,14%). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Belkhiri (2010), Dar et al. (2013) et Baghezza et al. (2019).

Dans la présente étude, le lobe apical droit est le plus souvent touché (42.18%) par rapport aux autres lobes (Tableau 11). Cela pourrait être expliqué par le fait que chez les ruminants la bronche du lobe apical droit provient directement de la trachée avant la

bifurcation trachéale (Meeusen et al., 2009) et les bronchioles respiratoires sont faiblement développées (Kirschvink et Reinhold, 2008) et d'autre part, par la faiblesse de l'irrigation des lobes craniaux par rapport aux autres lobes et donc leur déficit en phagocytes (Chatelain, 1985). Cette particularité anatomique implique que le lobe pulmonaire cranial droit soit le premier concerné par la pathologie (Srikumaran, 2007). Les poumons sont les organes les plus exposés aux différentes agressions en raison de leurs particularités anatomiques et histologiques (Caswell et Williams, 2007; Belkhiri et al., 2009; Dar et al., 2013). La surface vaste et le lit vasculaire délicat dans les poumons favorisent leur infection par plusieurs agents pathogènes (Caswell et Williams, 2007).

III.1. Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de l'âge

Au cours de notre enquête, le nombre de jeunes ovins abattus était plus important que celui des adultes car la population maghrébine préfère la consommation la viande des jeunes ovins. Les ovins adultes sont représentés par des femelles qui ne sont abattues qu'à un âge avancé suite à la réforme.

Le nombre des jeunes ovins qui ont présenté des lésions pulmonaires est 2308/13084 soit une prévalence de 17,63%, alors que chez les adultes la prévalence est de 72,5% (58/80). Cette dernière est plus importante car les adultes sont représentés par des femelles qui sont maintenues pour la reproduction, donc elles sont plus exposées à l'infection par les agents pathogènes durant leur vie.

III.2. Prévalence des atteintes pulmonaires en fonction de la saison

Une influence significative de la saison sur la prévalence des ovins présentant des lésions pulmonaires a été révélée.

Le plus grand nombre de poumons atteints a été observé au cours de l'hiver. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Hashemnia et al. (2019).

Le changement climatique prédispose les animaux à l'infection par des microorganismes ce qui engendre l'apparition et le développement des lésions pulmonaires chez ces derniers.

III.3. Classification des lésions pulmonaires

La bronchopneumonie aigüe est la lésion pulmonaire la plus rencontrée au cours de l'inspection post-mortem et elle a été enregistrée à une fréquence de 31,58%.

Notre résultat est supérieur à celui obtenu en Inde 18,11% (Mishra et al., 2018), et proche des ceux obtenus par Singh et al. (2017) et Hashemnia et al. (2019) 33,3% et 32,52%, respectivement. Cependant, cette fréquence est inférieure à celle enregistrée par Dar et al. (2014) et Kumar et al. (2014b) 41% et 44,33%, respectivement.

L'atélectasie a été enregistrée en seconde position à une fréquence de 13,53%. Notre résultat est supérieur à ceux observés par Hashemnia et al (2019), Kumar et al (2014b) et Dar et al (2013) 6,91%, 1,48% et 5,67%, respectivement.

L'atélectasie fait suite à des lésions intra-thoraciques, présence des masses occupant l'espace dans la cavité pleurale, telles que des tumeurs et des abcès, hydrothorax, hémithorax, emphysème. L'atélectasie peut aussi se produire lorsqu'il y a une réduction du diamètre des voies respiratoires causée par un œdème, une inflammation des muqueuses, ou lorsque la lumière des voies aériennes est bloquée par des bouchons de mucus, d'exsudat, produit étranger aspiré, ou des vers pulmonaires (Lopez et Martinson, 2017).

La pleurésie est observée à une fréquence de 10,53%, ce qui est supérieure à celle rapportée par Hashemnia et al. (2019) et Alemayehu et al. (2013) avec une fréquence de 4,06% et 0,2%, respectivement.

La pneumonie vermineuse a été enregistrée à un taux de 7,85%. Cette trouvaille est plus élevée que celle rapportée par Borji et al. (2012), Mishra et al. (2018) et Hashemnia et al. (2019) avec 4,1% et 1,57%, 2,23% respectivement. En Inde un taux de 4,17% a été obtenu par Dar et al. (2013). Cependant, ce taux est très inférieur à celui enregistré par Kayouèche. (2009) dans l'Est Algérien et par Kassahun et Mersha. (2013) en Éthiopie et, où la pneumonie vermineuse a atteint des taux de 44,43% et 57,55% respectivement.

La différence de la fréquence de la pneumonie vermineuse dans notre étude et les études citées ci-dessus pourrait être attribuée aux éléments suivants:

-le statut immunitaire de chaque animal : les macrophages alvéolaires, les neutrophiles, les éosinophiles et les lymphocytes peuvent jouer un rôle important dans la résistance pulmonaire aux protostrongles,

Chapitre III : Discussion

- l'état nutritionnel des animaux, les pratiques de gestion des animaux, le climat, l'humidité et la température relative dans les locaux d'élevage sont également des facteurs qui favorisent le cycle parasitaire ainsi que la croissance et la survie de l'hôte intermédiaire (Berrag et Cabaret, 1996; Addis et al., 2011).

En outre, la fréquence de la pneumonie vermineuse pourrait s'expliquer en partie par la difficulté de surveiller les populations d'escargots ou des limaces qui servent d'hôtes intermédiaires dans les cycles de vie indirects de ces parasites (Hashemnia et al., 2019).

Il y a une différence significative de la fréquence de la pneumonie strongylienne au cours de la saison d'étude ($p < 0.0001$). L'humidité et l'oxygénation sont des facteurs déterminants pour le développement des larves et la température agit comme régulateur. Le développement et la survie des larves seront optimaux en période humide et chaude. C'est pourquoi les périodes à haut-risque en zone tempérée sont le début de l'été et de l'automne (Luc, 2009).

La bronchopneumonie fibrineuse a été observée dans 155 cas, soit une fréquence de 5,83%. Ce résultat est supérieur à celui obtenu par Mishra et al. (2018) avec un taux de 3,94%. Cependant, cette fréquence est inférieure aux résultats obtenus dans des études précédentes en Iraq par Mehdi et al. (2015), en Ethiopie par Mekbib et al. (2019) et en Inde par Dar et al. (2014), Kumar et al. (2014b) et Singh et al. (2017) où la bronchopneumonie fibrineuse a été enregistrée à un taux de 15%, 19%, 11,67%, 09, 85% et 11,1%, respectivement.

Sur 2660 lésions observées, la bronchopneumonie suppurée a été enregistrée à une fréquence de 02,03%. Ce résultat est très inférieur à ceux rapportés par Dar et al. (2014), Mahdi et al. (2015) et Mekibib et al. (2019) où cette lésion a été observée à une fréquence de 12,84%, 20% et 17,9%, respectivement.

Les changements macroscopiques et microscopiques observés dans cette étude étaient généralement similaires à ceux décrits par Dar et al. (2014).

103 cas ont révélé une lésion de pneumonie interstitielle observée seulement chez les jeunes ovins avec un taux de 03,87%. Ce résultat est inférieur à ceux rapportés par Dar et al. (2014), Singh et al. (2017), Mishra et al. (2018) et Hashemnia et al. (2019).

Chapitre III : Discussion

Plusieurs facteurs de stress entraînent la détérioration du système immunitaire ce qui rend l'animal vulnérable et prône au développement de la pneumonie (Martin, 1996; Brogden et al., 1998).

Il existe une différence significative entre les taux de pneumonie interstitielle, bronchopneumonie fibrineuse, bronchopneumonie aiguë, et bronchopneumonie suppurée selon les saisons d'étude; cela peut s'expliquer par le fait que le changement climatique favorise la multiplication et la manifestation des germes respiratoires chez l'animal atteint, ce qui engendre la diminution des défenses de l'appareil respiratoire et conduit à l'apparition et au développement de la pneumonie.

En ce qui concerne l'adénomatose pulmonaire ovine, on a enregistré une fréquence de 03,68%. Un tel résultat est inférieur à ceux détectés dans des études précédentes, à savoir Kumar et al. (2014b), Mekibib et al. (2019) ont enregistré l'OPA à une fréquence de 21,68% en Inde et 06% en Ethiopie, respectivement. Contrairement, Mishra et al. (2018), Hashemnia et al. (2019) et Toma et al. (2020) ont observé l'OPA à des taux inférieurs : 02,36%, 0,6% et 01,26%, respectivement.

L'adénomatose pulmonaire ovine est une néoplasie des poumons ovins, causée par un rétrovirus Jaagsiekte (JSRV). Il est présent chez les ovins du monde entier, à l'exception de l'Australie et de la Nouvelle-Zélande. Son incidence est élevée en Écosse, en Afrique du Sud et au Pérou et faible en Amérique du Nord (Lopez et Martinson, 2017).

Au cours de l'examen post-mortem l'abcès pulmonaire est observé à un taux de 06,88%. Plusieurs études ont décrit cette lésion à des fréquences différentes. En Algérie Kayoueche. (2009) a enregistré une fréquence de 05,96%, alors qu'en Inde la lésion d'abcès est observée à un taux de 08,05 % (Dar et al., 2013) et en Iran 08,13% (Hashemnia et al., 2019).

L'emphysème pulmonaire représentait 05,34% des lésions. Ce résultat est inférieur à ceux rapportés par Mellau. (2010), Alemayehu. (2013) et Hashemnia et al. (2019) 17,9%, 21,7% et 10,36%, respectivement. Alors qu'il est similaire à celui rapporté par Dar et al. (2013) 05,67%. Chez les animaux, l'emphysème pulmonaire est une lésion secondaire aux troubles respiratoires comme la pneumonie pasteurellique, infection par les mycoplasmes, leptospirose et kyste hydatique ainsi qu'aux différentes causes de septicémie et d'endocardite (Herenda et al., 1994 ; Radostits et al., 2007).

Chapitre III : Discussion

Le kyste hydatique a été enregistré à un taux de 02,26%. Notre résultat est en accord avec celui obtenu en Arabie Saoudie 02,33% (Abdel-Baki et al., 2018) et supérieur à celui de Almalki et al. (2017) (01,06%). Cependant, ce taux est inférieur à ceux obtenus dans des études précédentes. Hamrat et al. (2011) ont enregistré un taux de 05,95% chez les ovins abattus dans la région de Djelfa au cours de la période 2007-2010. Abo-Aziza et al. (2019) ont indiqué que 09,8% des ovins abattus ont des kystes hydatiques pulmonaires en Egypte. 06,3% des kystes hydatiques ont été observés lors de l'inspection post-mortem des poumons d'ovins au Maroc (Brik et al., 2018), 07,7% en Ethiopie (Getachew et al., 2012), 38,6% en Lybie (Elmajdoub et Rahman, 2015) et 09,47% en Iran (Parsaei et al., 2012).

Les variations des facteurs environnementaux, qui sont propices à la maintenance du parasite, comme l'abondance des hôtes définitifs infectés, nature des pâturages, le mode d'élevage pourraient être une des raisons possibles de la variation du taux d'infestation chez les animaux abattus dans les différentes régions d'étude (Ernest et al., 2009). De plus, ces variations peuvent être liées aux différentes souches d'*Echinococcus granulosus* (McManus, 2006).

Dans notre étude la différence de la fréquence du kyste hydatique n'était pas significative au cours des saisons d'étude. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Elmajdoub et Rahman. (2015), Almalki et al. (2017), Brik et al. (2018) et Abdel-Baki et al. (2018). Cela pourrait être lié au fait que les parcours seraient souillés par les fèces des chiens infestés ; ce qui expose les ruminants au risque de contamination par les œufs d'échinococcus durant toute l'année.

Ibrahim. (2010) et Parsaei et al. (2012) ont trouvé une différence significative entre les saisons d'étude et la présence de kyste hydatique. Ces variations pourraient être liées aux variations des facteurs climatiques et la nature des pâturages (Elmajdoub et Rahman, 2015).

La fréquence du kyste hydatique est plus élevée chez les adultes que chez les jeunes. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Brik et al. (2018) et en contradiction avec le résultat obtenu par Almalki et al. (2017) qui ont trouvé que les jeunes ovins sont plus infestés par l'hydatidose que les adultes.

Le faible taux du kyste hydatique chez les jeunes ovins par rapport aux adultes est due à la lenteur de développement des kystes hydatiques, car il leur faut 4 à 13 mois pour atteindre une taille de quelques millimètres (Brik et al., 2018). La population maghrébine préfèrent la

viande des jeunes ovins dont l'âge est inférieur à 1 an (le temps est insuffisant pour le développement et apparition du kyste hydatique), alors que les adultes sont dans la plupart du temps représentés par des femelles qui sont gardées pour la reproduction et abattues à l'âge de réforme, ce qui augmente la chance de l'infestation et du développement du kyste hydatique chez ces dernières.

De plus, pendant les périodes de gestation, l'immunité des femelles devient faible, ce qui favorise le risque d'infestation (Brik et al., 2018).

L'infestation par le kyste hydatique est proportionnelle à l'âge des animaux d'où l'importance des animaux âgés dans l'entretien du cycle parasitaire (Euzeby, 1971 ; Soule, 1994).

IV. Immunofluorescence directe sur coupes congelées

Notre étude a décrit pour la première fois la détection de l'antigène du virus BPI3 par la technique d'immunofluorescence directe sur des coupes congelées des pneumonies d'ovins abattus au niveau de l'abattoir communal de la wilaya de Batna.

Dans la présente étude, les antigènes viraux de BPI3 ont été détectés dans 12 poumons sur 107 poumons lésés, soit **11,21%**.

Ce résultat est en accord avec celui rapporté sur les cas de pneumonie bovine en Turquie (10,53%) (Ceribasi et al., 2014). Saeed et al., (2016) avaient détecté les antigènes de BPI3 seulement dans 9,8% poumons d'ovins par la technique d'immunofluorescence directe.

Cependant, notre résultat est inférieur à celui observé dans des cas de pneumonies de caprins en Turquie et de bovins au Soudan, respectivement 44,40% et 25 % (Ceribasi et al., 2012 ; Noori et al., 2014).

Les foyers de fluorescence ont été le plus souvent observés aux alentours des alvéoles et dans l'épithélium des bronchioles, ce qui indique que les changements histopathologiques initiaux se produisent en ces sites chez des agneaux infectés expérimentalement par le virus PI3 (Stevenson et Hore, 1970).

Dans des études antérieures, la technique DFAT a été utilisée avec succès comme méthode de diagnostic rapide pour la détection des antigènes du virus PI3 (Gafer et al., 2009; Ceribasi et al., 2012, Ceribasi et al., 2014; Anita et al., 2015).

Chapitre III : Discussion

Nos résultats concordent avec ceux observés par Ceribasi et al. (2014) qui ont montré qu'une coloration DFAT spécifique pour l'antigène viral était détectée de manière intensive dans l'épithélium bronchiolaire et moins fréquemment dans l'épithélium alvéolaire, avec des foyers allant de petites à de grandes masses granulaires homogènes sur des poumons atteints chez des bovins (Ceribasi et al., 2014).

Dans la présente recherche, les changements histopathologiques observés sur les coupes de lésions pneumoniques positives à DFAT sont similaires à ceux décrits dans des études précédentes sur des lésions de pneumonies de caprins (Ceribasi et al., 2012; Anita et al., 2015; Kamdi et al., 2020).

La pathogénie du virus PI3 chez les ovins est proche de celle des bovins (Dungworth, 1993). Le virus BPI3 affecte l'activité des macrophages alvéolaires et élimine les cils sur la muqueuse bronchique. Cela inhibe la fonction de clairance normale de l'animal qui est responsable de l'élimination des organismes pathogènes des voies respiratoires et les rend vulnérables à une infection bactérienne secondaire (Yener et al., 2005).

La technique des anticorps fluorescents (FAT) est une technique avantageuse pour obtenir des résultats rapides, car la préparation et l'examen des échantillons se font en peu de temps (Edwards et al., 1988; Forghani, 2010). Néanmoins, DFAT est une technique inadéquate pour reconnaître les détails morphologiques appropriés dans les tissus atteints (Kahrs, 1981; Stevenson, 1969). Même si la préparation des tissus fixés au formol nécessite plus de temps, des résultats microscopiques rétrospectifs ont montré que les coupes fixées au formol sont supérieures aux coupes congelées en termes d'identification précise des cellules et des tissus. Cependant, les épitopes immunogènes et de nombreux antisérums utilisés pour le diagnostic immunohistochimique ne sont pas réactifs dans les échantillons fixés en raison de l'effet nuisible de la fixation (Haines et Chelack, 1991).

Conclusion et recommandations

Conclusion et recommandations

A l'instar des bovins, le tractus respiratoire des ovins est très sensible aux infections virales telles que le *Parainfluenza* type 3. Ce virus est un initiateur d'autres infections respiratoires, en particulier de l'invasion bactérienne, et devient donc un agent pathogène d'une importance économique considérable.

Cette première étude séro-épidémiologique du BPIV3 a permis de confirmer sa présence dans les élevages ovins dans deux régions d'Algérie, et d'identifier les facteurs de risque qui lui sont associés (âge, sexe, changement climatique, stress, déficit alimentaire.....). De plus, la détection des antigènes de BPIV3 sur des coupes de lésions pneumoniques par DFAT a permis de confirmer que le virus *Parainfluenza* 3 est l'un des agents initiateurs de certaines lésions pulmonaires à répercussions cliniques directes sur la santé animale.

La DFAT pourrait être utilisée comme un outil de diagnostic définitif lorsque des modifications histopathologiques provoquées par le BPIV3 sont difficiles à différencier de celles induites par d'autres virus respiratoires ovins.

L'identification des facteurs de risque associés à l'infection par le BPIV3 est un maillon indispensable pour établir des programmes de prévention et de contrôle des maladies respiratoires chez les ovins qui ne peut se réduire à la prescription du duo antibiotiques-vaccins.

Toutefois, pour mieux explorer le rôle du BPIV3 dans la pathologie respiratoire ovine, des études plus détaillées doivent être menées sur ce virus. Il est même recommandé de mener des études sur d'autres virus provoquant des maladies respiratoires chez les ovins (virus respiratoire syncytial, Herpes virus, Adénovirus etc.....).

Annexes

Annexe 1

Fiche identification/élevage

I-IDENTIFICATION DE L'ELEVEUR

Wilaya:	commune :	adresse:	
Nom de l'éleveur:			
Activité principale:	Autre activité:		
Niveau d'instruction du propriétaire:			
Formation agricole :	oui	non	si oui précisez :
Nombre de personnel permanent :			

II-IDENTIFICATION DE L'EXPLOITATION

1-TYPE DE BATIMENTS D'ELEVAGE

*Type de bâtiment d'élevage :

*Nombre de bâtiment d'élevage:

*Etat général du bâtiment

*Litière :

*Type de ventilation :

* existe-il des élevages proches de cet élevage ?

*Présence du pâturage :

*Superficie agricole utile * superficie occupée par le fourrage.....

*Les animaux utilisent-ils le même pâturage avec d'autres animaux ?

2-HYGIENE

*Etat de la litière :

*Changement de la litière (fréquence) :

*La poussière dans le bâtiment :

*Fréquence de nettoyage du bâtiment:

*Utilisation de désinfectant :

*Qualité d'aération au sein de l'élevage

3-ACTIVITE DE L'ELEVAGE

* Mode d'élevage :

* Type d'élevage :

II-IDENTIFICATION DES ANIMAUX

*Acquisition des animaux :

*Promiscuité avec d'autres animaux

*Nombre d'animaux

*Nombre d'ovins :

*Nombre de caprins :

*Nombre de bovins :

*Introduction de nouveaux animaux :

*Les animaux ont-ils subi un transport ? :

*Les animaux de différentes espèces sont : dans le même bâtiment dans des bâtiments différents

*L'agnelage est il réalisé dans un boxe de parturition :

*Mode d'alimentation:

*Pâturage : la période de l'année :

*Composition de l'alimentation :

*Lieu de Stockage des aliments: dans le bâtiment d'élevage hors du bâtiment d'élevage

*Fréquence de distribution/ jour :

Fiche identification/ animal

Wilaya :	Commune :
Nom de l'éleveur :	
La date :	

-Prélèvements

Numéro d'identification du cheptel :

Numéro d'identification du prélèvement de l'animal :

Espèce :

Race:

Âge:

Sexe:

-Prélèvement Sanguin

-Ecouvillon nasal

-Les symptômes liés à l'atteinte respiratoire observés

Toux	Jetage nasal	larmolement	tachypnée	Anorexie	Faiblesse	Dyspnée	Amaigrissement	Fièvre température

-Autres symptômes

Questionnaire

1/ Quelles sont les maladies observées lors des atteintes respiratoires chez les ovins ?

Digestive respiratoire mammaire locomoteur reproduction

--

2/Les atteintes respiratoires sont fréquemment observées en :

hiver printemps été automne

3/La catégorie d'âge la plus touchée : nouveau-né jeune adulte

4/le suivi sanitaire du cheptel : concernant, maladies traitées, vaccination effectuée et déparasitage.

--

5/Tenez-vous un registre d'élevage (agnelages, performances zootechniques, mortalités, réformes) ?

Oui

Non

6/Suivi régulier par le vétérinaire : Appel dès l'apparition des maladies

Appel seulement dans les cas compliqués

7/ Selon vous, est ce que les atteintes respiratoires peuvent provoquer la mort de l'animal ?

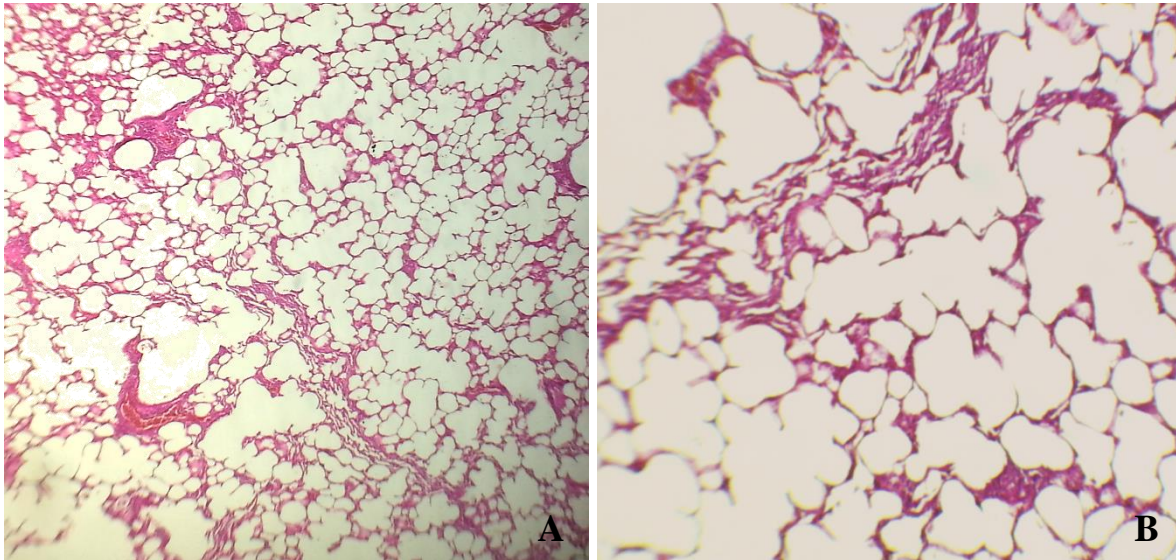
Oui

Non

8/Selon vous, quels sont les facteurs qui favorisent l'apparition des atteintes respiratoires ?

.....

Annexe 2



Coupes histologique d'un poumon sain H&E (A: x40, B: x100). (Originale)

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **Abdelguerfi, A., Ramdane, S .A. (2003).** Evaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. *Bilans des expertises sur la biodiversité importante pour l'agriculture en Algérie*, MAT-GEF/PNUD, projet ALG/97/G31, pp.231.
2. **Abdel-Baki, A. A. S., Almalki, E., & Al-Quarishy, S. (2018).** Prevalence and characterization of hydatidosis in Najdi sheep slaughtered in Riyadh city, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(7), 1375-1379.
3. **Abo-Aziza, F. A., Oda, S. S., Aboelsoued, D., Farag, T. K., & Almuzaini, A. M. (2019).** Variabilities of hydatidosis in domestic animals slaughtered at Cairo and Giza abattoirs, Egypt. *Veterinary World*, 12(7), 998 -1007.
4. **Ackermann, M.R. (2014).** Lab model of respiratory syncytial virus-associated lung disease: insights to pathogenesis and novel treatments. *Institute for Laboratory Animal Research (ILAR Journal)*, 55(1), 4-15.
5. **Adair, B. M., McFerran, J. B., McKillop, E. R., & McCullough, S. J. (1984).** Survey for antibodies to respiratory viruses in two groups of sheep in northern Ireland. *Veterinary Record*, 115, 403-406.
6. **Adair, B.M. (1986).** Immunofluorescence in the serological diagnosis of parainfluenza type 3 and respiratory syncytial virus infection in calves. *Research Veterinary Science*, 41, 414-416.
7. **Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J., Kropinski, A.M., Krupovic, M., Kuhn, J.H., Mushegian, A.R., Nibert, M., Sabanadzovic, S., Sanfaçon, H., Siddell, S. G., Simmonds, P., Varsani, A., Zerbini, F. M., Gorbalenya, A. E., & Davison, A. J. (2016).** Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2016). *Archives of Virology*, 161(10), 2921-2949.

- 8.Addis, M., Fromas, A., & Ebuy, Y. (2011).** Study of the prevalence of lungworm infection in small ruminants in Gondar Town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Animal Advance*, 10(13), 1683-1687.
- 9.Adriana, A., Dragos, A., Cristian, R., & Gheorghe, S. (2015).** Detection of parainfluenza type 3 virus antigen in goats. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, 72, 27-29.
- 10.Akloul, K. (2011).** *Etude épidémiologique des maladies respiratoires bactériennes du mouton*. [Thèse de Magister, Université Saad Dahlab, Blida].
- 11.AL-abudy, L. S., & Alrodhan, M. A. N. (2014).** Seroprevalence and molecular detection of Bovine Parainfluenza-3 Virus (BPI-3V). *AL-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*, 13(2), 27-32.
- 12.Alemayehu, R., Nebyou, M., Bekele, M., Desta, B., Dessie, S., Etan, D., Fufa, A., & Eystein, S. (2013)** Major causes of organs and carcass condemnation in small ruminants slaughtered at Luna Export Abattoir, Oromia Regional State, Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 110, 139- 148.
- 13.Aline, F., Fernanda, J., & Juliana, C. (2018).** Discovery of serum antibodies to parainfluenza type 3 infection, respiratory syncytial infection, bovine viral loose bowels infection, and herpes infection type 1 in sheep in the Region of Botucatu, São Paulo–Brazil. *Advances in Animal Science, Theriogenology, Genetics and Breeding*, 6(4), 31-35.
- 14.Alkan, F., Ozkul, A., Bilge-Dagalp, S., Yesilbag, K., Oguzoglu, T.C., Akca, Y., & Burgu, I. (2000).** Virological and serological studies on the role of PI- 3 virus, BRSV, BVDV and BHV-1 on respiratory infections of cattle. I. The detection of etiological agents by direct immunofluorescence technique. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* , 107, 193–195.
- 15.Alley, M.R. (1975).** The bacterial flora of the respiratory tract of normal pneumonic sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 2(6), 113-118.

16. Almalki, E., Al-Quarishy, S., & Abdel-Baki, A. A. S. (2017). Assessment of prevalence of hydatidosis in slaughtered Sawakny sheep in Riyadh city, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(7), 1534-1537.

17. Al-Momani, W., & Abo-Shehadab, M. N. (2020). Flock level seroprevalence of and risk factors for parainfluenza type 3 virus in small ruminants in northern Jordan. *Current Research in Microbiology and Infection (CRMI)*, 1(1), 22-29.

18. Anita, A., Anita, D., Raileanu, C., & Savuta, G. (2015). Detection of Parainfluenza Type 3 Virus Antigens in Goats. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 72(1), 27-29.

19. Arcangioli, M. A., & becker, C. (2014). Pneumonie et bronchopneumonie. In: D. Francoz & Y. Couture (Eds.) *Manuel de Médecine des bovins* (pp.181-228). Med'Com: Paris.

20. Ataseven, V.S., Basaran, Z., Yilmaz, V., & Dagalp, S.B. (2010). Seroprevalence of parainfluenza virus-3 (PI-3V) and bovine herpes virus (BHV-1) infections in goats of Van province (Turkey). *Yuzuncuylil Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 21,7-9.

21. Azizi, S., Korani, F. S., & Oryan, A. (2013). Pneumonia in slaughtered sheep in South-Western Iran: pathological characteristics and aerobic bacterial aetiology. *Veterinaria Italiana*, 49(1), 109-118.

22. Baghezza, S., Mamache, B., Belkhiri, M., Bennoune, O., & Djabaa, S. (2019). Anatomico-pathological study of lung lesions in slaughtered sheep at Batna municipal Slaughterhouse (Eastern Algeria). *Comparative Clinical Pathology*. 29(1), 247-254.
DOI: 10.1007/s00580-019-03050-6.

23. Ballash, A., & Kudron, E. (1993). Observations on the PI-3 virus infection of calves kept in pens and later in sheds. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 48(5), 281-285.

24. Banerjee, A.K., & Barik, S. (1992). Gene expression of vesicular stomatitis virus genome RNA. *Virology*, 188(2), 417-428.

- 25. Battrell, M. A. (1995).** *Cultivation, preliminary characterization, and prevalence in swine herds of porcine paramyxovirus. Veterinary Clinical Sciences* [Mémoire de Master, Ames, Iowa State University].
- 26. Baz, T. (1971).** *Isolation of PI-3 from sheep in Egypt* [Doctorate Thesis, Cairo University].
- 27. Belkhiri, M., Tlidjane, M., Benhathat, Y. & Meziane, T. (2009).** Histopathological study and pulmonary classification of bovine lesions. *African Journal of Agricultural Research*, 4(7), 584-591.
- 28. Belkhiri, M. (2010).** *Frequence des lésions pulmonaires chez les ruminants dans la région de Tiaret* [Thèse de Doctorat, Université Hadj Lakhdar - Batna 1]
- 29. Belknap, E. B., Ciszewski, D. K., & Baker, J. C. (1995).** Experimental respiratory syncytial virus infection in calves and lambs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7(2), 285-298.
- 30. Ben-Ishai, Z., Naftali, V., Avram, A., & Yatziv, S. (1980).** Human infection by a bovine strain of parainfluenza virus type 3. *Journal of Medical Virology*, 6, 165-168.
- 31. Berrag, B., & Cabaret, J. (1996).** Impaired pulmonary gas exchange in ewes naturally infected by small lungworms. *International Journal for Parasitology*, 26(12), 1397-1400.
- 32. Betancur, C., Castañeda, J., & González, M. (2017).** Immunopathology of the bovine respiratory complex in neonatal calves in Monteria-Colombia. *Revista Científica*, 27, 95-102.
- 33. Blood, D.C., & Henderson, J.A. (1976).** Viral pneumonia in calves. In: *Veterinary Medicine*. (4th ed.) (p 518), Williams and Wilkins Company, Baltimore: USA.
- 34. Blumberg, B.M., Rose, K., Simona, M.G., Roux, L., Giorgi, C., & Kolakofsky, D. (1984).** Analysis of the Sendai virus M gene and protein. *Journal of Virology*, 52(2), 656-663.

- 35.Bois, J. M & Elazhary, Y. (1988).** Infection de l'appareil respiratoire par le virus parainfluenza type3. In: M. Fassi-Fehri (ed.). *Les maladies infectieuses du mouton « les maladies virales »* (pp. 72-82). Actes Editions Rabat.
- 36.Borji, H., Azizzadeh, M., Ebrahimi, M., & Asadpour, M. (2012).** Study on small ruminant lungworms and associated risk factors in northeastern Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(11), 853-856.
- 37.Bossert, B., Marozin, S., & Conzelmann, K. K. (2003).** Nonstructural proteins NS1 and NS2 of bovine respiratory syncytial virus block activation of interferon regulatory factor 3. *Journal of Virology*, 77(16), 8661-8668.
- 38.Brako, E.E., Fulton, R.W., Nicholson, S.S., & Amborski, G.F. (1984).** Prevalence of bovine herpes virus-1, BVD, PI-3, goat respiratory syncytial, bovine leukemia, and blue tongue viral antibodies in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 45, 813–816.
- 39.Brik, K., Hassouni, T., Youssir, S., Baroud, S., Elkharrim, K., & Belghyti, D. (2018).** Epidemiological study of Echinococcus granulosus in sheep in the Gharb plain (North-West of Morocco). *Journal of Parasitology Diseases*. DOI:10.1007/s12639-018-1026-7.
- 40.Brodersen, B.W., & Kelling, C.L, (1998).** Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 59, 1423-1430.
- 41.Brogden, K. A., Lehmkhul, H. D., & Cutlip, R. C. (1998).** Pasteurella haemolytica complicated respiratory infections of sheep and goats, *Veterinary Research*, 29, 233-254.
- 42.Brugère-Picoux, J. (2016).** Maladies des Moutons. (3^{ème} ed.) (pp.1-2). France Agricole: France.
- 43.Bryson, D. G., McNulty, M. S., Ball, H. J., Neill, S. D., Connor, T. J., & Cush, P. F. (1979).** The experimental production of pneumonia in calves by intranasal inoculation of parainfluenza type III virus. *The Veterinary Record*, 105(25-26), 566-573.

- 44. Bryson, D. G., McNulty, M. S., McCracken, R. M., & Cush, P. F. (1983).** Ultrastructural features of experimental parainfluenza type 3 virus pneumonia in calves. *Journal of Comparative Pathology*, 93(3), 397-414.
- 45. Bryson, D.G., Evermann, J.F., Liggitt, H.D., Foreyt, W.J., & Breeze, R.G. (1988a).** Studies on the pathogenesis and interspecies transmission of respiratory syncytial virus isolated from sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 49, 1424–1430.
- 46. Bryson, D. G., Cush, P. F., McNulty, M. S., Platten, M., & Allan, G. M. (1988b).** An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lung. *American Journal of Veterinary Research*, 49(7), 1121-1126.
- 47. Burroughs, A.I., & Suleiman, P.P. (1963).** Forty-one isolates of parainfluenza-3 virus from dairy and beef cattle compared. *Cornell Veterinarian*, 53, 262–269.
- 48. Cabello, K., & Rivera, H. (2006).** Frecuencia de los virus parainfluenza-3, respiratorio sincitial y diarrea viral bovina en un rebaño mixto de una comunidad campesina de Cusco. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 17(2), 167-172.
- 49. Caignard, G., Vidalain, P. O., & Tangy, F. (2012).** Résistance des Paramyxoviridae aux interférons de type I: mécanismes d'échappement et interactions virus-hôte. *Virologie*, 16(5), 286-298. DOI : 10.1684/vir.2012.0460.
- 50. Calderon, G.A.A. (2011).** Detection of serum antibodies to parainfluenza type 3 virus, respiratory syncytial virus, bovine viral diarrhea virus, and herpes virus type 1 in sheep in the Region of Botucatu, São Paulo—Brazil. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 3, 1-5.
- 51. Callan, R.J., & Garry, F.B. (2002).** Biosecurity and bovine respiratory disease. *Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice* 18, 57-77.

52.Campbell, R. S. F., Thompson, H., Leighton, E., & Penny, W. (1969). Pathogenesis of bovine parainfluenza 3 virus infection in organ cultures. *Journal of Comparative Pathology*, 79(3), 347-354.

53.Cano, T., Hervás, J., & Padró, J. M. (1995). Estudio epizootológico y clínico de los procesos respiratorios en corderos criados en la provincia de Jaén. In *XX Scientific Congress of SEOC (Spanish society of ovine and caprine)* (pp. 277-282).

54.Carriere, P.D., Maxie, M.G., Wilkie, B.N., Savan, M., Valli, V.E.O., & Johnson, J.A, (1983). Exposure of Calvesto Aerosols of Parainfluenza-3 Virus and *Pasteurella haemolytica*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47, 422-432.

55.Caswell, J.L., & Williams, K. (2007). The respiratory system. In: K.V.F. Jubb., P.C. Kennedy., N. Palmer., M.G. Maxie (Eds.), *Pathology of Domestic Animals* (pp. 524-650). Saunders Elsevier: Edinburgh, UK.

56.Caswell, J.L. (2014). Failure of respiratory defenses in the pathogenesis of bacterial pneumonia of 394 cattle. *Veterinary Pathology*, 51(2), 393-409.

57.Caswell, J.L., & Williams, K.J. (2016). Respiratory System, In: Jubb, Kennedy and Palmer's, *Pathology of Domestic Animals*. Sixth Edition (pp. 465-591). Elsevier Inc. DOI:10.1016/B978-0-7020-5318-4.00011-5.

58.Cathomen, T., Naim, H.Y., & Cattaneo, R. (1998). Measles viruses with altered envelope protein cytoplasmic tails gain cell fusion competence. *Journal of Virology*, 72(2), 1224-1234.

59.Ceribasi, S., Ozkaraca, M., Ozer, H., & Çeribasi, A.O. (2012). Prevalence of parainfluenza type 3- virus antigens in pneumonic caprine lungs by direct immunofluorescence and immunoperoxidase techniques. *Small Ruminant Research*, 108,127-32.

60.Ceribasi, A.O., Ozkaraca, M., Ceribasi, S., & Ozer, H. (2014). Histopathologic, immunoperoxidase and immunofluorescent examinations on natural cattle pneumonia

originated from *Parainfluenza* type 3, *Respiratory Syncytial virus*, *Adenovirus* type 3 and *Herpesvirus* type 1. *Revue de la Médecine Vétérinaire*, 165, 201-12.

61.Chakraborty, S., Kumar, N., Dhama, K., Verma, A. K., Tiwari, R., Kumar, A., Kapoor.S., & Singh, S. V. (2014). Foot-and-mouth disease, an economically important disease of animals. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2(2), 1-18.

62.Chatelain. E. (1985). Anatomie de l'appareil respiratoire des ovins. *Revue de la Médecine Vétérinaire*, 161(12), 995-1007.

63.Chellig, R. (1992). *Les Races Ovines Algérienne*. Office des Publications Universitaires. Alger, Algérie.

64.Cole, N. A., Camp, T. H., Rowe Jr, L. D., Stevens, D. G., & Hutcheson, D. P. (1988). Effect of transport on feeder calves. *American Journal of Veterinary Research*, 49(2), 178-183.

65.Conceicao, M.M., Tonso, A., Freitas, C.B., & Pereira, C.A. (2007). Viral antigen production in cell cultures on microcarriers bovine parainfluenza 3 virus and MDBK cells. *Vaccine*, 25(45), 7785-7795.

66.Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H., Grünberg, W., & Radostits, O.M. (2017). Diseases of the Respiratory System, in: *Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats* (pp. 845-1090). Saint-Louis.
DOI:10.1016/B978-0-7020-5246-0.00012-7.

67.Contreras-Luna, M.J., Ramirez-Martinez, L.A., Sarmiento Silva, R.E., Cruz Lazo, C., Pérez Torres, A., & Sánchez-Betancourt, J. I. (2017). Evidence of respiratory syncytial virus and parainfluenza-3 virus in Mexican sheep. *Virus Disease*, 28, 102–110.

68.Craighead, J.E., & Brennan, B.J. (1968). Cytopathic effects of parainfluenza virus type 3 in organ cultures of human respiratory tract tissue. *American Journal of Pathology*, 52, 287-300.

69.Cusack,P.M., Menian, N., & Lean, I.J. (2003).The medicine and epidemiology of the disease in feedlots. *Australian Veterinary Journal*, 81, 480-487.

70.Cutlip, R. C., Lehmkuhl, H. D., Brogden, K. A., & Hsu, N. J. (1996). Lesions in lambs experimentally infected with ovine adenovirus serotype 6 and *Pasteurella haemolytica*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8(3), 296-303.

71.Czuprynski, C. J., Leite, F., Sylte, M., Kuckleburg, C., Schultz, R., Inzana, T., Kelly, E.B., & Corbeil, L. (2004). Complexities of the pathogenesis of *Mannheimia haemolytica* and *Haemophilus somnus* infections: challenges and potential opportunities for prevention?. *Animal Health Research Reviews*, 5(2), 277-282.

72.Dar, L. M., Darzi, M. M., Mir, M. S., Kamil, S. A., Rashid, A., & Abdullah, S. (2013). Prevalence of lung affections in sheep in northern temperate regions of India: A postmortem study, *Small Ruminant Research*, 110(1), 57-61.

73.Dar, L.M., Darzi, M.M., Mir, M.S., Kamil, S.A., Rashid, A., Abdullah, S., Hussain, S.A., Rather, F.A., & Parihar, S. (2014). Histopathological and histoenzymatic studies on bronchopneumonia in sheep, *Journal of Applied Animal Research*, 42(3), 289-296, DOI: 10.1080/09712119.2013.845101.

74.Davies, D. H., McCarthy, A. R., & Penwarden, R. A. (1980). The effect of vaccination of lambs with live parainfluenza virus type 3 on pneumonia produced by parainfluenza virus type 3 and *Pasteurella haemolytica*. *New Zealand Veterinary Journal*, 28(10), 201-202.

75.Davies, D.H., Herceg, M., Jones, B.A.H., & Thurley, D.C. (1981). The pathogenesis of sequential infection with parainfluenza virus type 3 and *Pasteurella haemolytica* in sheep. *Veterinary Microbiology*, 6, 173–182.

76.Dawson, P. S., Darbyshire, J. H., & Lamont, P. H. (1965). The inoculation of calves with parainfluenza 3 virus. *Research in Veterinary Science*, 6(1), 108-115.

77.Dinter, Z., Hermodsson, S., & Bakos, K. (1960). Studies on variants of a bovine strain of parainfluenza 3 virus. I. Isolation and growth characteristics. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, 49, 485-492.

78.Ditchfield, J. (1966). Isolation of Parainfluenza type 3 from Canadian sheep. *Veterinary Record*, 79, 773.

79.Djaout A., Afri-Bouzebda, F., Chekal, F., El-Bouyahiaoui, R., Rabhi, A., Boubekeur, A., Benidir, M., Ameer Ameer, A., & Gaouar, S.B.S. (2017). Etat de la biodiversité des «races» ovines algériennes. *Genetic and Biodiversity Journal*, (1), 11-26.

80.Dochow,M., Krumm,S.A., Crowe,J.E.Jr., Moore, M.L., & Plemper, R. K. (2012). Independent structural domains in the *paramyxovirus* polymeraseprotein. *Journal of Biological Chemistry*, 28, 6878-6891. DOI:10.1074/jbc.M111.325258.

81.DSA de Batna. (2019). Direction des services agricoles de la wilaya de Batna – services statistiques.

82.DSA de Boumerdes. (2020). Direction des services agricoles de la wilaya de Boumerdes - services statistiques.

83.Dungworth, D.L. (1993). Respiratory system. In: K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, N. Palmer, (eds.), *Pathology of domestic animals* (pp. 539-699). Academic Press, Inc: San Diego, CA.

84.Easton, A. J., Domachowske,J. B., & Rosenberg, H. F. (2004). Animal pneumoviruses: molecular genetics and pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(2), 390-412.

85.Edwards, S., White, H., Newman, R.H., & Nixon, P. (1988). A veterinary services scheme for the rapid diagnosis of viral infections in ruminants, using immunofluorescence. *State Veterinary Journal*, 42, 41-47.

86.Eisa, M., Karrar, A.E., & Abdel Rahim, A.H. (1979). The occurrence of antibodies to parainfluenza3 virus in sera of some domestic animals of the Sudan. *British Veterinary Journal*, 135(2), 192-197.

87.Ellis, J.A. (2010). Bovine Parainfluenza-3 Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26, 575- 593. DOI:10.1016/j.cvfa.2010.08.002

88.Elmajdoub, L O., & Rahman, W.A. (2015). Prevalence of Hydatid Cysts in Slaughtered Animals from Different Areas of Libya, *Open Journal of Veterinary Medicine*, 5, 1-10. DOI :10.4236/ojvm.2015.51001.

89.Elze, K., & Selbitz, H. J. (1993). Differential diagnosis, treatment and prevention of respiratory diseases of calves. *Tierärztliche Umschau*, 48(9), 581-587.

90.Engering, A. Hogerwerfand, L., & Slingenbergh, J. (2013). Pathogenhost- environment interplay and disease emergence. *Emerging Microbes Infections*. 2(1), 1-7.

91.Erasmus, B.J., Boshoff, S.T., & Pieterse, L.M. (1967). Antibodies to PI-3 virus in sera of domestic and animals in South Africa. *Bulletin de l'Office International des Epizooties*, 68, 657-664.

92.Ernest, E., Nonga, H.E., Kassuku A.A., & Kazwala, R.R. (2009). Hydatidosis of slaughtered animals in Ngorongoro district of Arusha region, Tanzania. *Tropical Animal Health Production*, 41, 1179-1185.

93.Euzéby, J. (1971). *Les échinococcoses animales et leurs relations avec les échinococcoses de l'homme* (No. V617. 22 EUZe). Vigot : Paris.

94.FCM. Fédération canadienne du mouton. (2013). *Code de pratiques pour le soin et la manipulation des moutons*. ISBN 978-0-9936189-1-8 (livre électronique). www.cansheep.ca. Consulté le 19/09/2020.

95.Figueroa-Chavez, D., Segura-Correa, J.C., Garcia-Marquez, L.J., Pescador-Rubio, A., & Valdivia-Flores, A.G. (2012). Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus 3 in dual-purpose farms in Colima, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 44(7), 1417-1421.

- 96.Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2005).** Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infection and Immunity*, 73(4), 1907-1916.
- 97.Fischer-Tenhagen, C., Hamblin, C., Quandt, S., & Frolich, K., (2000).** Serosurvey for selected infectious disease agents in free-ranging black and white rhinoceros in Africa. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(2), 316-23.
- 98.Florin.T.A., Plint, A.C., & Zorc, J.J. (2017).** Viral bronchiolitis. *The Lancet*, 389(10065), 211-224. DOI:10.1016/S0140-6736(16)30951-5.
- 99.Food and Agriculture Organisation (FAO). (2019).** Consulté le 17/06/2020 sur <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>
- 100.Food and Agriculture Organisation (FAO). (2020).** Consulté le 08/01/2021 sur <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA>
- 101.Forghani, B. (2010).** Diagnosis by viral antigen detection. In: K.R. Jerome (Ed.), *Lenette's Laboratory Diagnosis of Viral Infections* (pp.113-132). Informa Healthcare: New York.
- 102.Franco, M. F., Gaeta, N. C., Alemán, M. A. R., Nogueira, A. H. C., Pituco, E. M., Balaro, M. F. A., & Gregory, L. (2020).** Indirect detection of respiratory viruses responsible for respiratory disease in sheep. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 14(1), 7-13.
- 103.Franke, J., Essbauer, S., Ahne, W., & Blahak, S. (2001).** Identification and molecular characterization of 18 paramyxoviruses isolated from snakes. *Virus Research*, 80(1-2), 67-74.
- 104.Gaeta, N. C., Ribeiro, B. L. M., Aleman, M. A. R., Thomazelli, L. M., Durigon, E. L., de Campos Nogueira, A. H., Stefano, E. D., Okuda, L. H., Pituco, E. M., & Gregory, L. (2017).** Evaluation of bovine Parainfluenza type-3 virus and Influenza virus D participation in bovine respiratory disease of calves from Brazilian family farming. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 11(4), 227-232.

- 105. Gafer, J.A.M., Hussein, H.A., & Reda, I. M. (2009).** Isolation and characterization of PI-3 virus from sheep and goats. *International Journal of Virology*, 5, 28–35.
- 106. Garcin, D., Taylor, G., Tanebayashi, K., Compans, R., & Kolakofsky, D. (1998).** The short Sendai virus leader region controls induction of programmed cell death. *Virology*, 243(2), 340-353.
- 107. Garten, W., Berk, W., Nagai, Y., Rott, R. & Klenk, H.D. (1980).** Mutational changes of the protease susceptibility of glycoprotein F of Newcastle disease virus: effects on pathogenicity. *Journal of General Virology*, 50(1), 135-147.
- 108. Getachew, D., Almaw, G., & Getachew T. (2012).** Occurrence and fertility rates of hydatid cysts in sheep and goats slaughtered at Modjo Luna Export Slaughter House, Ethiopia, *Ethiopian Veterinary Journal*, 16 (1), 83-91. DOI:10.4314/evj.v16i1.7.
- 109. Giangaspero, M., Savini, G., Orusa, R., Osawa, T., & Harasawa, R. (2013).** Prevalence of antibodies against parainfluenzavirus type 3, respiratory syncytial virus and bovine herpes virus type 1 in sheep from northern prefectures of Japan. *Veterinaria Italiana*, 49, 285-289.
- 110. Glendinning, L., Wright, S., Pollock, J., Tennant, P., Collie, D. & McLachlan, G. (2016).** Variability of the sheep lung microbiota. *Applied Environmental Microbiology*, 82(3), 225-238.
- 111. Gonçalves, R., Silva, A., Ferreira, D., Marcondes, J., Pituco, E., & Dias, A. (2011).** Detection of serum antibodies to parainfluenza type 3 virus, respiratory syncytial virus, bovine viral diarrhoea virus, and herpes virus type 1 in sheep in the Region of Botucatu, São Paulo - Brazil. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 3(1), 1–5.
- 112. Gonzalez, J. M., Bello, J. M., Rodriguez, M., Navarro, T., Lacasta, D., Fernandez, A. & De las Heras, M. (2016).** Lamb feedlot production in Spain: Most relevant health issues. *Small Ruminant Research*, 142, 83-87.

113. Goodwin, K.A., Jackson, R., Brown, C., Davies, P.R., Morris, R.S., Perkins, N.R. (2004). Pneumonic lesions in lambs in New Zealand: patterns of prevalence and effects on production. *New Zealand Veterinary Journal*, 52, 175–179.

114. Goris, K., Uhlenbruck, S., Schwegmann-Wessels, C., Köhl, W., Niedorf, F., Stern, M., Hewicker-Trautwein, M., Bals, R., Taylor, G., Braun, A., Bicker, G., Kietzmann, M., & Herrler, G. (2009). Differential sensitivity of differentiated epithelial cells to respiratory viruses reveals different viral strategies of host infection. *Journal of Virology*, 83(4), 1962-1968.

115. Grdzlishvili, V.Z., Smallwood, S., Tower, D., Hall, R.L., Hunt, D.M., & Moyer, S.A., (2005). A single amino acid change in the L-polymerase protein of vesicular stomatitis virus completely abolishes viral mRNA cap methylation. *Journal of Virology*, 79(12), 7327-7337.

116. Grubor, B., Gallup, J.M., Meyerholz, D.K., Crouch, E.C., Evans, R.B., Brodgen, K.A., Lehmkuhl, H.D., & Ackermann, M.R. (2004). Enhanced surfactant protein and defensin mRNA levels and viral replication during parainfluenza virus type 3 pneumonia in neonatal lambs. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 11, 599-607.

117. Haines D.M., & Chelack, B.J. (1991). Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 3, 101-112.

118. Haines, D.M., Kendall, J.C., Remenda, B.W., Breker-Klassen, M. M., & Clark, E. G. (1992). Monoclonal and polyclonal antibodies for immunohistochemical detection of bovine parainfluenza type 3 virus in frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 4(4), 393-399. DOI: 10.1177/104063879200400404.

119. Hamaguchi, M., Yoshida, T., Nishikawa, K., Naruse, H., & Nagai, Y. (1983). Transcriptive complex of Newcastle disease virus. I. Both L and P proteins are required to constitute an active complex. *Virology*, 128(1), 105-117.

120.Hamrat, K., Achor, Y., Ghadiri, Y., & Vasile., C. (2011). Epidemiologic study of hydatidosis in the steppe regions of Djelfa, Algeria, *Scientia Parasitologica*, 12(4),177-183.

121.Hashemnia, M., Chalechale, A., & Malmir, E. (2019). Pulmonary lesions in slaughtered sheep in Western Iran: gross and histopathological findings. *Veterinaria Italiana*, 55(1), 47-56. DOI: 10.12834/VetIt.785.3795.3.

122.Hearne, C. E., Cavender, J. L., Arellano, D. L., & Montgomery, D. L. (2008). Diagnosis of Ovine Paramyxovirus (Parainfluenza-type 3) Infection in Sheep Using Negative Contrast Electron Microscopy and Ultramicrotomy of Infected Cell Cultures. *Microscopy and Microanalysis*, 14(2), 1544-1545. DOI: 10.1017/S1431927608086108.

123.Herenda, D., Chambers, P.G., Ettriqui, A., Seneviratna, P., & Da Silva, T.J.P. (1994). Manual on meat inspection for developing countries. FAO Animal Production and Health Paper 119. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

124.Hibbitts, S., Rahman,A., John, R., Westmoreland, D., & Fox, J.D. (2003). Development and evaluation of NucliSens®BasicKit NASBA for diagnosis of parainfluenza virus infection with “end-point”and “real-time” detection, *Journal of Virological Methods*, 108(2), 145-155.

125.Hiebert, S. W., Paterson, R. G., & Lamb, R. A. (1985). Hemagglutinin-neuraminidase protein of the paramyxovirus simian virus 5: nucleotide sequence of the mRNA predicts an N-terminal membrane anchor. *Journal of Virology*, 54(1), 1-6.

126.Hindson, J.C., & Winter, A. C. (2002). Respiratory disease. In: *Manual of Sheep Diseases*, (2nd ed.) (pp. 196–209). Blackwell Science: Oxford, UK.

127.Hoffmann, P.C.C. (2013). Conduite à tenir face a une affection Respiratoire en élevage ovin [Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole vétérinaire d’Alfort].

128.Hore, D.E. (1966). Isolation of ovine strains of PI-3 virus serologically related to type 3. *Veterinary Record*, 79(16), 466-467.

129.Horikami, S.M., Curran, J., Kolakofsky, D., & Moyer, S.A. (1992). Complexes of Sendai virus NP-P and P-L proteins are required for defective interfering particle genome replication in vitro. *Journal of Virology*, 66(8), 4901-4908.

130.Horwood, P. F., Gravel, J. L., & Mahony, T. J. (2008). Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes. *Journal of General Virology*, 89(7), 1643-1648.

131.Hussain, K.J., Al-Farwachi, M.I., & Hassan, S.D. (2019). Seroprevalence and risk factors of bovine respiratory syncytial virus in cattle in the Nineveh Governorate, Iraq. *Veterinary World*, 12, 1862-1865.

132.Ibrahim, M.M. (2010). Study of cystic Echinococcosis in slaughtered animals in Al Baha region, Saudi Arabia: interaction between some biotic and abiotic factors. *Acta Tropica*. 113, 26–33.

133.Ide, P. R., Thomson, R. G., & Ditchfield, W. J. B. (1969). Experimental adenovirus infection in calves. *Canadian journal of Comparative Medicine*, 33(1), 1.

134.I E F. Institut d’Elevage France. (2015). Des agneaux en bonne santé : bonnes pratiques d’élevage et bergerie adaptée. www.Idele.fr. Consulté le 12/03/2020.

135.Intisar, K.S., Ali, Y.H., Khalafalla, A.I., Rahman, M.E.A., Amin, A.S., (2010). Respiratory infection of camels associated with parainfluenza virus 3 in Sudan. *Journal of Virological Methods*, 163, 82-86.

136.Ives, S.E., & Richeson, J.T. (2015). Use of Antimicrobial Metaphylaxis for the Control of Bovine Respiratory Disease in High-Risk Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 31, 341–350. DOI: 10.1016/j.cvfa.2015.05.008

137.Jones, G. E., Field, A. C., Gilmour, J. S., Rae, A. G., Nettleton, P. F., & McLauchlan, M. (1982). Effects of experimental chronic pneumonia on bodyweight, feed intake and carcass composition of lambs. *The Veterinary Record*, 110(8), 168-173.

- 138.Kahn, C. M., Scott, L., & Aiello, S. E. (2005).** The Merck veterinary manual 9th ed. Copyright (C) by Merck Co., Inc printed in the USA by National publishing. Inc. *Philadelphia, Pennsylvania*, 146-148.
- 139.Kahrs, R.F. (1981).** Parainfluenza 3. In: R.F. Kahrs, (Ed.), *Viral Disease of Cattle* (pp. 171–181). Iowa State University Press: Ames, IA.
- 140.Kamdi, B., Singh, R., Singh, V., Singh, S., Kumar, P., Singh, K.P., George, N., & Dhama, K. (2020).** Immunofluorescence and molecular diagnosis of bovine respiratory syncytial virus and bovine parainfluenza virus in the naturally infected young cattle and buffaloes from India. *Microbial Pathogenesis*, 104165. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104165.
- 141.Karron, R.A., & Collins, P.L. (2007).** Parainfluenza viruses. In: D.M. Knipe & P.M. Howley (Eds.). *Fields virology* (5th ed.) (pp.1497-1526). Lippincott, Williams & Wilkins: Philadelphia.
- 142.Kassahun, A., & Mersha, C. (2013).** Study on the prevalence and pathological features of lung worm of sheep In Bahir Dar, Ethiopia. *Acta Parasitologica Globalis*, 4(2), 41-48.
- 143.Kayoueche, F. Z. (2009).** *Epidemiology of hydatidosis and fascioliasis in animals and humans in eastern Algeria*. [Doctoral thesis, Mentouri University, Constantine].
- 144.Key, D.W., & Derbyshire, J.B. (1984).** Serological studies of parainfluenza type 3 virus, bovine adenovirus type 3 and bovine respiratory syncytial virus infection in beef calves. *Veterinary Microbiology*, 9, 587-592.
- 145.Kirschvink, N., & Reinhold, P. (2008).** Use of alternative animals as asthma models. *Current Drug Targets*, 9, 470–484. DOI: 10.2174/1389450087845 33525.
- 146.Klenk, H.D., & Garten, W. (1994).** Host cell proteases controlling virus pathogenicity. *Trends in Microbiology*, 2(2), 39-43.
- 147.Kotelkin, A., Belyakov, I. M., Yang, L., Berzofsky, J. A., Collins, P. L., & Bukreyev, A., (2006).** The NS2 protein of human respiratory syncytial virus suppresses the cytotoxic T-

cell response as a consequence of suppressing the type I interferon response. *Journal of Virology*, 80(12), 5958-5967.

148.Kumar, A., Rahal, A., Chakraborty, S., Verma, A. K., & Dhama, K. (2014a). Mycoplasma agalactiae, an etiological agent of contagious agalactia in small ruminants-a Review. *Veterinary Medicine International*, 2014.

149.Kumar, M. A., Kumar, R., Varshney, K. C., Nair, M. G., Lakkawar, A. W., Sridhar, B. G., & Palanivelu, M. (2014b). Pathomorphological studies of lung lesions in sheep. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 38(2), 75-81. DOI: 10.5958/0973-970X.2014.01142.0

150.Lacasta, D., Ferrer, L. M., Ramos, J. J., Gonzales, J. M., & De Las Heras, M. (2008). Influence of climatic factors on the development of pneumonia in lambs. *Small Ruminant Research*, 80(1), 28-32.

151.Lakhdari, F., Chekkal, F., Benguega, Z., Meradi, S., Berredjough, D., Boudibi, S. (2015). *Guide de caractérisation phénotypique des races ovines de l'Algérie*. Station Expérimentale des Bio-ressources El Outaya-Biskra. CRSTRA. p. 50.

152.Lamb, R.A., Mahy, B.W., & Choppin, P.W. (1976). The synthesis of sendai virus polypeptides in infected cells. *Virology*, 69(1), 116-131.

153.Lamb, R.A., Paterson, R.G., & Jardetzky, T.S. (2006). Paramyxovirus membrane fusion: lessons from the F and HN atomic structures. *Virology*, 344, 30-37.

154.Lamb, R. A., & Parks, G. D. (2007). Paramyxoviridae: The Viruses and Their Replication. In: B. N. Fields, D. N. Knipe, & P. M. Howley (eds.), *Fields virology* (pp.1449-1496). Lippincott, Williams & Wilkins: Philadelphia.

155.Lamontagne, J.P., Descoteaux, J.P., & Roy, R. (1985). Epizootiological Survey of Parainfluenza-3, Reovirus-3, Respiratory Syncytial and Infectious Bovine Rhinotracheitis Viral Antibodies in Sheep and Goat Flocks in Quebec. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49, 424-428.

156.Landry, M. L., & Ferguson, D. (2000). SimulFluor respiratory screen for rapid detection of multiple respiratory viruses in clinical specimens by immunofluorescence staining. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(2), 708-711.

157.Le Bayon, J-C.,Terrier, O., Cartet, G., Lina, B., & Rosa-Calatrava, M. (2013). Characterization of a key residue for hyperfusogenic phenotype in human parainfluenza virus type 2 (hPIV-2) fusion glycoprotein. *Virus Genes*, 47(2), 365-369. DOI: 10.1007/s11262-013-0932-0.

158.León, J. C. P., Diaz, W., Vasquez, M. C., Tobón, J. C., Sánchez, A., & Ortiz, D. (2019). Seroprevalence and risk factor associated with respiratory viral pathogens in dual-purpose cattle of Aguachica, Rio de Oro, and La Gloria municipalities in Cesar department, Colombia. *Veterinary World*, 12(7), 951.

159.Li, W., Mao, L., Cheng, S., Wang, Q., Huang, J., Deng, J., Wang, Z., Zhang, W., Yang, L., Hao, F., Ding, Y., Sun, Y., Wei, J., Jiang, P., & Jiang, J. (2014). A novel parainfluenzavirus type 3 (PIV3) identified from goat herds with respiratory diseases in eastern China. *Veterinary Microbiology*, 174, 100–106.

160.Lindstrom, L., Tauni, F. A., & Vargmar, K. (2018). Bronchopneumonia in Swedish lambs: a study of pathological changes and bacteriological agents. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1), 1-8. DOI: 10.1186/s13028-018-0409-1.

161.Lopez, A., & Martinson, S. A. (2017). Respiratory System, Mediastinum, and Pleurae. In: J. F. Zachary (ed.), *Pathologic basis of veterinary disease* (6th ed.) (pp.471-560). Elsevier : St. Louis, Missouri.

162.Luc., R. (2009). Strongles digestifs et pulmonaires chez les caprins. Bulletin de l'Alliance Pastorale n° 793: France.

163. Luna., L. (1968). *Manual of Histology, Staining methods of armed forces*, (3rd ed) . Institute of pathology. McGraw-Hill Book: New York.

- 164.Lyon, M., Leroux, C., Greenland, T., Chastang, J., Patet, J., & Mornex, J.F. (1997).** Presence of a unique parainfluenza virus 3 strain identified by RT-PCR in visna-maedi virus infected sheep. *Veterinary Microbiology*, 57(2-3), 95–104.
- 165.Maclachlan, N. J., & Dubovi, E. J. (Eds.). (2011).** *Fenner's veterinary virology*. Academic press: USA. DOI: 10.1016/B978-0-12-375158-4.X0001-6.
- 166.MacLachlan, N. J., & Dubovi, E. J. (2017).** Paramyxoviridae and pneumoviridae. In: *Fenner's Veterinary Virology* (pp. 327-356). Elsevier: New York, NY, USA. DOI:10.1016/B978-0-12-800946-8.00017-9.
- 167.Mahdi, A.A., Al-naqshabandy, A.A., Haddel, B.T. (2015).** A study of some pathological lesions in the lung of sheep in Duhok Abattoir. *Basrah Journal of Veterinary Research*. 14(2), 265-277.
- 168.Maidana, S.S., Lomonaco, P.M., Combessies, G., Craig, M.I., Diodati, J., Rodriguez, D.,Parreno, V., Zabal, O., Konrad, J.L., Crudelli, G., Mauroy, A., Thiry, E., & Romera,S.A. (2012).** Isolation and characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Argentina. *BMC Veterinary Research*, 8, 83-91.
- 169.Maiga, S., & Sarr, J. (1992).** Epidémiologie des principaux virus à tropisme respiratoire chez les petits ruminants. *Revue D'élevage Et De Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux*, 45, 15-17.
- 170.Mainar-Jaime, R. C., Berzal-Herranz, B., Arias, P., & Rojo-Vázquez, F. A. (2001).** Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral-diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 52(1), 63-73.
- 171.Mamine, F. (2010).** *Effet de la suralimentation et de la durée de traitement sur la synchronisation des chaleurs en contre saison des brebis Ouled Djellal en élevage semi-intensif*. Publibook editions: Paris.

172.Marshall, R.G., &Frank, G.H. (1971). Neutralising antibody in serum and nasal secretions of calves exposed to parainfluenza-3 virus. *American Journal of Veterinary Research*, 32, 1669–1706.

173.Martin, W.B. (1983). Les maladies respiratoires des petits ruminants, provoquées par les virus et les mycoplasmes. *Revue Scientifique et Technique. Office International des Epizootie*, 2(2), 335-356.

174.Martin, S.W., & Bohac, J.G. (1986). The association between serological titers in infectious bovine rhinotracheitis virus, bovine virus diarrhea virus, parainfluenza- 3 virus, respiratory syncytial virus and treatment for respiratory disease in Ontario feedlot calves. *Canadian Journal Veterinary Research*, 50,351-358.

175.Martin, W. B. (1996). Respiratory infections of sheep. *Comparative of Immunology Microbiology and Infectious Disease*, 19(30), 171-179. DOI:10.1016/0147-9571(96)00002-1.

176.Matrosovich, M. N., Matrosovich, T. Y., Gray, T., Roberts, N. A., & Klenk, H. D. (2004). Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus infection in human airway epithelium. *Journal of Virology*, 78(22), 12665-12667.

177.McIlroy, S. G., Goodall, E. A., McCracken, R. M., & Stewart, D. A. (1989). Rain and windchill as factors in the occurrence of pneumonia in sheep. *The Veterinary Record*, 125(4), 79-82.

178.McKercher, M.G. (1963). A comparative study of a strain of myxovirus from cattle in California affected with shipping fever with American and European strains of parainfluenza 3 virus. *The Cornell Veterinarian*, 53, 262-269.

179.McManus, D.P. (2006). Molecular Discrimination of Taeniid Cestodes. *Parasitology International*, 55, 31-37. DOI:10.1016/j.parint.2005.11.004.

180.Meeusen. E.N., Snibson. K.J., Hirst. S.J., & Bischof. R.J. (2009). Sheep as a model species for the study and treatment of human asthma and other respiratory diseases. *Drug Discovery Today: Disease Modes*, 6,101– 106. DOI: 10.1016/j.ddmod.2009.12.002.

- 181.Mekibib. B., Mikir. T., Fekadu, A., & Abebe. R. (2019).** Prevalence of Pneumonia in Sheep and Goats Slaughtered at Elfora Bishoftu Export Abattoir, Ethiopia: A Pathological Investigation. *Journal of Veterinary Medicine*, 2019,1-10. DOI:10.1155/2019/5169040
- 182.Melikyan, G.B., Markosyan, R.M., Hemmati, H., Delmedico, M.K., Lambert, D.M. & Cohen,F.S. (2000).** Evidence that the transition of HIV-1 gp41 into a six-helix bundle, not the bundle configuration, induces membrane fusion. *Journal of Cell Biology*, 151(2), 413-423.
- 183.Mellau, L. S. B., Nonga, H. E., & Karimuribo, E. D. (2010).** A slaughter house survey of lung lesions in slaughtered stocks at Arusha, Tanzania. *Preventive Veterinary Medicine*, 97, 77-82.
- 184.Melvin, I.M., Hitoshi, N., & Jerry, J.E. (1971).** Parainfluenza virus immunofluorescence in vitro and clinical application of the direct method. *Pediatrics*, 48(1), 73-78.
- 185.Ministère de l'agriculture et de développement rural (MADR). (2019).** *Services statistiques*.
- 186.Mishra, S., Kumar, P., George, N., Singh, R., Singh, V., & Singh, R. (2018).** Survey of lung affections in sheep and goats: A slaughterhouse study. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(4), 118-120.
- 187.Moula, N. (2018).** Conference: *9eme Séminaire international de la médecine vétérinaire, Constantine- Filière ovine en Algérie et au Maghreb*: Constantine- Algérie.
- 188.Morein, B., & Bergman, R. (1972).** Effect of parainfluenza-3 neuraminidase on bovine nasal secretion. *Infection and Immunity*, 6(2), 174-177.
- 189.Moreno, B. (1994).** *Contribución al conocimiento de la neumonía del cordero*. [Doctoral thesis. Veterinary Faculty, Animal Pathology, University of Zaragoza, Spain].

190.Mugale, M., & Balachandran, C. (2019). An Abattoir Based Histopathological Survey of Pulmonary Pathology in Small Ruminants. *International Journal of Livestock Research*, 0, 1. DOI:10.5455/ijlr.20180903073626.

191.Murphy, F.A., Gibbs, E.P., Horzinek, M.C., & Studdert, M.J. (1999). Paramyxoviridae. In: *Veterinary Virology*, (3rd ed.). (pp. 423). Academic press: USA.

192.Murray, T. S., Haycocks, N., & Fink, S. L. (2016). In: Introduction to the Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. *Head Neck and Orofacial Infections*, 94-102. DOI: 10.1016/B978-0-323-28945-0.00005-3.

193.Nagai, Y., Klenk, H.D., & Rott, R. (1976). Proteolytic cleavage of the viral glycoproteins and its significance for the virulence of Newcastle disease virus. *Virology*, 72(2), 494-508.

194.Nagai, Y., & Klenk, H. D. (1977). Activation of precursors to both glycoproteins of Newcastle disease virus by proteolytic cleavage. *Virology*. 77(1), 125-34.

195.Nagai, Y. (1995). Virus activation by host proteinases. A pivotal role in the spread of infection, tissue tropism and pathogenicity. *Microbiology and Immunology*, 39(1), 1-9.

196.Narita, M., Kimura, K., Tanimura, N., Arai, S., Tsuboi, T., & Katsuda, K. (2000). Immunohistochemical characterization of calf pneumonia produced by the combined endobronchial administration of bovine herpesvirus 1 and *Pasteurella haemolytica*. *Journal of Comparative Pathology*, 123(2-3), 126-134.

197.Narita, M., Yamada, T., Tsuboi, T., & Kawashima, K. (2002). Immunohistopathology of calf pneumonia induced by endobronchial inoculation with serum bovine adenovirus 3. *Veterinary Pathology*, 39, 565-571.

198.Neill J.D., Ridpath J.F& Valayudhan B.T.(2015). Identification and genome characterization of genotype B and genotype C of bovine parainfluenza type 3 viruses isolated in the United States. *BMC Veterinary Research*, 11, 112.

- 199.Nollens, H.H., Wellehan, J.F., Saliki, J.T., Caseltine, S.L., Jensen, E.D., Van Bonn, W., & Venn-Watson, S. (2008).** Characterization of a parainfluenza virus isolated from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Veterinary Microbiology*, *128*(3-4), 231-242.
- 200.Noori, Y. M., Intisar, K. S., Nada, E. M., & Ali, Y. H. (2014).** Detection and Isolation of bovine parainfluenza virus type 3 (PIV-3) in cattle in North Kordofan State, Sudan. *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences (JAVS)*, *15*(1).
- 201.Noori, Y.M., Intisar, K.S., Nada, E.M., Ali, Y.H., Nada, E.M. (2018).** Epidemiology of parainfluenza virus type-3 infection in cattle in North Kordofan, Sudan. *Journal of Science and Technology*, *19*, 51-62.
- 202.Norguet, C. (2015).** *Création d'un outil pédagogique permettant l'apprentissage des démarches diagnostiques et thérapeutiques des pathologies respiratoires des bovins.* [Mémoire de fin d'étude, Université Lyon-France].
- 203.Nylund, S., Karlsen, M., & Nylund, A. (2008).** The complete genome sequence of the Atlantic salmon paramyxovirus (ASPV). *Virology*, *373*(1), 137-48.
- 204.Oem, J., Lee, E., Lee, K., Kim, S., Lee, M., & Hyun, B. (2013).** Molecular characterization of a Korean bovine parainfluenza virus type 3 isolate. *Veterinary Microbiology*, *162*, 224- 227.
- 205.Ogino, T., Kobayashi, M., Iwama, M., & Mizumoto, K. (2005).** Sendai virus RNA-dependent RNA polymerase L protein catalyzes cap methylation of virus-specific mRNA. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(6), 4429-4435.
- 206.Ohsawa, K., Yamada, A., Takeuchi, K., Watanabe, Y., Miyata, H., & Sato, H., (1998).** Genetic characterization of parainfluenza virus 3 derived from guinea pigs. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, *60*(8), 919-22.
- 207.Omar, A. R., Jennings, A. R., & Betts, A. O. (1966).** The experimental disease produced in calves by the J121 strain of parainfluenza virus type 3. *Research in Veterinary Science*, *7*(4), 379-392.

- 208.Orjuela, J., Navarrete, M., Betancourt, A., Roqueme, L., Cortez, E., Morrison, R.B. (1991).** Salud y productividad en bovinos de la costa norte de Colombia. *World Animal Review*, 69, 7-14.
- 209.Osiowy, C. (1998).** Direct detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and adenovirus in clinical respiratory specimens by a multiplex reverse transcription-PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(11), 3149-3154.
- 210.Parks, J.B., Post, G., Thorne, T., & Nash, P. (1972).** Parainfluenza-3 virus infection in Rocky Mountain bighorn sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 161(6), 669-672.
- 211.Perlman, S. L., Jordan, M., Brossmer, R., Greengard, O., & Moscona, A. (1999).** The use of a quantitative fusion assay to evaluate HN–receptor interaction for human parainfluenza virus type 3. *Virology*, 265(1), 57-65.
- 212.Parsaei, M., Osseini. A., & Riahi, R. (2012).** Prevalence of hydatidosis in slaughtered animals of South West of Iran. *Global Veterinaria*, 9(4), 430-433.
- 213.Pinchak, W. E., Tolleson, D. R., McCloy, M., Hunt, L. J., Gill, R. J., Ansley, R. J., & Bevers, S. J. (2004).** Morbidity effects on productivity and profitability of stocker cattle grazing in the Southern Plains. *Journal of Animal Science*, 82(9), 2773-2779.
- 214.Pringle, C.R., Filipiuk, A.H., Robinson, B.S.,Watt, P.J., Higgins, P., & Tyrrell, D.A. (1993).** Immunogenicity and pathogenicity of a triple temperature-sensitive modified respiratory syncytial virus in adult volunteers. *Vaccine*, 11, 473-478.
- 215.Poch, O., Blumberg, B.M., Bougueleret, L., & Tordo, N. (1990).** Sequence comparison of five polymerases (L proteins) of unsegmented negative-strand RNA viruses: theoretical assignment of functional domains. *Journal of General Virology*, 71(5), 1153-1162.
- 216.Pugh, D. G. (2002).** Sheep and Goat Medicine. Saunders, Philadelphia, Pa, USA.

217.Radostits, O., Blood, D., & Gay, C. (1994). *Veterinary medicine textbook of the disease of cattle, sheep, goats and horses.* (pp 1051–1058). Balliere Tindall: London.

218.Radostits, O. M., Mayhew, I. G., & Houston, D. M. (2000). *Veterinary clinical examination and diagnosis.* WB Saunders.

219. Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff, K.W. & Constable, P.D. (2007). *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.* (10th ed.) (pp.2045-2050). Saunders, Ltd.

220.Rahal, A., Ahmad, A. H., Prakash, A., Mandil, R., & Kumar, A. T. (2014). Environmental attributes to respiratory diseases of small ruminants. *Veterinary Medicine International*, 10, 2014.

221.Ray, C.G., & Minnich, L.L. (1987). Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *Clinical Microbiology*, 25(2), 355–357.

222.Rebhun, W.C., Guard, C., & Richards, C.M. (1995). Respiratory diseases. In: *Diseases of dairy cattle* (pp. 65-105), Williams and Wilkins: Baltimore, USA.

223.Reddy, J.R., Kwang, J., Okwumabua, O., Kapil, S., Loughin, T.M., Lechtenberg, K.F., Chengappa, M.M., & Minocha, H.C. (1997). Application of recombinant bovine viral diarrhea virus proteins in the diagnosis of bovine viral diarrhea infection incattle. *Veterinary Microbiology*, 57, 119-133.

224.Reisinger, R.C., Heddleston, K.L & Manthei, C.A. (1959). A myxovirus (SF-4) associated with shipping fever of cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 135, 147–152.

225.Ribble, C. S., Meek, A. H., Shewen, P. E., Jim, G. K., & Guichon, P. T. (1995). Effect of transportation on fatal fibrinous pneumonia and shrinkage in calves arriving at a large feedlot. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(5), 612-615.

- 226.Rodger, J.L.(1989).** Parainfluenza-3 vaccination of sheep. *Veterinary Record*, 125, 453-456.
- 227.Rosadio, R., Cirilo, E., Manchego, A., & Rivera, H. (2011).** Respiratory syncytial and parainfluenza type 3 viruses coexisting with *Pasteurella multocida* and *Mannheimia hemolytica* in acute pneumonias of neonatal alpacas. *Small Ruminant Research*, 97(1–3), 110-116.
- 228.Rosenberg, F. J., Lief, F. S., Todd, J. D., & Reif, J. S. (1971).** Studies of canine respiratory viruses. I. Experimental infection of dogs with an SV5-like canine parainfluenza agent. *American Journal of Epidemiology*, 94(2), 147-165.
- 229.Roy, J. H. B., (1990).** Respiratory infections. In: J.H.B. Roy (ed.). *The calf. Vol 1. Management of Health*, (5th ed.).(p.258). Butterworths: London.
- 230.Rusenova, N., & Bochev, I. (2009).** Comparison of the seroprevalence against some respiratory viruses in mixed sheep-goat herds in two regions of Bulgaria. *Trakia Journal of Sciences*, 7, 58-62.
- 231.Russell, C.J., Kantor, K.L., Jardetzky, T.S., & Lamb, R.A. (2003).** A dual-functional paramyxovirus F protein regulatory switch segment: activation and membrane fusion. *Journal of Cell Biology*, 163(2), 363-374.
- 232.Saad, A.A.A. (2002).** *Studies of parainfluenza 3 virus in domestic animals in Egypt*. [Thesis in veterinary medicine, Cairo University, Egypte].
- 233.Sacco, R. E., Nonnecke, B. J., Palmer, M. V., Waters, W. R., Lippolis, J. D., & Reinhardt, T. A. (2012).** Differential expression of cytokines in response to respiratory syncytial virus infection of calves with high or low circulating 25-hydroxyvitamin D 3. *PLoS one*, 7(3), e33074.
- 234.Sacco, R.E., McGill, J.L., Pillatzki, A.E., Palmer, M.V., & Ackermann, M.R. (2014).** Respiratory syncytial virus infection in cattle. *Veterinary Pathology*, 51, 427- 436.

- 235.Saeed, I. K., Ali, Y. H., Taha, K. M., Mohammed, N. E., Nouri, Y. M., Mohammed, B. A., Mohammed, O. I., Elmagboul, S. B., & AlGhazali, F. A. (2016).** Parainfluenza virus 3 infection in cattle and small ruminants in Sudan. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 3(3), 236-241.
- 236.Saint-cast, Y. (1985).** Influence de l'environnement et l'habitat sur les affections respiratoires des bovins. *161*, 1036-1042.
- 237.Sakaguchi, T., Takao, S., Kiyotani, K., Fujii, Y., Nakayama, T., & Yoshida, T. (1993).** Expression of the HN, F, NP and M proteins of Sendai virus by recombinant vaccinia viruses and their contribution to protective immunity against Sendai virus infections in mice. *Journal of General Virology*, 74 (3), 479-484
- 238.Salem, E. (2018).** *Bronchopneumonies infectieuses des jeunes bovins: de la complexité du microbiome aux particularités évolutives et cliniques de virus respiratoires encore méconnus* [Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France].
- 239.Sanderson, C.M., McQueen, N.L., & Nayak, D.P. (1993).** Sendai virus assembly: M protein binds to viral glycoproteins in transit through the secretory pathway. *Journal of Virology*, 67(2), 651-663.
- 240.Sanderson, M. W., Dargatz, D. A., & Wagner, B. A. (2008).** Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. *The Canadian Veterinary Journal*, 49(4), 373.
- 241.Scheid, A. & Choppin, P.W. (1974).** Identification of biological activities of paramyxovirus glycoproteins. Activation of cell fusion, hemolysis, and infectivity of proteolytic cleavage of an inactive precursor protein of Sendai virus. *Virology*, 57(2), 475-490.
- 242.Schmitt, A.P., He, B., & Lamb, R.A. (1999).** Involvement of the cytoplasmic domain of the hemagglutinin-neuraminidase protein in assembly of the paramyxovirus simian virus 5. *Journal of Virology*, 73(10), 8703-8712.

- 243.Scott, P. R. (2011).** Treatment and control of respiratory disease in sheep. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27(1), 175-186. DOI:10.1016/j.cvfa.2010.10.016.
- 244.Sharp, J.M. (1990).** Parainfluenza-3 virus in sheep. In: Z. Dinter., B. Morein., & M.C. Horzinek, (eds.), *Virus Infections of Vertebrates: Virus Infections of Ruminants* (pp. 335-339). Elsevier: Amsterdam.
- 245.Sharp, J.M., & Nettleton, P.F. (2007).** Acute respiratory viral infections. In: I.D. Aitken, (ed.). *Diseases of sheep*, (4th ed.) (pp. 207-211). Blackwell Publishing: Oxford, UK.
- 246.Shibuta, H., Kanda, T., Hazama, A., Adachi, A., & Matumoto, M. (1981).** Parainfluenza 3 virus: plaque-type variants lacking neuraminidase activity. *Infection and Immunity*, 34(1), 262-267.
- 247.Shibuta, H., Nozawa, A., Shioda, T., & Kanda, T. (1983).** Neuraminidase activity and syncytial formation in variants of parainfluenza 3 virus. *Infection and Immunity*, 41(2), 780-788.
- 248.Simon, J.L. (2011).** La broncho domine en bergerie. Dossier Maladies Respiratoires. GDS info (p.30-31). Rhône-Alpes.
- 249.Singh, K.V., & El-Cicy, I. (1967).** Studies with bovine parainfluenza- 3 virus in U.A.R. (Egypt). *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, 31, 70-79.
- 250.Singh, R., Kumar, P., Sahoo, M., Bind, R. B., Kumar, M. A., Das, T., Kumari, S., Kasyap, G., Yadav, J.P., Saminatham, M., Singh, K. P., & Singh, R. (2017).** Spontaneously occurring lung lesions in sheep and goats. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 41(1), 18-24.
- 251.Smallwood, S., & Moyer, S.A. (2004).** The L polymerase protein of parainfluenza virus 3 forms an oligomer and can interact with the heterologous Sendai virus L, P and C proteins. *Virology*, 318, 439-450. DOI:10.1016/j.virol.2003.09.045.

- 252.Solis-Calderon, J.J., Segura-Correa, J.C., Aguilar-Romero, F., Segura-Correa, & V.M. (2007).** Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus-3 in beef cattle of Yucatan, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine*, 82, 102-110.
- 253.Soni, S. S., & Sharma, K. N. (1990).** Descendence of natural bacterial flora as causative agent of pneumonia in sheep. *Indian Journal of Comparative Microbiology Immunology and Infectious Diseases*, 11, 79-84.
- 254.Soule, C. (1994).** L'hydatidose des ruminants: état stationnaire. *Le Point vétérinaire: Revue d'Enseignement Post-Universitaire et de Formation Permanente*, 26, 104-107.
- 255.Spann, K. M., Tran, K. C., Chi, B., Rabin, R. L., & Collins, P. L. (2004).** Suppression of the induction of alpha, beta, and lambda interferons by the NS1 and NS2 proteins of human respiratory syncytial virus in human epithelial cells and macrophages [corrected]. *Journal of Virology*, 78(8), 4363-4369.
- 256.Srikumaran, S. (2007).** Molecular basis for the enhanced susceptibility of bighorn sheep to pneumonia: How much do we know? Respiratory disease in Mountain sheep. University of California – Davis. (April 25-26).
- 257.Stamp, J.T., & Nisbet, D.I., (1963).** Pneumonia of sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 73, 319-328.
- 258.Stermer, R. A., Camp, T. H., & Stevens, D. G. (1982).** Feeder cattle stress during handling and transportation. *Transactions of the ASAE*, 25(1), 246-0249.
- 259.Stevenson RG. (1969).** Immunofluorescence studies of parainflunza 3 virus in the lungs of lambs. *Journal of Comparative Pathology*, 79, 483-490.
- 260.Stevenson, R. G., & Hore., D. E. (1970).** Comparative pathology of lambs and calves infected with parainfluenza virus type 3. *Journal of Comparative Pathology*, 80, 613-618.

- 261.St.George, T. D. (1969).** The isolation of *Myxovirus Parainfluenza* type 3 from sheep in Australia. *Australia Veterinary Journal*, 45, 321-325.
- 262.St George, T. D. (1971).** A survey of sheep throughout Australia for antibody to parainfluenza type 3 virus and to mucosal disease virus. *Australian Veterinary Journal*, 47, 370-374.
- 263.St George, T.D. (1972).** Investigation of respiratory disease of sheep in Australia. *Australia Veterinary Journal*, 48, 318-322.
- 264.Stricker, R., Mottet, G., & Roux, L. (1994).** The Sendai virus matrix protein appears to be recruited in the cytoplasm by the viral nucleocapsid to function in viral assembly and budding. *Journal of General Virology*, 75(5), 1031-1042.
- 265.Takimoto, T., & Portner, A. (2004).** Molecular mechanism of paramyxovirus budding. *Virus Research*, 106(2), 133-145.
- 266.Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013).** MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- 267.Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L., & Confer, A.W. (2010).** The Epidemiology of Bovine Respiratory Disease : What is the evidence for predisposing factors ? *The Canadian Veterinary Journal*, 51, 1095–1102. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1996.tb10027.x.
- 268.Thiry, E. (2000).** Maladies virales respiratoires. In : *Maladies virales des ruminants*. (p.244). Collection virologie clinique, Editions du point vétérinaire. Maison Alfort : France.
- 269.Thiry. (2010).** Classification viral: cours optionnel formation doctorale en sciences vétérinaires, Université de Liège, France.

- 270. Thompson, S.D., Laver, W.G., Murti, K.G., & Portner, A. (1988).** Isolation of a biologically active soluble form of the hemagglutinin-neuraminidase protein of Sendai virus. *Journal of Virology*, 62(12), 4653-4660.
- 271. Thonney, M. L., Smith, M. C., Mateescu, R. G., & Heuer, C. (2008).** Vaccination of ewes and lambs against parainfluenza 3 to prevent lamb pneumonia. *Small Ruminant Research*, 74(1-3), 30-36.
- 272. Thonur, L., Maley, M., Gilray, J., Crook, T., Laming, E., Turnbull, D., Nath, M., & Willoughby, K. (2012).** One-step multiplex real time RT-PCR for the detection of bovine respiratory syncytial virus, bovine herpesvirus 1 and bovine parainfluenza virus 3. *BMC Veterinary Research*, 8(37), 1–9.
- 273. Thorsen, J., & Henderson, J. P. (1971).** Survey for antibody to infectious bovine rhinotracheitis (IBR), bovine virus diarrhea (BVD) and parainfluenza 3 (PI3) in moose sera. *Journal Wildlife Disease*, 7(2), 93-95.
- 274. Timurkan, M. O., Aydin, H., & Sait, A. (2019).** Identification and molecular characterisation of bovine parainfluenza virus-3 and bovine respiratory syncytial virus-first report from Turkey. *Journal of veterinary research*, 63(2), 167.
- 275. Tiwari, K., Cornish, C., Gamble, B., Thomas, D., Sharma, R.N. (2016).** Seroprevalence of Bovine Parainfluenza Virus Type 3 (bPI-3V) in Ruminants from Grenada. *Open Veterinary Journal*, 6, 23-27.
- 276. Tiwari, R.T. (2017).** *Aetio-pathological studies on lung lesions of sheep (Ovis Aries) in Jaipur division.* [Mémoire de Master, Université Rajasthan. Inde].
- 277. Toma, C., Bâlțeanu, V. A., Tripon, S., Trifa, A., Rema, A., Amorim, I., Pop, R. M., Popa, R., Catoi, C., & Taulescu, M. (2020).** Exogenous Jaagsiekte Sheep Retrovirus type 2 (exJSRV2) related to ovine pulmonary adenocarcinoma (OPA) in Romania: prevalence, anatomical forms, pathological description, immunophenotyping and virus identification. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1-15.

278. Traub-Dargatz, J. L., McKinnon, A. O., Thrall, M. A., Jones, R. L., Bruyninckx, W., Blancquaert, A. M., & Dargatz, D. A. (1992). Evaluation of clinical signs of disease, bronchoalveolar and tracheal wash analysis, and arterial blood gas tensions in 13 horses with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone, methyl sulfonmethane, and clenbuterol hydrochloride. *American Journal of Veterinary Research*, 53(10), 1908-1916.

279. Trigo, E. H. D. L., Liggitt, H. D., Breeze, R. G., Leid, R. W., & Silflow, R. M. (1984). Bovine pulmonary alveolar macrophages: ante-mortem recovery and in vitro evaluation of bacterial phagocytosis and killing. *American Journal of Veterinary Research*, 45(9), 1842-1847.

280. Trybala, E., Wiśniewski, J., & Larski, Z. (1989). An evaluation of four serological tests for the detection of antibodies to bovine parainfluenza virus type 3. *Acta Veterinaria Hungarica*, 37(4), 365-372.

281. Tsai, K. S., & Thomson, R. G. (1975). Bovine parainfluenza type 3 virus infection: ultrastructural aspects of viral pathogenesis in the bovine respiratory tract. *Infection and Immunity*, 11(4), 783-803.

282. Underwood, W.J., Blauwiel, R., Delano, M.L., Gillesby, R., Mischler, S.A., & Schoell, A. (2015). Biology and diseases of ruminants (sheep, goats, and cattle). In: J.G. Fox., L.C. Anderson., G.Otto., K.R. Pritchett-Corning., M.T. Whary (Eds.), *Laboratory animal medicine*, (3rd ed.), (pp.623-694). Academic Press: Oxford (United Kingdom). DOI: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00015-8.

283. Van der Maaten, M. J. (1969). Immunofluorescent studies of bovine para-influenza 3 virus II. Experimentally Infected Calves. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 33(2), 134-140.

284. Veljović, L., Knežević, A., Milić, N., Krnjaić, D., Miković, R., Zorić, A., Marković M., milićević, V., Stamenković, M., stanojević, M., maksimović-zorić, J., Petrović, T., & Nišavić, J. (2016). Isolation and molecular detection of bovine parainfluenza virus type 3 in cattle in Serbia. *Acta Veterinaria*, 66(4), 509-519. DOI:10.1515/acve-2016-0044.

285. Viuff, B., Uttenhal, A., Tegtmeier, C., & Alexandersen, S. (1996). Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by in situ hybridization. *Veterinary Pathology*, 33, 383-390.

286. VotreVeto.net (internet). Les maladies respiratoires des bovins partie 2. <https://www.votreVeto.net/cliniqueveterinairedelachataigneraie/publication/show.aspx?item=1483> Consulté le 25/06/2020.

287. Waner, J.L. (1999). Parainfluenza viruses. In: P.R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (pp.1157-1197). American Society for Microbiology: New York.

288. Warriss, P. D., Brown, S. N., Knowles, T. G., Kestin, S. C., Edwards, J. E., Dolan, S. K., & Phillips, A. J. (1995). Effects on cattle of transport by road for up to 15 hours. *The Veterinary Record*, 136(13), 319-323.

289. Wawegama, N.K., Browning, G.F., Kanci, A., Marenda, M.S., & Markham, P.F. (2014). Development of a recombinant protein-based enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of mycoplasma bovis infection in cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*, 196-202.

290. Weckley, L.B., & Veit, H.P. (1995). Potential morphologic and physiologic factor that may predispose the bovine lung to respiratory disease. *The Compendium*, 17, 974-982.

291. Wen, Y.J., Shi, X.C., Wang, F.X., Wang, W., Zhang, S.Q., Li, G., Song, N., Chen, L.Z., Cheng, S.P., & Wu, H. (2012). Phylogenetic analysis of the bovine parainfluenza virus type 3 from cattle herds revealing the existence of a genotype a strain in China. *Virus Genes*, 45, 542-547.

292. Wikse, S. E., Baker, J. C., (1996). The Bronchopneumonias. In: B.P. Smith (ed.). *Large animal internal medicine*, (2nd ed.) (pp.632-650). St Louis: Mosby.

293. Woods, G. T. (1968). The natural history of bovine myxovirus parainfluenza-3. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 152(6), 771-779.

294. Yates, W. D. (1982). A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 46(3), 225-263.

295. Yener, Z., Saglam, Y.S., Timurkaan, N., & Ilhan, F. (2005). Immunohistochemical detection of parainfluenza type 3 virus antigens in paraffin sections of pneumonic caprine lungs. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 52(6), 268-271. DOI:10.1111/j.1439-0442.2005.00724.x

296. Yesilbag, K., & Gungor, B. (2009). Antibody Prevalence against Respiratory Viruses in Sheep and Goats in North-Western Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 421-425. DOI:10.3923/ijv.2009.28.35.

297. Zarnke, R. L., & Erickson, G. A. (1990). Serum antibody prevalence of parainfluenza 3 virus in a free-ranging bison (*Bison bison*) herd from Alaska. *Journal of Wildlife Diseases*, 26(3), 416-419.





298. Zhang, L., Bukreyev, A., Thompson, C. I., Watson, B., Peeples, M. E., Collins, P. L., & Pickles, R. J. (2005). Infection of ciliated cells by human parainfluenza virus type 3 in an in vitro model of human airway epithelium. *Journal of Virology*, 79(2), 1113-1124.

299. Zhu, Y. M., Shi, H. F., Gao, Y. R., Xin, J. Q., Liu, N. H., Xiang, W. H., ... & Xue, F. (2011). Isolation and genetic characterization of bovine parainfluenza virus type 3 from cattle in China. *Veterinary Microbiology*, 149(3-4), 446-451.

Publication



Pathological study and detection of *Bovine parainfluenza 3 virus* in pneumonic sheep lungs using direct immunofluorescence antibody technique

Sameh Baghezza¹  · Bakir Mamache¹  · Omar Bennoune¹  · Khireddine Ghougal² 

© Springer-Verlag London Ltd., part of Springer Nature 2021

✉ Sameh Baghezza
baghezza_sameh@yahoo.fr

¹ Laboratory of Environment, Health and Animal Production (LEHAP), Institute of Veterinary and Agronomic Sciences, University of Batna 1, Batna, Algeria

² Laboratory of Health Management and Animal Production, Institute of veterinary sciences, University of Constantine 1, El-Khroub, Constantine, Algeria

Résumé

Résumé

Le virus *Parainfluenza* type 3 bovin est un virus qui provoque des infections des voies respiratoires chez les ruminants dans le monde entier. En Algérie, la situation des atteintes respiratoires causées par ce virus chez les ovins est mal connue. Cette étude a été réalisée dans le but de déterminer la séroprévalence de ce virus chez les ovins dans deux régions géographiquement différentes (Batna et Boumerdes) et d'identifier l'impact des facteurs de risque sur le développement de cette infection, ainsi que la recherche du génome viral du BPIV3 dans les écouvillons nasaux.

Le deuxième but de notre travail est d'évaluer la fréquence et de caractériser macroscopiquement et histopathologiquement les lésions pulmonaires ainsi que de déterminer la présence des antigènes de BPIV3 en utilisant la technique d'immunofluorescence directe (DFAT) sur des coupes congelées de lésions pneumoniques des ovins sacrifiés dans l'abattoir municipal de Batna (Est de l'Algérie).

Pour cela, 108 sérums ont été prélevés sur des ovins de différents âges et testés par la technique ELISA pour la détection des anticorps contre le BPIV3. 82 ovins avaient des anticorps contre le BPIV3 soit une prévalence de 75,93%. L'analyse statistique a montré qu'il n'y a aucune association entre la présence des anticorps et la localisation géographique des deux régions étudiées ($P=0,72$). Par contre il y a une association très significative entre la séroprévalence du BPIV3 et l'âge de l'animal ($P<0,0001$) et elle est significativement plus élevée chez les ovins âgés de plus de 3 ans par rapport aux autres groupes d'âge. Il a été constaté également une différence significative de la prévalence du BPIV3 selon le sexe de l'animal ($p<0,003$).

Dans cette étude aucun génome viral n'a été détecté dans les écouvillons nasaux par la technique RT-PCR.

L'étude lésionnelle a permis d'enregistrer 2660 lésions pulmonaires, soit une fréquence de 20,21%. Les atteintes pulmonaires les plus observées sont la bronchopneumonie aigue (31,58%), la pneumonie vermineuse (07,85%), la bronchopneumonie fibrineuse (05,83%), la pneumonie interstitielle (03,87%), la pneumonie suppurée (02,03%), l'adénomatosé pulmonaire (03,68%), l'atélectasie (13,53%), l'emphysème (05,34%), le kyste hydatique (02,26%), la pleurésie (10,53%), l'abcès (06,88%) et l'aillotage (06,62%). La saison et l'âge avaient un effet significatif dans l'apparition de certaines lésions pulmonaires.

S'agissant des antigènes de BPIV3, ils ont été détectés par la technique d'immunofluorescence directe dans 12 échantillons soit une fréquence de 11,21% et leur expression histopathologique est caractérisée par une hyperplasie bronchiolaire, un épaississement des septa inter-alvéolaires, une hyperplasie lymphoïde, une infiltration des cellules inflammatoires et un œdème intra-alvéolaire.

Mots clés: Virus *Parainfluenza* type 3 bovin, ovins, séroprévalence, ELISA, RT-PCR, facteurs de risque, lésions pulmonaires, anatomopathologie, technique d'immunofluorescence directe, Algérie.

Abstract

Bovine *Parainfluenza* type 3 virus causes respiratory tract infections in ruminants worldwide. In Algeria, the situation of respiratory damage caused by this virus in ovine is not well known. This study was carried out with the aim to determine the sero-prevalence of BPI3V in sheep in two different geographical regions of Algeria (Batna and Boumerdes) and to identify the impact of risk factors on the development of this infection, as well as the search for the BPIV3 viral genome in nasal swabs.

The second aim of this study is to evaluate the frequency and characterize the gross and histopathological pneumonic lesions and to determine the presence of BPI3V using direct fluorescent antibody technique (DFAT) on frozen pneumonic lung sections of sheep from Batna municipal slaughterhouse (Eastern Algeria).

108 sera were collected from sheep of different ages and were tested using ELISA for detection of antibodies against BPI3V.

82 (75.93%) sheep had antibodies against BPI3V. The statistical analysis showed that there was no association between the presence of antibodies against BPI3V and the geographical location of the region of study ($P=0.72$), but there was a highly significant association between the seroprevalence of BPI3V and the age of the animal ($P < 0.0001$) and it was significantly higher in sheep aged more than 3 years compared to the other age groups. There was a significant difference between BPIV3 prevalence in male and female animals ($p < 0.003$).

In this work, no viral genome was detected in the nasal swabs by RT-PCR technique.

2660 lesions were observed in the lungs of the inspected sheep with a frequency of 20.21%. The gross lesions were acute bronchopneumonia (31,58%), verminous pneumonia (7,85%), fibrinous bronchopneumonia (5,83%), interstitial pneumonia (3,87%), suppurative bronchopneumonia (2,03%), and ovine pulmonary adenomatosis (3,68%), atelectasis (13,53%), emphysema (5,34%), hydatid cysts (2,26%), pleurisy (10,53%) and abscess (6,88%). In addition, season and age had significant effects on the occurrence of some pulmonary lesions.

BPIV3 antigens were detected by the direct immunofluorescence technique in 12 samples (11.21%) and their histopathological expression was characterized by bronchiolar hyperplasia, thickening of the inter-alveolar septa, lymphoid hyperplasia, infiltration of inflammatory cells and intra-alveolar edema.

Keywords: Bovine *Parainfluenza* type 3 virus, sheep, seroprevalence, ELISA, risk factors, RT-PCR, pulmonary lesions, anatomopathology, direct immunofluorescence technique, Algeria.

ملخص

فيروس نظير الأنفلونزا البقر BPI3V ، مسؤول عن الامراض التنفسية لدى المجترات في العالم. في الجزائر، حالة تضرر الجهاز التنفسي التي يسببها هذا الفيروس في الأغنام غير معروفة. لذلك أجريت هذه الدراسة بهدف تحديد الانتشار المصلي ل BPI3V لدى الاغنام في منطقتين جغرافيتين مختلفتين من الجزائر (باتنة و بومرداس) وتحديد مدى تأثير عوامل الخطر على تطور هذه العدوى وكذلك البحث عن الجينوم الفيروسي على مستوى مساحات الانف الهدف الثاني من هذه الدراسة هو تقييم نسبة وإجراء وصف الاصابات الرئوية بالعين المجردة والمجهريه وكذا تحديد مولد الضد ل BPI3V باستخدام تقنية المباشرة للأجسام المضادة المشعة (DFAT) على عينات رئت مصابة مجمدة مأخوذة من الاغنام المذبوحة في مسلخ البلدي لبلدية باتنة (شرق الجزائر).

تم جمع 108 مصل من الأغنام من مختلف الأعمار وتم اختبارها باستخدام تقنية ELISA للكشف عن الأجسام المضادة ضد BPI3V. 82. من الأغنام (75.93%) لديهم أجسام مضادة ضد BPI3V. أظهر التحليل الإحصائي أنه لا يوجد ارتباط بين وجود الأجسام المضادة ضد BPI3V وموقع منطقة الدراسة (P=0.72) ، ولكن كان هناك ارتباط كبير بين وجود الأجسام المضادة وعمر الحيوان (p<0.0001) وكانت أعلى بدرجة كبيرة لدى الأغنام التي تزيد أعمارها عن 3 سنوات مقارنة بالفئات العمرية الأخرى. وايضا كان هناك فرق كبير في انتشار PBI3V حسب جنس الحيوانات المدروسة (P<0.003).

لم يتم الكشف عن جينوم فيروسي بواسطة تقني RT-PCR على مستوى مساحات الانف.

هاته الدراسة الإستطلاعية إرتكزت حول الكشف عن مختلف الإصابات الرئوية و التي لوحظ منها 2660 ضرر تواجد على مستوى رئت الأغنام التي تم مراقبتها وذلك بنسبة (20.21%)، وهذا راجع إلى الإصابة بالالتهاب الرئوي القصبي الحاد (31.58%) ، الالتهاب الرئوي الدودي (7.85%) ، الالتهاب الرئوي الليفي (5.83%)، الالتهاب الرئوي الخلالي (3.87%)، الالتهاب الرئوي القيحي (2.03%)، الورم الغدي الرئوي (3.68%)، الانخماص (13.53%)، انتفاخ الرئة (5.34%)، الداء العداري (2.26%)، التهاب ذات الجنب (10.53%) والخراج القيحي (6.88%). بالإضافة لذلك، الموسم والعمر كان لهما ارتباط بحدوث بعض الاصابات الرئوية.

فيما يخص مستضدات BPI3V ، تم الكشف عنها في 12 عينة (11.21%) باستخدام تقنية المباشرة للأجسام المضادة المشعة. وتميز تعبيرها المرضي النسيجي بتضخم القصبات الهوائية ، تثخين الحاجز بين الحوصلات الهوائية ، تضخم للمفاوي ، تسلل الخلايا الالتهابية والوذمة داخل الحوصلات الهوائية.

كلمات البحث: فيروس نظير الأنفلونزا البقري 3، الأغنام، الانتشار المصلي، ELISA ،عوامل الخطر، RT-PCR ،

الاصابات الرئوية، علم الأمراض التشريحي، تقنية المباشرة للأجسام المضادة المشعة ، الجزائر.