

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ BATNA-1
INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT LMD

Filière

Sciences Vétérinaires

Option

Virologie Vétérinaire

Présentée Par :

KARECHE Hadda

THÈME

Étude de l'infection par le virus influenza équin (EIV)
chez les équidés en Algérie

JURY

Président : Omar BENNOUNE

Examineur : Leila AOUN

Examineur : Kamel AISSAT

Examineur : Nouzha HELEILI

Rapporteur : Farouk LAABASSI

Co-rapporteur : Janet M. DALY

Grade et Université

Professeur- U. Batna-1

Professeur- U. El-Tarf

Professeur- U. Batna-2

Professeur- U. Batna-1

Professeur- U. Batna-1

Professeur- U. Nottingham

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2024/2025

Remerciements

Tout d'abord, je voudrais louer et remercier **Allah**, le Tout-Puissant, qui a accordé d'innombrables bénédictions, connaissances et opportunités à l'auteur, lui permettant ainsi de finalement accomplir la thèse.

En plus de cela, je tiens également à exprimer ma gratitude à

Prof. Omar BENNOUNE (Président)

Département des Sciences Vétérinaires, Institut des Sciences Vétérinaires et Sciences Agronomiques, Université Batna-1.

Qui a eu la gentillesse d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Avec tout mon respect et ma considération.

Prof. Leila AOUN (Examineur)

Département des Sciences Vétérinaires, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'El-Tarf.

Pour sa précieuse contribution en évaluant notre travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude.

Prof. Kamel AISSAT (Examineur)

Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Batna-2

Pour l'honneur qu'elle nous a accordé en examinant notre travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements.

Prof. Nouzha HELEILI (Examineur)

Département des Sciences Vétérinaires, Institut des Sciences Vétérinaires et Sciences Agronomiques, Université Batna-1

Pour son temps et son expertise dans l'évaluation de ma thèse.

Nous souhaitons témoigner notre sincère reconnaissance.

Prof. Farouk Laabassi (Directeur de thèse)

Département des Sciences Vétérinaires, Institut des Sciences Vétérinaires et Sciences
Agronomiques, Université Batna-1

Je vous suis éternellement reconnaissant pour le partage de vos connaissances, votre expertise, votre orientation et vos encouragements constants du début jusqu'à l'achèvement final de ma thèse de recherche.

Prof. Janet M. Daly (Co-directeur de thèse)

École de Médecine Vétérinaire et Science, et Centre Wolfson pour la recherche mondiale sur
les virus, Université de Nottingham, Royaume-Uni.

Je ne saurais trop la remercier pour son immense soutien et son aide. Je me sens motivé et encouragé chaque fois que je la contacte.

L'Unité de Physiopathologie et Épidémiologie des Maladies Équines

ANSES-Laboratoire de Santé Animale en Normandie, Goustranville, France.

Un grand merci pour leur disponibilité et leur collaboration, pour leur aide précieuse dans la réalisation de ce travail.

Un sincère merci à tous les vétérinaires qui m'ont assisté tout au long de l'achèvement de ce travail.

J'exprime ma gratitude sincère à :

Mon père, **Salah**, et ma mère, **Rebaia**, pour leur éducation inébranlable, leurs efforts inlassables et leur soutien continu dans toutes les entreprises que je poursuis pour réaliser mes rêves et objectifs.

Mes sœurs : Hayat, Lamia, Bisma, Sara, Fadhila, et leurs maris.

Mon mari, Mahfoud, et sa famille, pour leur soutien indéfectible.

Toutes mes nièces et neveux.

Ma chère amie, Meriem.

J'aimerais également exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes que je n'ai peut-être pas nommées, mais qui se reconnaîtront sans aucun doute. Je n'oublierai pas les contributions de chacun d'entre vous.

Sommaire

Remerciements

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....I

Étude bibliographique

Chapitre I : Le Virus Influenza Équin (EIV)

1. Taxonomie et classification.....	1
2. Structure de l'EIV.....	2
2.1. Présentation générale.....	2
2.2. Génome.....	3
2.3. Les protéines du virus de la grippe équine.....	4
2.3.1. Hémagglutinine (HA).....	4
2.3.2. Neuraminidase (NA).....	4
2.3.3. Protéine matricielle M2.....	5
2.3.4. Protéine matricielle M1.....	6
2.3.5. Complexe polymérase (PB1, PB2, PA).....	7
2.3.5.1. Protéine basique (PB1).....	7
2.3.5.2. Protéine basique (PB2).....	7
2.3.5.3. Protéine acide (PA).....	7
2.3.6. Nucléoprotéine (NP).....	8
2.3.7. Protéine non structurale (NS1).....	8
2.3.8. Protéine d'exportation nucléaire (NEP).....	9
2.3.9. Protéine (PB1-F2).....	10
2.3.10. Protéine (PB1-N40).....	10
3. Propriétés physico-chimiques de l'EIV.....	10
4. Cycle de réplication.....	11
4.1. Activation et fixation du virus.....	11

4.2. Pénétration et décapsidation.....	11
4.3. Transcription et réplication du génome viral.....	11
4.4. Assemblage, bourgeonnement et libération des virions nouvellement synthétisés.....	12
5. Réponse immunitaire à l'infection grippale.....	13
5.1. Immunité innée.....	13
5.2. Immunité adaptative.....	13
5.2.1. Réponse immunitaire à médiation humorale.....	13
5.2.6. Réponse immunitaire à médiation cellulaire.....	14
6. EIV et variabilité.....	14
6.1. Glissement antigénique.....	14
6.2. Réassortiment.....	15

Chapitre II : La Grippe équine (EI)

1. Définition.....	16
2. Épidémiologie.....	16
3. Pathogénie.....	19
4. Signes cliniques.....	20
5. Lésions.....	21
6. Diagnostic	21
7. Traitement.....	23
8. Vaccination.....	24
8.1. Vaccins à virus entier inactivé.....	24
8.2. Vaccins sous-unitaires.....	25
8.3. Vaccin à ADN.....	25
8.4. Vaccins vivants atténués	25
8.5. Vaccins vecteurs vivants.....	26
8.6. Génétique inverse.....	27

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes.....	28
1. Matériel.....	28
1.1. Les échantillons sérologiques et les animaux	28
1.1.1. Description du vaccin utilisé : Equilis Prequenza Te.....	29

1.2. Echantillons virologiques.....	30
2. Méthodes.....	30
2.1. Analyse sérologique.....	30
2.2. Analyse virologique.....	33
2.2.1. Extraction d'ARN viral.....	33
2.2.2. Réaction en chaîne de polymérase.....	36
2.2.3. Séquence et analyse phylogénétique.....	36
2.3. Analyse statistique.....	37

Résultats & discussion

Résultats et discussion.....	38
1. Résultats.....	38
1.1. Séropositivité de la grippe équine par le test NP-ELISA	38
1.2. Facteurs de risque associés à la séropositivité de la grippe équine.....	38
1.2.1. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de l'espèce.....	38
1.2.2. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de la race.....	38
1.2.3. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de la région.....	39
1.2.4. Séroprévalence de la grippe équine en fonction du sexe.....	40
1.2.5. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de l'âge.....	40
1.3. Épidémiologie de la grippe équine qui a sévit en Algérie en 2021	40
1.3.1. La maladie clinique.....	40
1.3.2. Confirmation de la grippe équine par le laboratoire	41
1.3.3. Caractérisation de la souche virale impliquée dans l'épidémiologie de la grippe équine qui a sévit en Algérie en 2021.....	41
2. Discussion.....	49

Conclusion	54
-------------------------	-----------

Références

Liste des abréviations

AA :	Acide aminé
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
ADNc :	ADN complémentaire
ARN :	Acide Ribonucléique
ARNc :	ARN complémentaire
ARNm :	ARN messenger
ARNv :	ARN viral
BLASTn :	Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool
CIV:	Canine Influenza Viruses
CMI :	Immunité à médiation Cellulaire
CMH-II :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II
CRM :	Chromosome Region Maintenance
CCL :	C-C motif chemokine ligand
CXCL :	C-X-C motif chemokine ligand
EIV :	Equine Influenza Virus
EI :	Equine Influenza
ELISA :	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EN :	Écouvillons nasaux
FC :	Florida Clade
HA :	Hémagglutinine
HEPES :	Acide 4-(2-Hydroxyéthyl)-1-Pipérazine
HI :	Hemagglutination Inhibition
HRP :	Peroxidase de raifort
IAV:	Virus Influenza A
IC :	Intervalle de confiance
ICTV :	Le Comité International de Taxonomie des Virus
IFN :	Interféron
Ig :	Immunoglobuline
IgA :	Immunoglobuline type A
IgG :	Immunoglobuline type G
IgM :	Immunoglobuline type M
IL :	Interleukine
KDa :	Kilodalton

M1 :	Protéine de Matrice
M2 :	Protéine du Canal Ionique
MEM :	Minimum Essential Medium
NA:	Neuraminidase
NCBI :	National Center for Biotechnology Information
NEP :	Nuclear Export Protein
NLSs :	Signaux de la Localisation Nucléaire
NP :	Nucléoprotéine
NS :	Protéine Non Structurale
OIE :	Office International des Epizooties
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
OMSA :	Organisation Mondiale de la Santé Animale
ORF :	Cadre de lecture ouvert
PA :	Protéine acide
PB:	Protéine basique
PV :	Pseudotype Virus
PVNA :	Pseudovirus Neutralisation Assay
qRT-PCR :	Quantitative RT-PCR
RAD :	Détection Rapide d'Antigènes
RNP_v :	Ribonucléoprotéine virale
RT-PCR :	Reverse Transcription-PCR
SRH :	Single Radial Hemolysis
TGN :	Trans Golgi-network
TM :	Transmembranaire
TMB :	Tétraméthylbenzidine
UV :	Le rayonnement ultraviolet
VTM :	Viral Transport Medium
WHO :	World Health Organisation
WOAH:	World Organisation for Animal Health

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des <i>Orthomyxoviridae</i>	1
Tableau 2 : Les hôtes de différents sous-types d'hémagglutinine (H1 – H18) et de la neuraminidase (N1 – N9)	3
Tableau 3 : Composition du kit NucleoMag® VET pour 96 préparations	34
Tableau 4 : Composition du kit QuantiTect Virus pour 50 réactions	36
Tableau 5 : Séroprévalence du virus de la grippe équine détecté par le test NP-ELISA chez 298 équidés en Algérie, en 2021.....	38
Tableau 6 : Séroprévalence de l'EIV détecté par le test NP-ELISA au sein des races équines algériennes en 2021.....	39
Tableau 7 : Séroprévalence de l'EIV détecté par le test NP-ELISA chez les chevaux de race Arabe-Barbe dans les différentes régions algériennes de l'étude, en 2021.....	39
Tableau 8 : Séroprévalence de l'EIV détecté par le test NP-ELISA en fonction de la région.....	39
Tableau 9 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA en fonction du sexe du cheval en Algérie, en 2021.....	40
Tableau 10 : Séroprévalence de l'EIV détecté par le test NP-ELISA en fonction de l'âge du cheval en Algérie, en 2021.....	40
Tableau 11 : Détection de l'EIV par qRT-PCR chez les chevaux affectés durant l'épizootie de grippe équine qui à sévit en Algérie en 2021.....	41
Tableau 12 : Évaluation de la séroconversion et la détection du virus de la grippe équine (EIV) par le test NP-ELISA et qRT-PCR, respectivement, chez 5 chevaux malades non vaccinés durant l'épizootie de grippe équine qui à sévit en Algérie en 2021	44
Tableau 13 : Alignement des séquences d'acides aminés de la glycoproéine HA1 des souches algériennes détectées en 2021 par rapport aux souches de référence OIE incluses dans les vaccins (FC1 et FC2), aux souches FC1 récemment détectées et aux souches algériennes détectées en 2011.....	47

Tableau 14 : Alignement des séquences d'acides aminés de la glycoprotéine NA des souches algériennes détectées en 2021 par rapport aux souches de référence OIE incluses dans les vaccins (FC1 et FC2), aux souches FC1 récemment détectées et aux souches algériennes détectées en 2011.....	48
--	----

Liste des figures

Figure 1 : Nomenclature des Influenzavirus. Exemple d’Influenzavirus de type A humain (A) et équin (B).	2
Figure 2: Visualisation du virus influenza A par microscope électronique à contraste négatif (A), Représentation schématique du virus influenza A (B).....	4
Figure 3 : Représentation schématique de l’hémagglutinine (a) et de la neuraminidase (b) de l’IAV.....	5
Figure 4 : Présentation de la protéine M2 de l’IAV.....	6
Figure 5 : Représentation schématique de la RNP de l’IAV.....	7
Figure 6 : Différents domaines de liaison de NS1 de l’IAV.....	8
Figure 7 : Transport de la RNP de l’IAV.....	9
Figure 8 : Présentation schématique de la protéine NEP de l’IAV.....	9
Figure 9 : Présentation schématique de la réplication du virus de la grippe A dans une cellule épithéliale des voies respiratoires	12
Figure 10 : Transmission intra- et interspécifique du virus de la grippe équine.....	18
Figure 11 : Carte représentant la situation de la région du Maghreb sous les grandes voies de migration des oiseaux sauvages	19
Figure 12 : Écoulement nasal mucopurulent chez un cheval atteint de grippe équine lors de l’épizootie de 2021 en Algérie.....	20
Figure 13 : Carte du nord Algérien représentant les lieux de récolte des échantillons avant, pendant et après l’épizootie de grippe équine de 2021.....	28
Figure 14 : Analyse phylogénétique des gènes HA et NA du sous-type H3N8 de l’EIV des souches algériennes détectées en 2021. (A) Phylogénie du gène HA1 de 90 souches de l’EIV. (B) Phylogénie du gène NA de 50 souches de l’EIV. L’arbre phylogénétique a été créé en utilisant la méthode du maximum likelihood et du modèle Tamura-Nei avec 1000 bootstraps. Les souches algériennes détectées en 2021 sont en rouge, les souches algériennes de 2011 sont colorées en bleu et la souche algérienne de 1972 est colorée en magenta.....	45 – 46

Introduction

Les maladies respiratoires virales constituent une véritable menace pour la santé équine. Elles viennent en deuxième rang après les affections musculo-squelettiques en tant que principale cause de pertes chez les chevaux de course. Elles sont principalement d'origine virale, à savoir la grippe équine.

La grippe équine (EI, pour Equine Influenza), est une maladie virale grave des voies respiratoires supérieures chez les équidés, notamment les chevaux, les ânes et les mulets. Elle est très contagieuse et se transmet rapidement par voie respiratoire. Les équidés infectés par le virus de la grippe équine (EIV, Equine Influenza Virus) sont prédisposés à développer une infection bactérienne secondaire due à un dysfonctionnement du rôle de la barrière mucociliaire (Laabassi et al., 2012).

Les épizooties de grippe équine peuvent entraîner des pertes économiques importantes pour l'industrie équine à l'échelle mondiale. Ces épizooties peuvent interrompre les courses hippiques, les compétitions et les ventes... En 2011, l'Algérie a connu une importante épizootie de grippe équine, qui a apparue dans divers lieux et haras parmi les populations de chevaux pur-sang et non pur-sang. Environ 900 chevaux ont été touchés lors de cette épizootie, ce qui a entraîné l'annulation des courses dans tout le pays pendant une période de deux mois (Laabassi et al., 2015).

L'EI est causée par un virus appelé plus communément virus de la grippe équine, appartient au genre *Alphainfluenzavirus*, la famille des *Orthomyxoviridae* (ICTV, 2021). Deux sous-types d'EIV sont responsables de la grippe chez les équidés. Le sous type H7N7 (anciennement, équi 1) a été isolé pour la première fois à Prague (Tchèque, anciennement Tchécoslovaquie) en 1956 (Sovinova et al., 1958) et qui ne semble plus circuler à ce jour, la dernière épizootie datant de la fin des années 70 (Webster, 1993). Le sous type H3N8 (anciennement, équi 2), initialement isolé à Miami (USA) en 1963 (Waddell, 1963), qui continue de circuler de nos jours et le seul sous-type isolé chez les chevaux malades (Laabassi et al., 2015). L'analyse phylogénétique du gène HA a montré que le sous-type H3N8 des EIVs ont évolué à la fin des années 1980 en deux lignées distinctes, Eurasienne et Américaine (Daly et al., 1996). La lignée américaine est elle-même sub-divisée en trois sous-lignées : Argentin, Kentucky et Florida (Lai et al., 2001). Au début des années 2000, la sous-lignée Florida est subdivisée en deux clades : Florida Clade 1 (FC1) et Florida Clade 2 (FC2) (Bryant et al., 2011), qui circulent actuellement dans le monde entier. Les virus FC1 sont enzootiques en Amérique du Nord et les virus FC2 sont prédominants en Europe (Pellegrini et al., 2023). Cependant, les deux lignées sont à l'origine d'épizooties en Europe (Fougerolle et al., 2019; Paillot et al., 2019;

Whitlock et al., 2022a; Pellegrini et al., 2023), en Amérique du Sud (Mena et al., 2018; Castro et al., 2019) et en Asie (Yang et al., 2018; Yongfeng et al., 2020; Alaql et al., 2022; Nemoto et al., 2023). Plus récemment, des épizooties de virus FC1 et FC2 ont également été signalées en Afrique (Diallo et al., 2020; Shittu et al., 2020; Ahmed et al., 2022).

Dans la région du Maghreb, la circulation du virus grippal équin a été démontré depuis le début des années 1970. Jusqu'à ce jour aucune preuve d'isolement ou de caractérisation moléculaire de l'EIV n'a été documentée en Tunisie. Ainsi, les enquêtes épidémiologiques se limitent seulement à la détection des traces sérologiques de la grippe chez les différents équidés. Des isolats d'EIV ont été obtenus lors d'épizooties au Maroc en 1997 et en 2004. La séquence nucléotidique HA1 de l'isolat de 1997, démontrant son appartenance à la lignée européenne (Boukharta et al., 2013). De manière inattendue, les séquences génétiques de l'hémagglutinine et de la protéine non structurale 1 (NS-1) (Boukharta et al., 2015) des isolats de 2004, se sont regroupées dans la lignée pré-divergente, suggérant une « évolution gelée » (Kareche et al., 2022). Alors que les infections par la grippe équine sont enzootiques dans le monde entier, la maladie est réapparue en Algérie au cours de la première semaine de mars 2021 dans les wilayas de l'Est, Batna et Sétif, 10 ans après la deuxième épizootie de 2011 (Laabassi et al., 2015) et s'est propagée vers d'autres régions du pays.

Deux épizooties importantes ont été notifiées en Algérie en 1971/1972 et 2011. Les virus responsables du premier foyer en 1971-1972 étaient A/equine/Algiers/6/71 (H3N8) et A/equine/Algiers/1/72 (H3N8) et regroupés dans la lignée pré-divergente (Benmansour et al., 1977a, 1977b). En 2011, l'Algérie avait connu la deuxième épizootie de la grippe équine, affectant près de 900 chevaux dans de nombreuses Wilayas. Dix isolats de virus ont été identifiés comme H3N8 par séquençage des gènes de l'hémagglutinine et de la neuraminidase et ont été nommés de A/equine/Tiaret/1/2011 (H3N8) à A/equine/Tiaret/10/2011 (H3N8). L'alignement de la séquence d'acides aminés HA1 a confirmé que les virus appartenaient au Clade 2 de la sous-lignée Florida dans la lignée américaine (Laabassi et al., 2015).

Les objectifs de ce travail étaient d'évaluer la séroprévalence de la grippe équine en Algérie en fonction de certains facteurs épidémiologiques (âge, espèce, race, région et sexe), d'examiner le statut vaccinal des chevaux vaccinés sachant que la vaccination contre la grippe équine n'est pas obligatoire dans le pays et de décrire une image bien détaillée sur l'épizootie de la grippe équine qui a sévi en Algérie en 2021, en incluant l'analyse phylogénétique des gènes HA et NA de l'EIV détecté.

Étude Bibliographique

Chapitre I :
Le Virus Influenza Équin
(EIV)

Le Virus Influenza Équin (EIV)

1. Taxonomie et classification

Selon le Comité international de la taxonomie des virus (ICTV), le virus de la grippe équine fait partie de la famille des *Orthomyxoviridae*. Son nom vient de la combinaison de deux termes grecs "Orthos" qui signifie exact et "myxa" signifie mucus (Kuchipudi et Nissly, 2018). Actuellement, cette famille comprend sept genres et neuf espèces (Tableau 1).

Tableau 1: Classification des *Orthomyxoviridae* (ICTV, 2021).

Famille	Genre	Espèce
<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Alphainfluenzavirus</i>	<i>Influenza virus A</i>
	<i>Betainfluenzavirus</i>	<i>Influenza virus B</i>
	<i>Deltainfluenzavirus</i>	<i>Influenza virus D</i>
	<i>Gammainfluenzavirus</i>	<i>Influenza virus C</i>
	<i>Isavirus</i>	<i>Salmon Isavirus</i>
	<i>Quaranjavirus</i>	<i>Johnston Atoll quaranjavirus</i> <i>Quaranfil quaranjavirus</i>
	<i>Thogotovirus</i>	<i>Dhori thogotovirus</i> <i>Thogoto thogotovirus</i>

La grippe équine est causée par un virus du genre *Alphainfluenzavirus* (IAV, pour Influenza A Virus) de la famille des *Orthomyxoviridae* (ICTV, 2021). Le virus Influenza A (IAV) est transmis par les oiseaux sauvages, qui servent de réservoir naturel pour les humains, les équidés, les chiens, les mammifères marins, les chauves-souris et les porcs (Zhang et al., 2021).

L'*Alphainfluenzavirus* est classé selon les deux glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) (Gamblin et Skehel, 2010). Il existe seize sous-types de l'HA (H1 à H16) et neuf sous-types de la NA (N1 à N9) isolés chez les oiseaux sauvages, tandis que H17, H18, N10 et N11 n'ont été identifiés que chez les chauves-souris (Tableau 2) (Tong et al., 2013).

Théoriquement, il existe 198 combinaisons différentes de protéines HA et NA chez le virus influenza A. Cependant, toutes ces combinaisons n'ont pas encore été identifiées. Il est possible que certaines combinaisons n'existent pas ou que des recherches plus approfondies soient nécessaires pour les identifier. Dans le cas des chevaux, seuls deux sous-types HA (H3 et H7) ainsi que deux sous-types NA (N7 et N8) ont été identifiés (Tableau 2) (Jolly et al., 1986).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS ou WHO, pour World Health Organisation), la nomenclature des virus grippaux suit un format précis. Premièrement, le type du virus est désigné par A, B ou C. Si le virus n'est pas d'origine humaine, l'espèce hôte est indiquée. Ensuite, le lieu d'isolement, le numéro d'isolement et l'année d'isolement sont inclus, séparés par des barres obliques (Figure 1) (WHO, 1980).

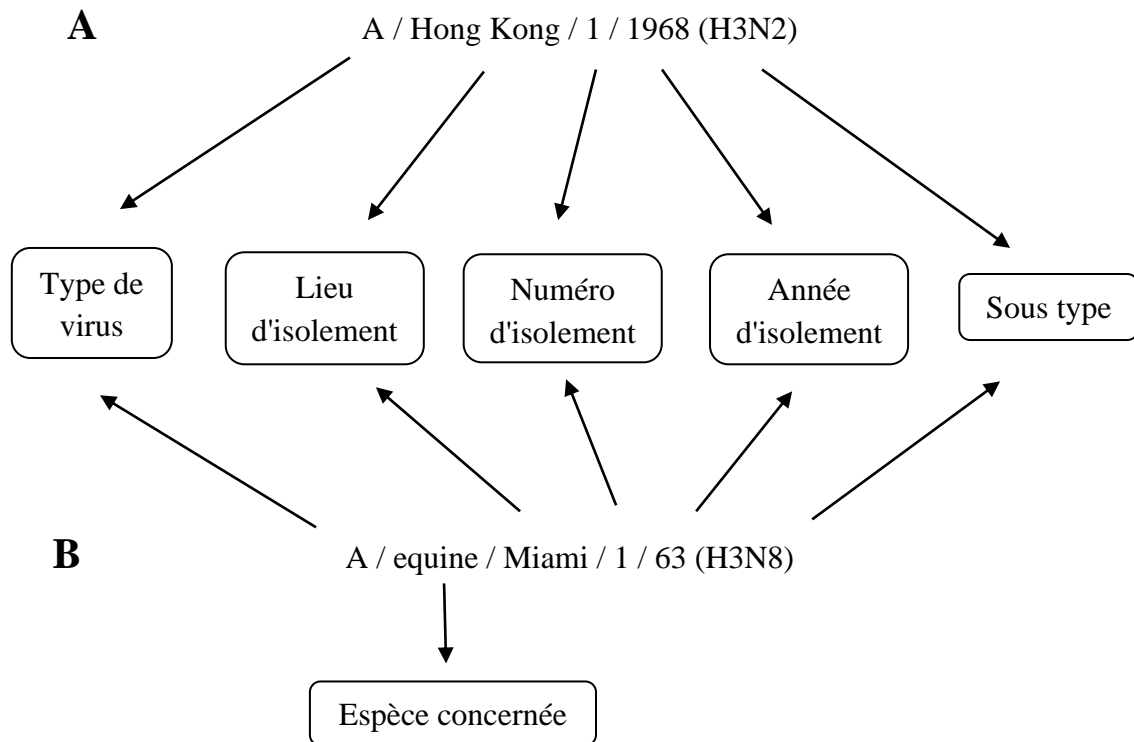


Figure 1 : Nomenclature des Influenzavirus. Exemple d'un Influenzavirus de type A humain (A) et équin (B) (Schéma réalisé par l'auteur).

2. Structure de l'EIV

2.1. Présentation générale

En microscopie électronique à contraste négatif, les virions de l'influenza A apparaissent sous forme pléomorphes, filamenteux mais deviennent sphériques lorsqu'ils sont cultivés dans le laboratoire, ils ont un diamètre de 80 à 120 nm (Dea et al., 1980; Maclachlan et Dubovi, 2016). Le virus de la grippe A est un virus enveloppé avec une bicouche lipidique dérivée de la membrane plasmique de la cellule hôte durant la phase de bourgeonnement, cette enveloppe contient trois glycoprotéines de surface : l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA) et le canal ionique M2. Sous l'enveloppe se trouve la matrice qui est formée par la protéine matricielle (M1) (Figure 2) (Webster et al., 1992).

Tableau 2 : Les hôtes de différents sous-types d'hémagglutinine (H1 – H18) et de la neuraminidase (N1 – N9) (Mostafa et al., 2018).

Sous-type HA	Sous- type NA	Humain	Porc	Equine	Ane	Volaille Domestique	Oiseaux aquatiques sauvagine	Mammifères marins (phoque / baleine)	Chauve- souris
H1	N1	H1/N1	H1/N1		N1	H1/N1	H1/N1	H1	
H2	N2	H2/N2	H2/N2			H2/N2	H2/N2	N2	
H3	N3	H3/N3	H3	H3	H3	H3/N3	H3/N3	H3/N3	
H4	N4	N4	H4			H4/N4	H4/N4	H4	
H5	N5	H5	H5		H5	H5/N5	H5/N5	N5	
H6	N6	H6/N6				H6/N6	H6/N6		
H7	N7	H7/N7		H7/N7	H7/N7	H7/N7	H7/N7	H7/N7	
H8	N8	N8		N8	N8	H8/N8	H8/N8		
H9	N9	H9/N9	H9			H9/N9	H9/N9	N9	
H10	N10	H10				H10	H10	H10	N10
H11	N11					H11	H11		N11
H12						H12	H12		
H13						H13	H13	H13	
H14						H14	H14		
H15						H15	H15		
H16						H16	H16		
H17									H17
H18									H18

2.2. Génome

A l'intérieur du virus, se retrouve un génome à ARN segmenté, simple brin de sens négatif d'une taille de 13,6 kb (Timoney, 1996; Van Maanen, et Cullinane, 2002; Bouvier et Palese, 2008). Le génome du virus Influenza A est composée de huit segments qui code onze protéines virales (Ruszkowska et al., 2016). Les trois premiers segments codent respectivement pour les protéines du complexe viral polymérase (la protéine basique polymérase 1 (PB1), la protéine basique polymérase 2 (PB2), et de la protéine acide polymérase (PA)), les segments quatre, cinq et six codent respectivement pour: l'hémagglutinine (HA), la nucléoprotéine (NP) et la neuraminidase (NA), le segment sept code pour les protéines matricielles M1 et M2, le huitième segment code pour la protéine non structurale 1 (NS1) et la protéine d'exportation nucléaire (NEP). De plus la protéine PB1-F2 codée par un cadre de lecture ouvert (ORF, pour Open Reading Frame) de PB1 (second segment) (Figure 2) (Chen et al., 2001).

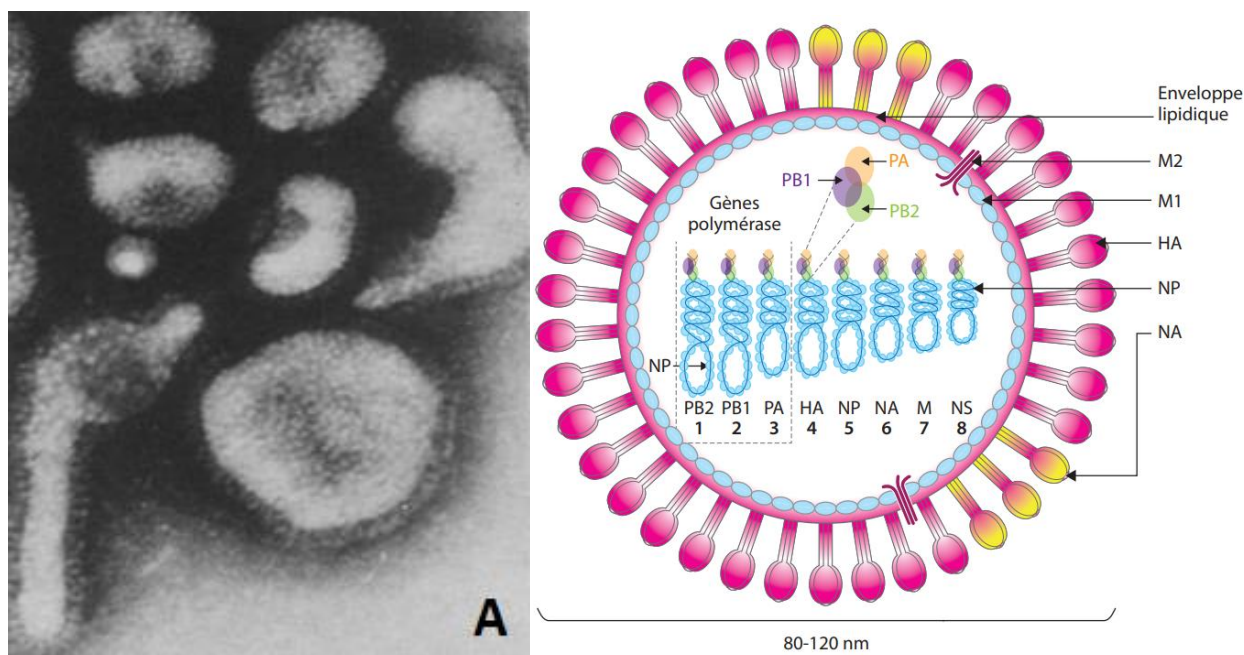


Figure 2 : Visualisation du virus influenza A par microscopie électronique à contraste négatif (A), Représentation schématique du virus influenza A (B) (Behillil et al., 2019).

2.3. Protéines du virus de la grippe équine

2.3.1. Hémagglutinine (HA)

L'hémagglutinine (HA) est un trimère de forme cylindrique allongée, constitué de deux régions distinctes : une tête globulaire contenant des résidus du HA1 et une tige fibreuse contenant des résidus des protéines HA1 et HA2 (Figure 3a) (Wilson et al., 1981). L'HA est la glycoprotéine de surface abondamment présente, dépassant les niveaux de la neuraminidase 5 à 10 fois (Wu et Wilson, 2020). Les sous-types H1 à H16 facilitent la fixation du virus à la membrane de la cellule hôte et la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane endosomale de l'hôte, alors que les sous-types H17 et H18 ne se lient pas aux acides sialiques et sont considérés comme des exceptions (Sun et al., 2013). Au lieu de cela, ces sous-types utilisent la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH-II) comme récepteur hôte (Karakus et al., 2019).

2.3.2. Neuraminidase (NA)

La neuraminidase (NA) est l'une des glycoprotéines de surface les plus importantes qui représente environ 10 à 20% des glycoprotéines totales de la surface du virion (environ 40 à 50 spicules par virion) et possédant une taille de 120 nm (McAuley et al., 2019). La NA est un homotétramère en forme de champignon qui a une longueur de 470 acides aminés avec un poids moléculaire de 240 kDa, où chaque monomère pèse ≈ 60 kDa. Sa structure tridimensionnelle

se compose de quatre domaines: la tête, la transmembrane, la tige qui relie ces deux derniers et la queue cytoplasmique (Figure 3b) (Varghese et al., 1983; Colman, 1994; Shtyrya et al., 2009; McAuley et al., 2019). Elle joue un rôle important dans la libération des virions nouvellement synthétisés, agissant pour interrompre la liaison du virus à la cellule hôte mourante par l'intermédiaire de l'HA, évitant ainsi l'assemblage des virions et empêchant la libération des virions nouvellement formés (McAuley et al., 2019). De plus, cette glycoprotéine de surface est impliquée dans l'entrée du virus de la grippe dans la cellule hôte, bien que le processus reste sous-estimé et nécessite des recherches ultérieures (Wen et Wan, 2019).

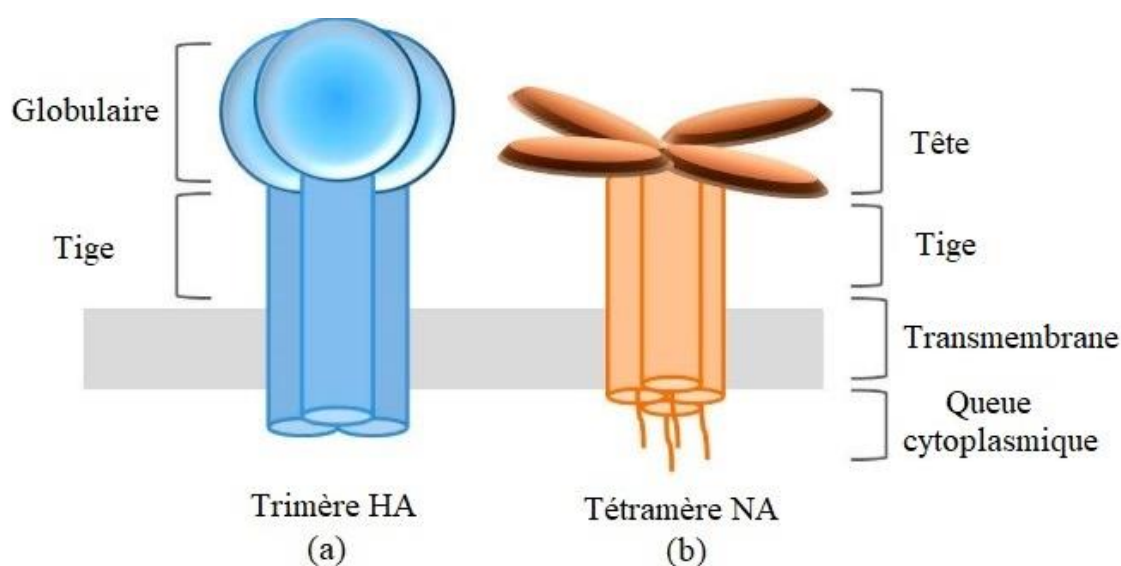


Figure 3 : Représentation schématique de l'hémagglutinine (a) et de neuraminidase (b) (Du et al., 2019).

2.3.3. Protéine matricielle (M2)

La protéine matricielle M2 est une protéine associée à un canal protonique à passage unique d'une taille de 97 acides aminés. Il se compose de trois domaines : un domaine N-terminal extracellulaire (1 à 23 résidus), un domaine transmembranaire (TM) (24 à 46 résidus) et un domaine C-terminal intracellulaire (47 à 97 résidus) (Figure 4) (Lamb et Choppin, 1981; Rossman et al., 2010; Pielak et Chou, 2011). La protéine M2 joue un rôle crucial dans l'entrée du virus dans la cellule par endocytose. Ses canaux ioniques contribuent à l'acidification des endosomes, conduisant à la séparation de la protéine M1 de la ribonucléoprotéine virale (vRNP) (Rossman et al., 2010). De plus, la protéine M2 joue un rôle important dans l'organisation de l'assemblage des virions (Schroeder et al., 2005).

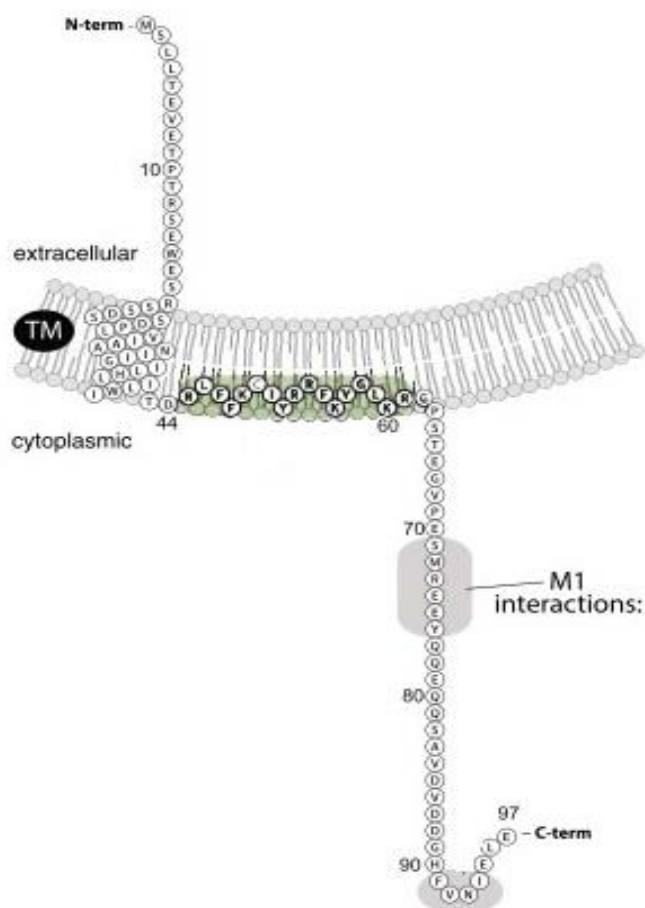


Figure 4 : Présentation de la protéine M2 de l'IAV (Claridge et al., 2020).

2.3.4. Protéine matricielle (M1)

La protéine matricielle M1, fait partie des protéines structurales responsables de la formation du virion. Elle tapisse toute la surface interne de l'enveloppe virale, d'où son nom « protéine matricielle ». La protéine M1 est constituée de 252 acides aminés avec un poids moléculaire de 27,9 kDa (Arzt et al., 2001). Il a été démontré que la protéine M1 joue un rôle crucial dans l'assemblage du virus. Elle interagit avec les terminaisons des protéines HA, NA et M2 et participe également avec la protéine de l'exportation nucléaire (NEP) des ribonucléoprotéines virales (vRNP) (Figure 5) (Schmitt et Lamb, 2005). La protéine M1 peut être divisée en quatre domaines. Le premier domaine est le domaine N-terminal, situé entre les acides aminés 1 et 66. Ce domaine est impliqué dans l'oligomérisation du M1. Le deuxième domaine, connu sous le nom de domaine de liaison ou lieu, s'étend sur les acides aminés 67 à 86, et facilite la liaison du M1 aux membranes. Le troisième domaine est le domaine M, situé entre les acides aminés 88 et 158, et agit comme médiateur des interactions entre les sous-unités M1 ainsi que des interactions avec la RNP. Enfin, le domaine C-terminal englobe les acides aminés 159 à 252 (Hom et al., 2019).

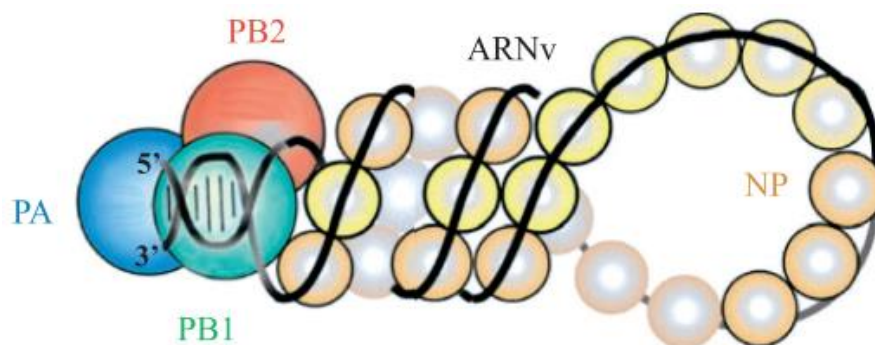


Figure 5 : Représentation schématique de la RNP de l'IAV (Naffakh et al., 2008).

2.3.5. Complexe polymérase (PB1, PB2, PA)

Le complexe polymérase du virus influenza est un hétérotrimère composé de la protéine basique polymérase 1 (PB1), de la protéine basique polymérase 2 (PB2) et de la protéine acide polymérase (PA) (Figure 5) (Biswas et Nayak, 1994).

2.3.5.1. Protéine basique (PB1)

La protéine basique 1 (PB1) est considérée comme le noyau du complexe polymérase hétérotrimérique du virus de la grippe. Il interagit avec la protéine acide via son extrémité N-terminale et avec la protéine basique 2 via son extrémité C (Chenavas et al., 2013). La sous-unité PB1 est codée par le segment 2 du génome viral et a un poids moléculaire de 87 kDa (Szewczyk et al., 2014; Stauffer et al., 2016). La PB1 possède à la fois une activité polymérase elle-même et une activité endonucléase. Son activité endonucléase lui permet de cliver les coiffes 5' des ARNm cellulaires (Mei-Ling Li, 2001).

2.3.5.2. Protéine basique (PB2)

La protéine basique 2 (PB2) est codée par le segment 1, et a un poids moléculaire de 86 kDa (Szewczyk et al., 2014; Stauffer et al., 2016). La sous-unité PB2 joue un rôle crucial lors du processus de cap-snatching, où elle reconnaît les coiffes 5' m⁷Gppp et permet ainsi leur clivage par PB1 (Shi et al., 1961; Mei-Ling Li, 2001; De Vlugt et al., 2018).

2.3.5.3. Protéine acide (PA)

La protéine acide (PA) a un poids moléculaire de 83 kDa et est codée par le segment 3 (Szewczyk et al., 2014; Stauffer et al., 2016). Sa fonction reste encore obscure. Selon certaines études, il semblerait joué un rôle central dans la transcription que dans la réplication (Fodor et al., 2002; Huarte et al., 2003). En particulier, on pense que la région N-terminale de la PA

contribue à la stabilité de la protéine et est impliquée dans l'activité endonucléase, ainsi que dans la fixation du capuchon et du promoteur à l'ARN viral (Hara et al., 2006).

2.3.6. Nucléoprotéine (NP)

La nucléoprotéine (NP) s'associe au complexe polymérase PB2, PB1 et PA, ainsi qu'à un seul brin d'ARN viral, pour former des RNP stables (Figure 5). Le monomère NP est une protéine de 56 kDa codée par le segment 5 du génome du virus de la grippe (Prokudina-Kantorovich et Semenova, 1996; Ka-Leung et al., 2009). En tant qu'unité structurelle des RNPs (Cianci et al., 2013), chaque monomère NP possède deux extrémités : une pour la liaison NP-ARN et l'autre pour l'interaction NP-NP, ce qui peut conduire à une oligomérisation spontanée (Ruigrok et Baudin, 1995). La NP est reconnue comme le composant majeur des vRNP et joue un rôle essentiel dans la transcription et la réplication du génome viral, ainsi que dans l'assemblage du complexe RNP (Huang et al., 1990).

2.3.7. Protéine non structurale (NS1)

La protéine non structurale (NS1) est une protéine spécifique de souches, composée de 215 à 237 acides aminés et a un poids moléculaire de 26 kDa (Na et al., 2016; Han et al., 2019). Cette protéine a de multiples fonctions dans le cycle viral, son rôle central étant l'inhibition de la réponse antivirale, interféron (IFN) (Quinlivan et al., 2005b). De plus, il est impliqué dans l'inhibition du clivage et de la polyadénylation (poly-A) des pré-ARNm de l'hôte (Marc, 2014). La protéine NS1 est composée de deux domaines fonctionnels distincts : un domaine de liaison N-terminal (1 à 73) à l'ARN et un domaine « effecteur » C-terminal (74 à 230) (Figure 6) (Wang et al., 2002; Chien et al., 2004).

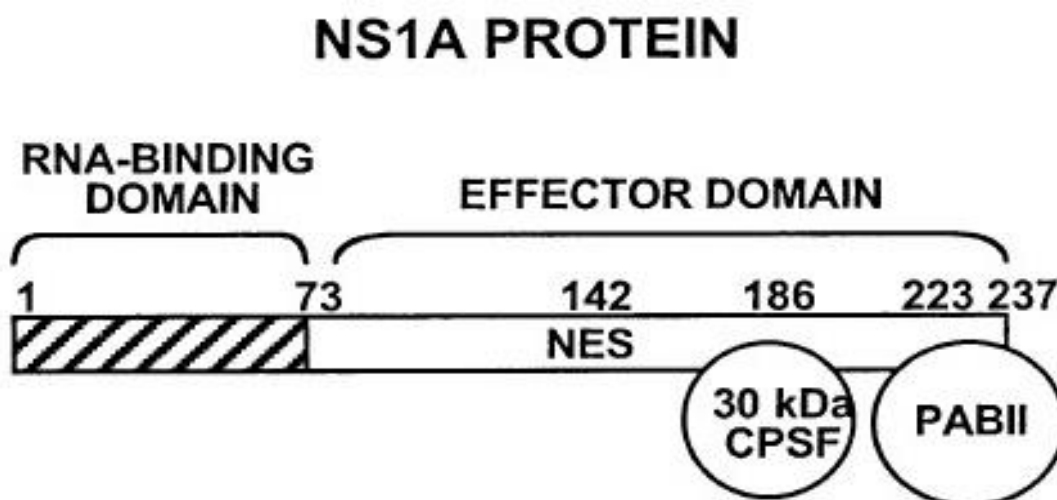


Figure 6 : Différents domaines de liaison de NS1 de l'IAV (Krug et al., 2003).

2.3.8. Protéine d'exportation nucléaire (NEP)

La NEP virale, précédemment connue sous le nom de protéine non structurale 2 (NS2), a été renommée en raison de son rôle dans le transport de l'ARN viral nouvellement synthétisé. Lors de l'infection, la NEP est localisée dans le noyau, où elle interagit avec la protéine M1 pour faciliter l'exportation de la RNP du noyau vers le cytoplasme (Figure 7) (O'Neill et al., 1998). Cette protéine est constituée de 121 acides aminés et possède une masse moléculaire d'environ 15 kDa (Darapaneni et al., 2009).

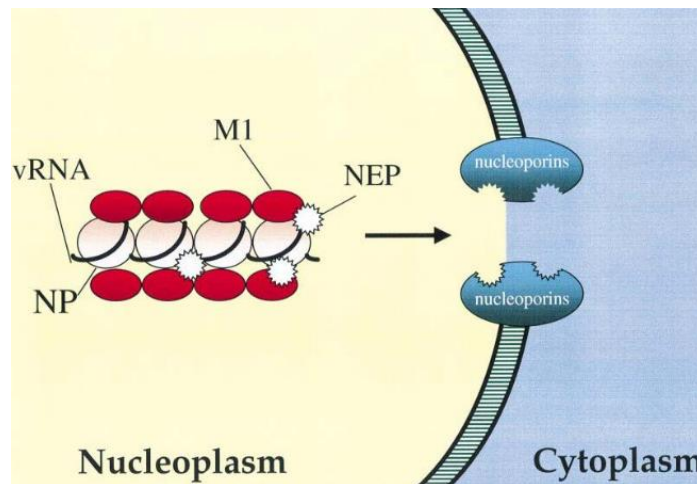


Figure 7 : Transport de la RNP de l'IAV (O'Neill et al., 1998).

Le NEP contient un domaine N-terminal (1 à 53 aa) responsable de la liaison à CRM1 (Chromosome Region Maintenance 1) et un domaine C-terminal (54 à 121 aa) impliqué dans la liaison à M1 (Figure 8) (Akarsu et al., 2003; Paterson et Fodor, 2012).

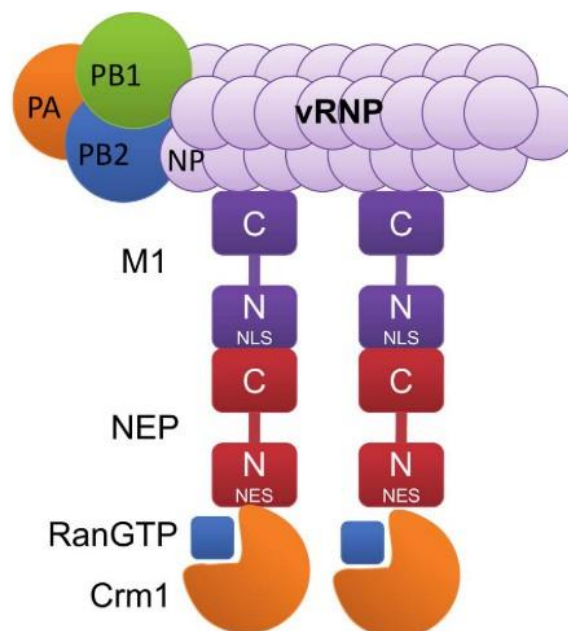


Figure 8 : Présentation schématique de la protéine NEP de l'IAV (Paterson et Fodor, 2012).

2.3.9. Protéine PB1-F2

La protéine PB1-F2, à été découverte récemment comme une protéine du virus grippal, caractérisée par une activité pro-apoptotique chez les cibles infectées. Elle à un cadre de lecture ORF alternatif +1 au sein du gène PB1. Son un poids moléculaire est de 10,5 kDa (Chen et al., 2001). Dans les cellules épithéliales pulmonaires, la protéine PB1-F2 du virus H5N1 hautement pathogène induit une réponse inflammatoire significative avec une apoptose réduite, entraînant la production de cytokines et de chimiokines telles que CXCL10 (C-X-C motif chemokine ligand 10), CCL5 (C-C motif chemokine ligand 5), CCL2 (C-C motif chemokine ligand 2), IFN (Interférons) et IL-6 (interleukine 6) (Pasricha et al., 2018). Une récente étude démontre que la la protéine PB1-F2 de la souche A/équine/Paris/1/2018, est plus longue que celle des autres souches appartenante au groupe clade 1 du sous-lignage Florida (90 acides aminés contre 81 acides aminés) (Kleij et al., 2024).

2.3.10. Protéine PB1-N40

La protéine PB1-N40 est un polypeptide identifié comme la troisième protéine codée par le segment 2 du virus de la grippe. Il est traduit du cinquième codon d'initiation AUG. La fonction exacte du PB1-N40 reste non élucidée. Cependant, il a été observé que les virus dépourvus de PB1-N40 présentent des taux de réplication plus lents (Wise et al., 2009).

3. Propriétés physico-chimiques de l'EIV

En raison de leurs propriétés structurales et biochimiques, les virus de la grippe sont inactivés par : la chaleur (à 56 °C pendant 30 minutes), la lumière UV (pendant 30 minutes), l'éther, les conditions acides (pH = 3), les solvants lipidiques, l'exposition au soleil (pendant 15 minutes à 15°C), et une humidité élevée, ce qui les rend très labiles dans des conditions environnementales ordinaires. Cependant, il est à noter que le virus infectieux de la grippe A a été récupéré dans l'eau froide d'un lac après 30 jours (Yadav et al., 1993; Maclachlan and Dubovi, 2016).

Le virus de la grippe peut persister pendant un certain temps sur la peau, les tissus et les surfaces contaminées. Sa survie est réduite dans des environnements plus humides. De plus, des études ont démontré que le virus peut être transféré des surfaces en acier inoxydable ou des mouchoirs en papier aux mains (Laabassi, 2016).

4. Cycle de réplication

Dans l'espèce équine le virus influenza A à un tropisme respiratoire, se réplique dans les cellules épithéliales ciliées des voies respiratoires supérieures et inférieures (Maclachlan et Dubovi, 2016). Au niveau des voies respiratoires, le virus provoque des lésions principalement dans les voies respiratoires inférieures (Muranaka et al., 2010). L'infection par le virus de la grippe équine se produit lorsque des particules d'aérosol infectieuses sont inhalées, qui se déposent ensuite sur la muqueuse des voies respiratoires supérieures et inférieures (van Maanen et Cullinane, 2002).

4.1. Activation et fixation du virus

Les particules virales s'attachent aux cellules épithéliales de la muqueuse respiratoire via la glycoprotéine de surface, l'hémagglutinine, se liant aux récepteurs de l'acide N-acétylneuraminique (Myers et Wilson, 2006). L'activation de cette dernière est cruciale pour le pouvoir infectieux du virus de la grippe (Bertram et al., 2010). Initialement, L'hémagglutinine est synthétisée sous forme d'une protéine précurseur appelée HA0 (75 kDa). En atteignant la membrane plasmique, HA0 subit un clivage, soit dans le réseau trans-Golgien (TGN, pour Trans Golgi-network), soit à la surface cellulaire, entraînant la formation de deux sous-unités : HA1 (55 kDa) et HA2 (25 kDa), qui restent liées par un pont disulfure (Skehel et Wiley, 1999; Böttcher-Friebertshäuser et al., 2013). La sous-unité HA1 contient des sites antigéniques de liaison au récepteur, tandis que la sous-unité HA2 facilite la fusion entre l'enveloppe virale et les membranes cellulaires (Steinhauer, 1999).

4.2. Pénétration et décapsidation

Après l'étape de fixation, le virus pénètre ensuite dans la cellule cible par endocytose, fusionne avec la membrane du phagosome (Myers et Wilson, 2006). L'acidification de l'endosome s'effectue par l'afflux de protons du canal M2 et par conséquent les ribonucléoprotéines virales se détachent de la matrice virale ce qui leur permet de diffuser dans le cytoplasme de la cellule hôte (Ciampor et al., 1992; Das et al., 2010), puis ils sont transportés vers le noyau, où ils atteignent des matrices de transcription et de réplication virales (Fodor, 2012).

4.3. Transcription et réplication du génome viral

Dans le noyau, le virus de la grippe subit des processus de transcription et de réplication facilités par le complexe polymérase (Guu et al., 2008). Toutes ces protéines sont transportées vers le noyau en reconnaissant les signaux de localisation nucléaire (NLSs) et avant que la transcription

ne se produise, l'ARN de sens négatif doit d'abord être converti en un ARN de sens positif, l'ARN viral dépendant de l'ARN polymérase commence la synthèse de l'ARNm viral à partir d'une matrice d'ARNv, impliquant un mécanisme de "cap-snatching" (Samji, 2009).

L'ARNm d'origine cellulaire a une queue poly-A à l'extrémité 5', donc pour l'exportation d'ARNm viral, la protéine NS1 avec son poids moléculaire (26 000) et sa forme dimère intervient pour inhiber l'exportation de molécules d'ARNm contenant des poly-A du noyau et permettent aux ARN viraux de se transporter vers le ribosome pour la traduction d'une part, d'autre part la protéine NS1 est également impliquée dans l'inhibition de l'épissage du pré-ARNm (Kamps et al., 2006).

4.4. Assemblage, bourgeonnement et libération des virions nouvellement synthétisés

La protéine non structurale 1 (NS1) de l'EIV, sert à la réplication de la particule virale et s'oppose aux défenses antivirales de la cellule. Il aide également à la pathogenèse de la maladie en contribuant à la synthèse des protéines virales et est impliqué dans le contrôle de la synthèse de l'ARNv (Marc, 2012). De plus, l'expression de la protéine non structurale du virus de la grippe A est capable d'initier l'apoptose dans les cellules infectées (Schultz-Cherry et al., 2001).

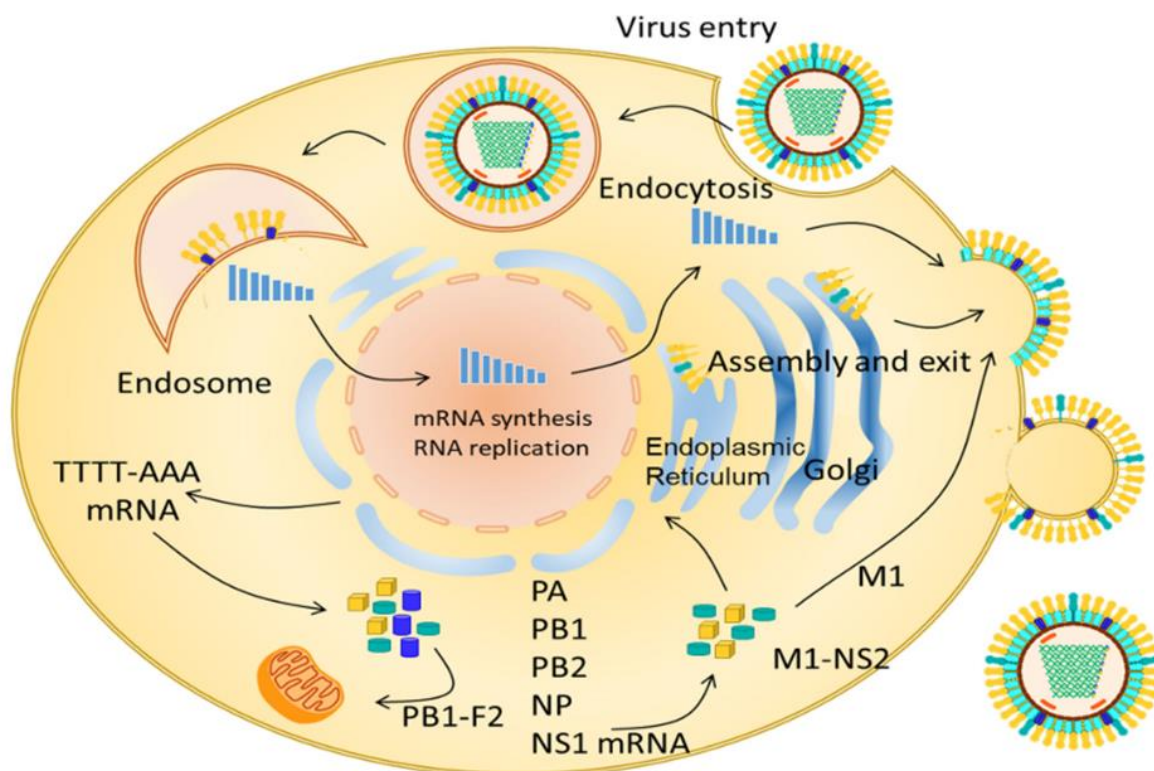


Figure 9 : Présentation schématique de la réplique du virus de la grippe A dans une cellule épithéliale des voies respiratoires (Gonzalez-obando et al., 2022).

Les protéines virales nouvellement synthétisées sont modifiées dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi pour être notamment glycosylées, les protéines NA

et HA se retrouvent alors au niveau de la membrane apicale de la cellule dans les radeaux lipidiques (Min et Subbarao, 2010). L'accumulation de ces protéines à la surface cellulaire initie le processus de bourgeonnement de l'enveloppe virale, la protéine M1 et les vRNP qui lui sont attachés sont incorporés dans la structure du virion qui continue de bourgeonner. Enfin, les protéines NA du virus libèrent le virus de la cellule en clivant les acides sialiques liés à la molécule HA (Figure 9) (Nayak et al., 2009; Samji, 2009; Rossman et Lamb, 2011).

5. Réponse immunitaire à l'infection grippale

Chez les équidés le mécanisme de la réponse immunitaire contre la grippe équine est semblable à celui du virus de la grippe humaine, implique à la fois des composants cellulaires et humoraux, ce qui conforte l'utilisation potentielle des chevaux comme modèle animal pour l'infection grippale et souligne l'importance d'étudier la réponse immunitaire équine (Horohov, 2015).

5.1. Immunité innée

Le système immunitaire inné joue un rôle important dans la réduction rapide et efficace des infections virales en contenant à empêcher la propagation du virus, ainsi que dans le déclenchement de la réaction immunitaire adaptative (Pang et Iwasaki, 2011). La réponse immunitaire innée est déclenchée par les récepteurs de reconnaissance qui induisent un état antiviral dans les cellules infectées et environnantes via la voie de l'interféron (Rehwinkel et al., 2010). Chez le cheval, l'infection des cellules épithéliales par le virus de la grippe équine (H3N8) provoque la synthèse locale des cytokines IL-6 et IFN-I (IFN α/β) (Wattrang et al., 2003).

5.2. Immunité adaptative

Afin de lutter contre la grippe équine, l'immunité spécifique à médiation cellulaire (réponses cytotoxiques des lymphocytes T) et humorale (anticorps systémiques et locaux) est essentielle à la guérison et à la résistance aux nouvelles infections (Hannant and Mumford, 1989; Hannant et al., 1989; Kamps et al., 2006). L'importance de la réponse immunitaire adaptative aux infections par l'EIV a été mise en évidence par une étude démontrant comment les anticorps dirigés contre l'hémagglutinine ont diminué rapidement après la primo-infection, tandis que les réponses IgG aux antigènes viraux entiers ont persisté plus longtemps (Hannant et al., 1988).

5.2.1. Réponse immunitaire à médiation humorale

Le premier mécanisme de défense adaptatif de l'hôte contre l'infection grippale, est la production d'anticorps neutralisants spécifiques à l'EIV dirigés contre les glycoprotéines de

surface (HA ou NA), aide à l'élimination du virus en inhibant son attachement aux cellules épithéliales respiratoires ainsi que sa libération par les cellules infectées (Oladunni et al., 2021). Une infection naturelle par le virus influenza équin fournit une protection immunitaire de longue durée, où une protection complète peut durer près de 32 semaines tandis qu'une protection partielle peut durer jusqu'à un an. Cette immunité sert à protéger les animaux contre la réinfection par le même sous-type viral en réduisant les signes cliniques et l'excrétion virale (Hannant et al., 1988). La primo-infection par le virus de la grippe équine (H3N8) produit des anticorps sériques IgG₁ et IgG₂ qui persistent longtemps, et des anticorps de type IgM qui persistent peu de temps. La surinfection induit une augmentation des taux d'IgM sériques et d'IgA avec la présence d'un taux élevé en IgG₁ et IgG₂ circulants (Hannant et al., 1989). De plus, lors de l'infection grippale la production des IgA sécrétoires (nasopharyngés) est tardive, avec un taux plus élevé et persiste longtemps que les IgG et les IgM sériques (Hannant et al., 1989; Ramsay et al., 1994).

5.2.2. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

Ce type de réaction immunitaire contre la grippe a été bien étudiée et élucidée chez l'homme que chez le cheval (Paillot et al., 2007). Grâce à l'engagement des récepteurs CD4 et CD8, qui pilotent les processus de signalisation, les lymphocytes T jouent un rôle essentiel dans l'éradication des agents pathogènes (Kapczynski et Segovia, 2020). Après un stimulus antigénique secondaire, ces cellules s'activent et manifestent une action contre les cellules infectées par le virus de la grippe en 3 à 4 heures (Hannant et Mumford, 1989).

Lors de la réinfection, les cellules mémoires des lymphocytes T cytotoxiques sont activées rapidement et induisent la destruction des cellules infectées par le virus de la grippe, cette destruction s'accompagne de la libération d'anticorps qui servent à neutraliser le virus libre (van Maanen et Cullinane, 2002).

6. EIV et variabilité

La variabilité antigénique du virus de la grippe résulte de deux mécanismes distincts :

6.1. Glissement antigénique

L'accumulation progressive de légères mutations au fil du temps, principalement sur le gène HA seul ou les gènes HA et NA, est attribuable à la faible fidélité et au manque d'activité correctrice de l'ARN polymérase ARN-dépendante du virus. Cet ensemble de phénomènes est à l'origine du glissement antigénique, connu sous le nom de "*drift*" (Hannoun, 1980). Il se produit par des mutations dans le gène, entraînant une accumulation de remplacement des séquences d'acides aminés. Ces changements altèrent les sites antigéniques de telle manière

qu'ils ne sont plus reconnus par le système immunitaire de l'hôte (Webster et al., 1982). Il a été démontré que la dérive antigénique de la souche H3N8 a un impact substantiel sur l'efficacité du vaccin, en particulier sur la prévention de la transmission que sur la protection clinique (Glass et al., 2002). Les souches issues de l'épizootie de 1978-1979 présentaient des différences mineures entre leurs génomes, tandis que les isolats suédois de 1979 à 1988 montraient une hétérogénéité génomique croissante indiquant une dérive génétique (Berg et al., 1990). Contrairement à la grippe aviaire et humaine, ni les dérives antigéniques rapides (drifts) ni les changements antigéniques fréquents (shifts) ne sont des caractéristiques de la grippe équine (Wilson, 1993; Whitlock et al., 2022b).

6.2. Réassortiment

Le changement complet des propriétés antigéniques survient par le remplacement d'un gène codant pour une protéine quelconque d'un sous-type par celui d'un autre. Ce processus peut ou non s'accompagner d'un remplacement du gène NA, induisant potentiellement un glissement antigénique appelé "*shift*" (Webster et al., 1982). En raison de la nature segmentée du génome du virus de la grippe, la co-infection simultanée d'un hôte par deux souches différentes du virus de la grippe A peut entraîner un réassortiment des gènes viraux segmentés, conduisant à la création d'un virus réassortant ayant de la capacité d'infecter d'autres espèces (Webster et al., 1992; van Maanen et Cullinane, 2002). L'analyse des nucléotides des virus H3N8 a montré un réassortiment de segments d'ARN codant pour NP, PB2 et PA entre les sous-types équins H7N7 et H3N8 et de segments d'HA et NS entre des souches distinctes de souches H3N8 (Bean, 1984; Okazaki et al., 1989; Gorman et Webster, 1990; Gorman et al., 1990; Bryant et al., 2009). Le virus A/equine/Pakistan/16 responsable de l'épizootie de grippe équine qui a touché la population équine non vaccinée au Pakistan en 2015–2016, était potentiellement un réassortant impliquant le virus aviaire A/poulet/Pakistan/1/04 (H7N3) et le virus canin A/canin/Beijing/10 (H3N2). Les gènes M et NP du A/equine/Pakistan/16 provenaient très probablement des gènes homologues du virus aviaire A/poulet/Pakistan/1/04 (H7N3) et se sont également révélés étroitement liés au virus de la grippe A canin et humain (A/canin/Beijing/10 (H3N2) et A/Italie/3/13 (H7N7)) (Khan et al., 2017).

Chapitre II :

La grippe équine (EI)

La Grippe Équine (EI)

1. Définition

La grippe équine (EI) est l'une des infections respiratoires les plus contagieuses des chevaux, des ânes et des mulets (Laabassi et Mamache, 2014). La grippe équine a une morbidité élevée, pouvant atteindre 100 % dans les groupes de chevaux sensibles, mais un faible taux de mortalité (van Maanen et Cullinane, 2002). Les sous-types H7N7 et H3N8 produisent des manifestations cliniques similaires, mais dans le cas de l'infection par le virus H3N8, elles sont plus graves (Webster, 1993).

2. Épidémiologie

Deux sous-types du virus Influenza A ont été responsables de la grippe équine. Le premier, H7N7 (sous-type 1 ou équin 1), a été isolé pour la première fois à Prague en 1956 (Sovinova et al., 1958). Ce sous-type était considéré comme la principale cause de la grippe chez les équidés. Cependant, le dernier isolement signalé du sous-type H7N7 chez des équidés à Bari en Italie en 1979 (Kostina et al., 2019). Le deuxième sous-type de l'EIV, H3N8 (sous-type 2 ou équin 2), a été isolé en 1963 à Miami aux USA chez des chevaux importés d'Argentine (Waddell, 1963; Scholtens et al., 1964), devenant ainsi la principale cause de la grippe équine de nos jours.

L'analyse phylogénétique du gène HA a montré que les EIVs H3N8 ont évolué à la fin des années 1980 en deux lignées distinctes, Eurasienne et Américaine (Daly et al., 1996). La lignée américaine est elle-même subdivisée en trois sous-lignées : Argentine, Kentucky, et Florida (Lai et al., 2001). Au début des années 2000, la sous-lignée Florida a été divisée en deux clades : Florida Clade 1 (FC1) et Florida Clade 2 (FC2) (Bryant et al., 2011), qui circulent actuellement dans le monde entier.

Les virus FC1 sont enzootiques en Amérique du Nord et les virus FC2 sont prédominants en Europe (Pellegrini et al., 2023). Cependant, les deux lignées sont à l'origine d'épizooties en Europe (Gahan et al., 2018; Fougerolle et al., 2019; Paillot et al., 2019; Whitlock et al., 2022a; Pellegrini et al., 2023), Amérique du Sud (Mena et al., 2018; Castro et al., 2019; Olguin-Perglione et al., 2020; Olguin-Perglione et Barrandeguy, 2021), Asie (Yang et al., 2018; Yongfeng et al., 2020; Alaql et al., 2022; Nemoto et al., 2023). Plus récemment, des épizooties de virus FC1 et FC2 ont également été signalées en Afrique (Diallo et al., 2020; Shittu et al., 2020; Ahmed et al., 2022).

Dans les pays où des mesures de quarantaine sont mises en œuvre et où la grippe équine peut être éradiquée, le virus de la grippe équine ne peut pas persister à long terme. Par contre, il peut persister dans les populations enzootiques présentant une circulation de faible intensité, avec

parfois de petites épizooties occasionnelles (Glass et al., 2002; Laabassi, 2016). À ce jour, l'infection par le virus de la grippe A est endémique dans le monde entier. Notamment, des pays tels que l'Australie et l'Afrique du Sud ont réussi à éradiquer la grippe équine après avoir connu des épizooties antérieures (Oladunni et al., 2021). En revanche, la Nouvelle-Zélande et l'Islande se distinguent en tant que les seuls pays comptant d'importantes populations de chevaux qui sont restées systématiquement indemnes de la grippe équine (Oladunni et al., 2021).

La grippe équine est une maladie saisonnière caractérisée par une brève période d'incubation de 1 à 3 jours, accompagnée d'une excrétion virale intense, en particulier au cours des premiers jours de l'infection, cette excrétion pouvant persister jusqu'à 8 jours (Powell, 1991; Paillot et al., 2006). Le virus peut se propager rapidement au sein d'une population équine sensible. La transmission de la grippe équine se produit principalement chez les chevaux par voie respiratoire, car les gouttelettes d'aérosol libérées lors de la toux peuvent infecter les chevaux dans un rayon de 32 mètres. De plus, les animaux peuvent contracter le virus par contact indirect avec des objets contaminés ou des individus qui ne respectent pas les pratiques d'hygiène (Timoney, 1996).

Le virus de la grippe A se transmet des oiseaux sauvages, qui lui servent de réservoir naturel, aux humains, aux équidés, aux chiens, aux mammifères marins, aux chauves-souris et aux porcs (Zhang et al., 2021).

L'émergence des deux sous-types du virus de la grippe équine chez les équidés est attribuée à une transmission directe par les oiseaux. En 1989, une épizootie massive de grippe s'est produite dans le nord-est de la Chine, affectant les chevaux et les ânes. Cette épizootie a été provoquée par un virus grippal H3N8 d'origine aviaire, distinct du virus H3N8 endémique présent chez les chevaux (Webster et Guo, 1991). Cette épizootie a infecté environ 20 000 chevaux, entraînant la mort de 400 personnes. Cependant, il semble qu'il n'ait circulé que quelques années avant de disparaître finalement (Saito et Webster, 1992). Il est intéressant de noter que le sous-type H3N8 semble avoir franchi les barrières entre espèces pour infecter les populations équines à au moins deux occasions distinctes. Cela pourrait être dû au fait que le sous-type H3N8 nécessite moins d'adaptation aux voies respiratoires des équidés ou qu'il est l'un des sous-types prédominants circulant parmi les oiseaux aquatiques sauvages (Yang et al., 2021).

Il a été démontré que le virus de la grippe A adapté aux équidés ne se transmettait pas facilement à d'autres espèces. Cependant, en janvier 2004, une équipe de recherche américaine a confirmé la transmission de la lignée H3N8 du virus influenza équin aux chiens, en particulier des lévriers de course (Crawford et al., 2005). De plus, il a été confirmé qu'un virus étroitement apparenté avait été rétrospectivement identifié comme ayant été transmis de manière indépendante des chevaux aux foxhounds au Royaume-Uni (Daly et al., 2008). En 2007, lors de l'épizootie

australienne de la grippe équine, la présence du virus influenza équin H3N8 a été confirmée chez des chiens vivant à proximité de chevaux infectés (Kirkland et al., 2010). Récemment, une analyse génétique du virus de la grippe canine (CIV) réalisée en Irak entre 2018 et 2019 a révélé l'isolement d'un virus de type H3N8 chez des chiens de chenil, présentant une similitude élevée avec le H3N8 équin isolé aux États-Unis (Abdulkareem et al., 2020). Entre 2004 et 2006, la surveillance du virus de la grippe porcine menée en Chine, a révélé la première transmission d'un H3N8 d'origine équin aux porcs (Tu et al., 2009). En 2013, une surveillance active des chameaux de Bactriane effectuée en Mongolie a abouti à l'isolement du virus de la grippe équine (H3N8) dans cette population (Figure 10) (Yondon et al., 2014). Il est important de noter qu'il n'existe actuellement aucune preuve documentée de la transmission de l'EIV aux chiens ou à d'autres espèces dans la région du Maghreb.

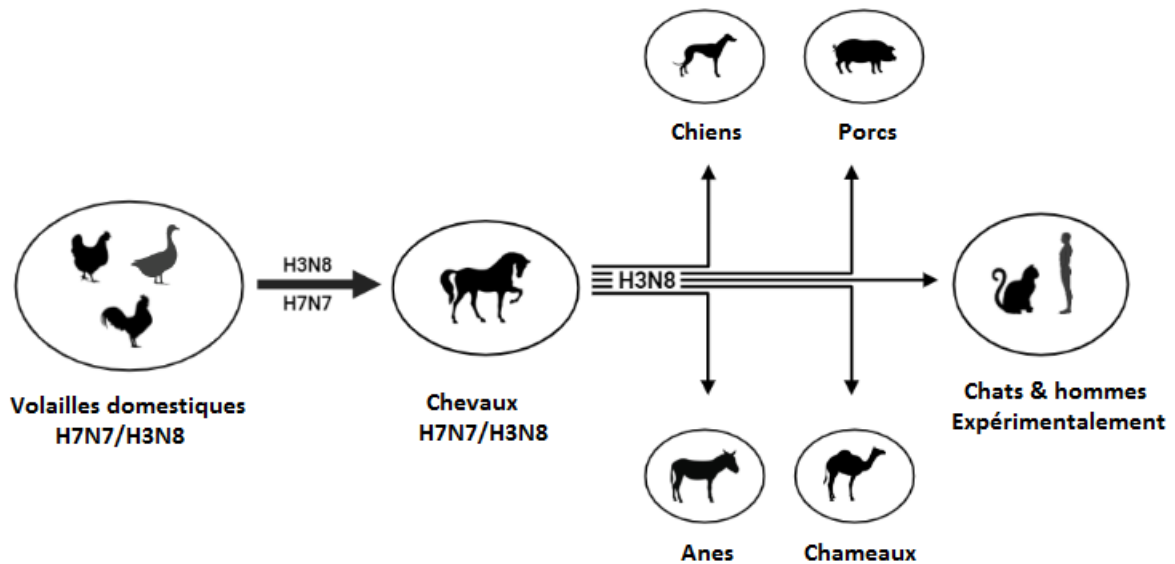


Figure 10 : Transmission intra- et interspécifique du virus de la grippe équine (Schéma réalisé par l'auteur).

Il existe une possibilité que les oiseaux sauvages migrateurs réintroduisent le H3N8 ou d'autres sous-types du virus de la grippe aviaire dans la population équine de la région du Maghreb. Cela présente un risque d'émergence de nouveaux virus de la grippe équine dans cette région, d'autant plus qu'ils se situent le long des routes migratoires des oiseaux sauvages (Figure 11) (Zanaty et al., 2019). Il est donc essentiel de mener une surveillance du virus de la grippe aviaire chez les oiseaux sauvages migrateurs afin de mesurer les risques potentiels du H3N8 ou d'autres sous-types d'IAV pour la population équine de la région du Maghreb.

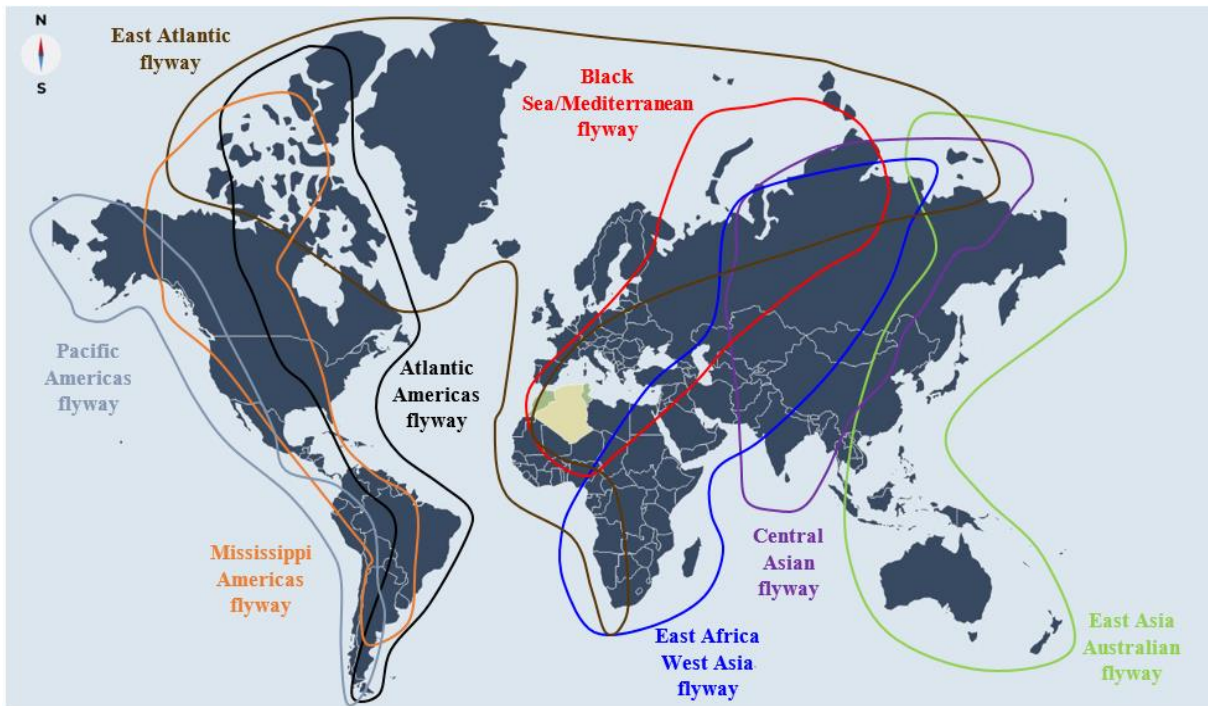


Figure 11 : Carte représentant la situation de la région du Maghreb sous les grandes voies de migration des oiseaux sauvages (Kareche et al., 2022).

3. Pathogénie

La grippe équine est l'une des infections respiratoires les plus contagieuses chez les équidés. Elle se produit naturellement par inhalation des particules virales en aérosol, lesquelles se déposent sur la muqueuse des voies respiratoires supérieures, mais également sur celle des voies respiratoires inférieures (Wilson, 1993). Le virus inhalé se fixe aux cellules épithéliales respiratoires grâce à ses spicules d'hémagglutinine, fusionne avec la cellule, puis est libéré dans le cytoplasme où il procède à sa réplication (Waghmare et al., 2010). La réplication du virus dans les cellules infectées conduit à la libération de nouveaux virions dans les voies respiratoires par bourgeonnement à partir de la membrane plasmique (Wilson, 1993). Après cela, les particules virales se propagent rapidement dans les voies respiratoires à partir des cellules infectées en 1 à 3 jours, cette propagation d'une cellule à l'autre provoque des modifications de la muqueuse respiratoire, une accumulation d'exsudat et une nécrose des cellules respiratoires, qui contribuent toutes à la détérioration des voies respiratoires avec altération des mécanismes de la clairance trachéale qui entraînant leur réduction jusqu'à 32 jours après l'infection (van Maanen et Cullinane, 2002; Kamps et al., 2006; Myers et Wilson, 2006; Singh et al., 2018). Le virus peut être isolé à partir de prélèvements nasopharyngés dans les 48 à 72 heures suivant l'infection. Entre le troisième et le quatrième jour après l'infection, d'importantes quantités de virus sont sécrétées dans les sécrétions des voies respiratoires,

surtout chez les chevaux naïfs (Wilson, 1993). L'excrétion du virus vivant est variable et peut persister pendant 7 à 10 jours (Chambers, 2014).

4. Signes cliniques

La gravité des signes cliniques chez les équidés est influencée par la souche virale spécifique et le statut immunitaire de l'hôte (Mumford et al., 1990). La fièvre, environ de 41°C, représente le premier symptôme de la grippe équine, est observée après une période d'incubation de 1 à 3 jours qui peut durer entre 4 et 5 jours, cet état pyrétique s'accompagne d'une dyspnée, d'une toux dure et sèche persistante et d'un écoulement d'abord séreux puis devenu mucopurulent (Figure 12) (Paillot et al., 2006).

Lors de l'atteinte par l'EIV on peut observer aussi l'anorexie, la dépression, la myalgie, l'œdème des membres, l'hypertrophie des ganglions lymphatiques mandibulaires, l'anémie, la leucopénie et la lymphopénie (Cullinane et Newton, 2013). La grippe équine est principalement associée à une broncho-pneumonie secondaire. L'infections des chevaux par le sous-type H3N8, à une plus forte incidence de l'inflammation du muscle cardiaque. Les poulains nouveau-nés n'ayant pas reçu de colostrum, contenant des anticorps dirigés contre le virus de la grippe équine, sont particulièrement vulnérables à la maladie et des signes neurologiques peuvent rarement être observés (Chambers, 2014).

Les ânes et les mulets présentent des signes cliniques similaires à ceux observés chez les chevaux, mais la maladie a tendance à être plus grave chez les ânes (Yang et al., 2018).



Figure 12 : Écoulement nasal mucopurulent chez un cheval atteint de grippe équine lors de l'épizootie de 2021 en Algérie (Kareche et al., 2022).

5. Lésions

Lors de la grippe équine, les lésions qu'elles soient macroscopiques ou microscopiques, ne présentent pas une spécificité marquée. Toutefois, la bronchiolite est une lésion fréquemment observée avec des exsudats séreux bilatéraux. Au niveau macroscopique, on note une consolidation pulmonaire diffuse étendue, accompagnée de modifications histologiques telles que la nécrose des bronchioles et des alvéoles, une infiltration des neutrophiles, la formation de membranes hyalines, ainsi qu'une hyperplasie et une métaplasie squameuse de l'épithélium des voies respiratoires (Patterson-Kane et al., 2008).

Les cas mortels présentent généralement une pneumonie lobulaire aiguë ou une bronchopneumonie (Strategy, 2007). L'examen post-mortem révèle fréquemment des alvéoles extrêmement gonflées, une exsudation fibrineuse et une pneumonie broncho-interstitielle typique, caractérisée par une bronchiolite nécrosante et des hémorragies (Yang et al., 2018).

Chez les poulains, l'examen post-mortem macroscopique a mis en évidence une pneumonie interstitielle diffuse sévère, ainsi qu'une hémorragie sous-durale sur la surface ventrale caudale du cerveau autour de l'hypophyse. Par ailleurs, l'examen histopathologique des poumons a identifié une bronchite nécrosante et une bronchiolite, accompagnées d'une métaplasie squameuse diffuse et d'une pneumonie interstitielle multifocale (Peek et al., 2004).

6. Diagnostic

Chez les chevaux, les signes cliniques permettent d'orienter le vétérinaire vers un diagnostic, mais eux seuls restent insuffisants pour confirmer la grippe équine, car d'autres maladies respiratoires infectieuses équines peuvent présenter les mêmes symptômes. La surveillance et le contrôle de l'EI nécessitent la détection des cas subcliniques avant de passer à un diagnostic de laboratoire visant à confirmer l'agent causal de la maladie. De plus, il est crucial de collecter et de conserver correctement les échantillons (Chambers et Reedy, 2014).

6.1. Diagnostic de laboratoire

6.1.1. Diagnostic virologique

- Les œufs de poule embryonné et/ou les cultures cellulaires peuvent être utilisés pour isoler le virus de la grippe équine à partir d'écouvillons nasopharyngés (ENPs) prélevés chez un cheval atteint (OIE, 2019a). Il est important de prélever le plus tôt possible les prélèvements nasopharyngés pendant la phase aiguë de la maladie. Cela augmente les chances d'obtenir une quantité adéquate du virus (Rash, 2017).
- Les tests rapide de détection des antigènes de l'EIV, bien que leur sensibilité soit très limitée (Yamanaka et al., 2016). L'immunochromatographie par amplification à l'argent est un test

de détection rapide des antigènes qui a une sensibilité plus élevée et des limites de détection cinq fois inférieures aux tests RAD (Rapid Antigen Detection) conventionnels (Yamanaka et al., 2017).

6.1.2. Diagnostic sérologique

Si la phase aiguë de la grippe équine est passée, des échantillons de sérum peuvent encore être prélevés pour étudier la cinétique d'apparition des anticorps (Rash, 2017).

- Le test d'inhibition de l'hémagglutination (HI, pour Hemagglutination Inhibition) a été développé dans les années 1940. Il sert à détecter la diminution de la liaison entre l'hémagglutinine et les globules rouges en présence d'anticorps (Hirst, 1942). Le test HI est recommandé par l'OMS, qui fournit un protocole détaillé pour sa réalisation (OIE, 2019a).
- Le test d'hémolyse radiale unique (SRH, pour Single Radial Hemolysis) est utilisé depuis la fin des années 1970 pour détecter les anticorps antigrippaux. La technique s'appuie sur l'hémolyse passive des globules rouges traités par le virus à l'aide d'un anticorps anti-hémagglutinine et du complément (Schild et al., 1975).
- Le test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), également connu sous le nom de dosage d'immunoabsorption enzymatique, a été inventé dans les années 1960 et a connu son développement ainsi que ses premières applications au cours des années 1970 et 1980 (Lequin, 2005). Cette technique est utilisée pour détecter les anticorps qui se lient aux protéines virales, généralement la nucléoprotéine structurale (Ji et al., 2011).
- Les virus pseudotypés (PV, pour Pseudotype Virus), générés par la co-transfection de cellules avec des plasmides exprimant des protéines centrales lentivirales et des protéines d'enveloppe virale (Scott et al., 2016). Les PV sont utilisés dans les tests de neutralisation virale des pseudovirus (PVNA, pour Pseudovirus Neutralisation Assay) pour déterminer la présence d'anticorps neutralisants dans les échantillons de sérum. Le PVNA est une nouvelle méthode qui se base sur la quantification des réponses en anticorps neutralisants, sans nécessiter l'utilisation de virus vivants ou de grandes quantités de sérum (Kinsley et al., 2016).

6.1.3. Diagnostic moléculaire

La réaction en chaîne par polymérase par transcription inverse (RT-PCR) et la PCR en temps réel sont largement utilisées dans les laboratoires de diagnostic de la grippe équine (Quinlivan et al., 2005a; Singh et al., 2018). La RT-PCR suivie du séquençage a été utilisée pour le diagnostic et le sous-typage de la neuraminidase (Alvarez et al., 2008). Par ailleurs, la RT-PCR TaqMan est utilisée pour la détection de la nucléoprotéine, la protéine matricielle et le gène HA des sous-types H7N7 et H3N8 (Lu et al., 2009). Des amorces spécifiques à la RT-PCR ont été

développées dans la région conservée de la matrice du génome viral de l'EIV pour réaliser un diagnostic efficace, rapide et sensible (Legrand et al., 2013; Aeschbacher et al., 2015). De plus, des amorces RT-PCR multiplex ont été testées, ce qui donne un large éventail d'applications dans la détection et le diagnostic des EIVs nouvellement émergents (Lee et al., 2016).

Une méthode de diagnostic rapide et sensible est récemment devenue disponible sur le marché. Le test cobas Influenza A/B & RSV pour le système cobas Liat (Roche Diagnostics) est basé sur une RT-PCR en temps réel ciblant la région conservée du gène matriciel. Elle permet la détection de l'ARN du virus de la grippe équine à partir d'ENPs de chevaux infectés en 20 minutes (Nemoto et al., 2020).

7. Traitement

Actuellement, il n'existe pas de traitement spécifique contre la grippe équine. Cependant, il est principalement symptomatique basé sur l'atténuation des signes cliniques. Il est recommandé de placer les chevaux malades, dans un local bien aéré sans poussière, associé à une bonne alimentation et de l'eau propre. Pour chaque jour de fièvre, une semaine de repos est nécessaire, puis après un repos complet un travail progressif est recommandé, car une charge de travail soudaine peut provoquer une bronchopneumopathie chronique obstructive et une myocardite (Wilson, 1993; Chambers, 1995).

Le traitement repose principalement sur l'administration d'antibiotiques à large spectre tels que la pénicilline G ou le triméthoprim / sulfonilurée qui sont administrés pour prévenir les infections bactériennes secondaires dues aux espèces *Actinobacillus* et *Streptococcus*. Des antihistaminiques et des anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que la phénylbutazone, la flunixin méglumine ou la dipyronne peuvent être administrés pour réduire la fièvre et la réponse inflammatoire des voies respiratoires (Wilson, 1993; Virmani et al., 2020).

De plus, la chimiothérapie antivirale est essentielle pour contrôler les infections grippales, en particulier chez les animaux exposés à un risque plus élevé d'infection grave et de complications (Doll et al., 2017). Des études expérimentales suggèrent que le Peramivir (analogue de l'acide sialique), l'Oseltamivir et le Zanamivir se distinguent comme les médicaments les plus couramment utilisés parmi les inhibiteurs de la neuraminidase (Young et al., 2001; Magano, 2009; Yamanaka et al., 2012), tandis que la Rimantadine inhibe le canal protonique M2 du virus de la grippe (Rees et al., 1999). Récemment, il a été rapporté que le Baloxavir Marboxil (BXM) est un inhibiteur de l'endonucléase cap-dépendante de la PA du virus de la grippe de type A, non seulement chez l'homme mais aussi chez le cheval (Nemoto et al., 2019).

8. Vaccination

La vaccination reste le moyen le plus efficace de prévenir et de contrôler la plupart des maladies infectieuses équines (Paillot et al., 2017), car elle permet de réduire les manifestations cliniques de la maladie, améliorant le bien-être des animaux, ainsi que de raccourcir la période de convalescence et réduire le risque d'infections secondaires. La vaccination réduit également l'excrétion virale dans l'environnement et diminuant la transmission du virus (Kostina et al., 2019).

Depuis 2010, selon l'organisation mondiale de la santé animale (OMSA ou WOAHA, pour World Organisation for Animal Health ; anciennement OIE, Office International des Epizooties) il n'est plus indispensable d'inclure les sous-types H7N7 et H3N8 de la lignée eurasiennne dans les vaccins car ces virus n'ont pas été isolés sur de nombreuses années de surveillance et sont donc supposés ne circuler pas. Les vaccins doivent inclure les virus de la sous-lignée Florida du clade 1 et du clade 2 (WOAHA, 2020).

9.1. Vaccins à virus entiers inactivés

Les vaccins à virus entier inactivé sont la première génération de vaccins contre la grippe équine en médecine vétérinaire, et ils se distinguent par l'absence de répllication virale et l'incapacité de générer une infection (Paillot et al., 2006). Le développement d'anticorps non seulement contre les antigènes de surface (HA et NA) mais aussi contre les protéines plus conservées (telles que NP ou M) de l'EIV est induit chez le cheval par ce type d'immunisation (Paillot, 2014). Les vaccinations à virus entier inactivé n'offrent qu'une protection à court terme, la production d'anticorps ne durant que quelques mois (moins de 100 jours), et ces anticorps sont de type IgG, qui ne peuvent pas fixer le complément. Avec la fabrication d'anticorps de classe IgA, ainsi que d'IgG2a et IgG2b, l'infection spontanée peut fournir une protection jusqu'à 12 mois (Nelson et al., 1998). Selon Ohta et *al.* (2020), l'administration de vaccins de manière séquentielle (par exemple, un vaccin inactivé suivi d'un vaccin vivant) plutôt que simultanément entraîne une réponse humorale plus importante. Une autre étude Japonaise a révélé que le FC2 devrait être inclus dans les vaccins contre la grippe équine, et que la souche la plus adaptée était A/équine/Yokohama/aq13/2010 (H3N8) (Yokohama/10) (Gamoh et Nakamura, 2017). Il a été démontré que le vaccin inactivé anti-EIV additionné d'huile de montanide ISA 206 comme adjuvant, offrait un niveau d'immunité satisfaisant avec des titres d'anticorps persistant 10 mois après la vaccination, chez le cheval et le porc. De plus, le vaccin a conservé ses propriétés immunogènes lorsqu'il est conservé à 4 °C pendant plus d'un an ou à température ambiante pendant 6 mois (Warda et al., 2021).

Dilai et coll. (2021) ont étudié l'impact de différents intervalles entre les primovaccinations contre la grippe équine chez les poulains pur-sang. L'étude a porté sur trois groupes de poulains qui ont reçu trois doses de vaccin (V1, V2 et V3) à différents intervalles. Quel que soit l'intervalle, tous les poulains ont montré une bonne réponse vaccinale après V2 et V3, surpassant les aspects cliniques et virologiques.

9.2. Vaccins sous-unitaires

Les vaccins sous-unitaires antigrippaux modernes combinent des protéines purifiées (HA et NA). La saponine de Quillaia (Quil A) ou incorporée dans des complexes immuno-stimulants (ISCOM) ou ISCOM-Matrix sont utilisées comme adjuvants dans cette forme de vaccin pour améliorer la réponse immunitaire (Paillot et al., 2006. Paillot et al., 2008). Les protéines virales ne sont pas couplées à la structure de cage ISCOM dans les vaccins ISCOM-Matrix, qui sont similaires aux vaccins ISCOM (Elton et Bryant, 2011). Chez les chevaux, les vaccins anti-EIV avec l'adjuvant ISCOM-Matrix stimulent à la fois les réponses immunitaires humorales et cellulaires (Paillot et Prowse, 2012). Un vaccin sous-unitaire et un vaccin à ADN basés sur l'HA du virus A/equine/Argentine/1/93 (H3N8) ont été récemment évalués chez la souris, avec une protection de 100 % pour les souches équines et de 70-100 % pour les souches humaines (Ibañez et al., 2018). Reemers et al. (2020) ont démontré que le vaccin Equilis Prequenza offre une protection efficace contre le FC1, avec réduction des symptômes et de l'excrétion virale.

9.3. Vaccins à ADN

L'administration des vaccins à ADN chez les chevaux a été approuvée au début du dernier siècle après leur réussite chez d'autres espèces telles que les souris et les furets (Fynan et al., 1993; Webster et al., 1994; Olsen et al., 1997). Ces vaccins impliquent l'inoculation d'ADN plasmidique, également appelée vaccination génétique ou vaccination par acide nucléique (Hassett et Whitton, 1996). Lorsque les plasmides contenant le gène de l'hémagglutinine sont administrés par voie intranasale ou sous-cutanée, ils assurent une protection grâce aux anticorps IgGa et IgGb mais pas aux anticorps IgA (Lunn et al., 1999; Soboll et al., 2003a; Soboll et al., 2003b). De plus, il a été démontré que l'administration des vaccins à ADN par voie sous-cutanée est plus efficace que leur administration par voie intramusculaire (Ault et al., 2012).

9.4. Vaccins vivants atténués

Ce type de vaccin induit une réponse immunitaire de longue durée chez le cheval en utilisant un virus grippal vivant qui a été manipulé pour perdre son activité infectieuse tout en conservant son potentiel de protection (Paillot, 2014). Leur forme intranasale (Flu Avert@I.N., Heska

Corporation) a été produite et approuvée pour la première fois aux États-Unis en 1999 (Kostina et al., 2019). Généralement, ces vaccins atténués sont adaptés au froid sur la base du fait qu'ils ont été produits par des passages en série de variantes de souches virales circulantes dans des embryons de poulet à des températures plus basses (34°C, 30°C, 28°C et 26°C), ainsi l'innocuité, l'efficacité et l'immunogénicité de ce type de vaccin ont été prouvées (Lunn et al., 2001; Youngner et al., 2001). Les vaccins antigrippaux vivants atténués sont plus efficaces que les vaccins inactivés car ils peuvent déclencher des réponses immunitaires innées et adaptatives (humorales et cellulaires) efficaces (Martínez-Sobrido et al., 2018).

En 2015, un vaccin vivant atténué a été développé en utilisant la génétique inverse, incorporant les gènes HA et NA de la souche sauvage eq/GA/81. Ce vaccin a démontré une protection complète contre les virus H3N8 homologues et hétérologues chez la souris (Baz et al., 2015).

En 2018, un autre vaccin vivant atténué contre l'EIV (H3N8) a été développé sur la base de la génétique inverse et a montré une sensibilité à la température. Ce vaccin peut être facilement mis à jour pour lutter contre les souches dérivées ou émergentes, offrant ainsi un excellent contrôle de la souche H3N8 de l'EIV circulant actuellement. Il a été démontré que ce vaccin offre une protection supérieure chez les souris et les chevaux, lorsqu'il sont exposés aux souches sauvages du virus (Rodriguez et al., 2018).

9.5. Vaccins à vecteurs vivants

Les vaccins à vecteurs recombinants vivants sont basés sur l'utilisation des virus non pathogènes qui ont été modifiés pour exprimer des gènes désignés provenant d'un agent pathogène spécifique (Paillot et al., 2006). ProteqFlu® (Boehringer Ingelheim, anciennement Merial) est le seul vaccin à vecteur vivant recombinant contre la grippe équine depuis 2003. Ce vaccin est constitué de deux virus canarypox recombinants qui servent de vecteurs d'expression des gènes HA des souches H3N8 du virus de la grippe équine A/equine/Ohio/03 (FC1) et A/equine/Richmond/1/07 (FC2) (Paillot et al., 2019; Reemers et al., 2020).

Une étude menée en 2016 sur des poneys de montagne gallois a évalué l'efficacité d'un vaccin recombinant contre la variole canarylique entièrement mis à jour. La vaccination comprenait deux virus canarypox recombinants exprimant l'hémagglutinine à partir des isolats A/equine/Ohio/03 (FC1) et A/equine/Richmond/1/07 (FC2). Lors de tests contre la souche A/equine/Richmond/1/07, les poneys vaccinés ont démontré une protection significative (Paillot et al., 2016).

Dans une étude plus récente portant sur 19 chevaux répartis en trois groupes : un groupe témoin (5 chevaux), un groupe vacciné avec un virus entier inactivé Equilis Prequenza (MSD Animal Health, anciennement Intervet) (7 chevaux) et un groupe vacciné avec le vaccin vectoriel

modifié ProteqFlu (Boehringer Ingelheim, anciennement Merial) (7 chevaux). Les résultats ont montré que tous les chevaux vaccinés développaient des titres d'anticorps anti-FC1 et anti-FC2, ainsi qu'une réduction des symptômes cliniques et de l'excrétion virale. De plus, les deux vaccinations offraient une protection comparable contre la récente souche sauvage FC2 (A/equi-2/Wexford/14) (Reemers et al., 2020).

9.6. La génétique inverse

La technologie de la génétique inverse permet la génération de virus grippaux à partir d'ADNc viraux clonés. Cette approche basée sur les plasmides, a été utilisée avec succès dans diverses installations de recherche sur la grippe depuis sa création en 1999 (Neumann, 2021).

La comparaison des réponses anticorps à un vaccin bivalent inactivé contre l'EI généré par la génétique inverse, possédant les gènes HA et NA des souches A/equine/Ibaraki/1/2007 (FC1) et A/equine/Yokohama/aq13/2010 (FC2), avec un vaccin bivalent inactivé (contenant les mêmes souches) contre l'EI disponible dans le commerce, dérivé du virus de la grippe équine de type sauvage chez des chevaux pur-sang. Les résultats suggèrent que le vaccin bivalent issu de la génétique inverse présente une immunogénicité équivalente à celle générée par un vaccin bivalent inactivé dérivé de virus sauvages. Cela indique qu'il est possible d'intégrer les virus générés par la génétique inverse dans la fabrication des vaccins multivalents et monovalents destinés aux chevaux (Ohta et al., 2021).

Partie Expérimentale

Matériel & Méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Les échantillons sérologiques et les animaux

Au total, 298 échantillons de sérum ont été collectés entre février et août 2021 sur des équidés distincts. 13 sérums provenant d'ânes âgés entre 8 mois et 11 ans dont 9 femelles et 4 mâles appartenant à des propriétaires privés des Wilaya de Batna et de Bordj Bou Arréridj, et 285 sérums de chevaux âgés entre 3 mois et 22 ans, dont 179 femelles et 106 mâles. Les chevaux provenaient de propriétaires privés et des hippodromes de différentes régions de l'Est (Batna, Bordj Bou Arréridj, Sétif et Skikda) et de l'Ouest Algérien (Mostaganem) (Figure 13).

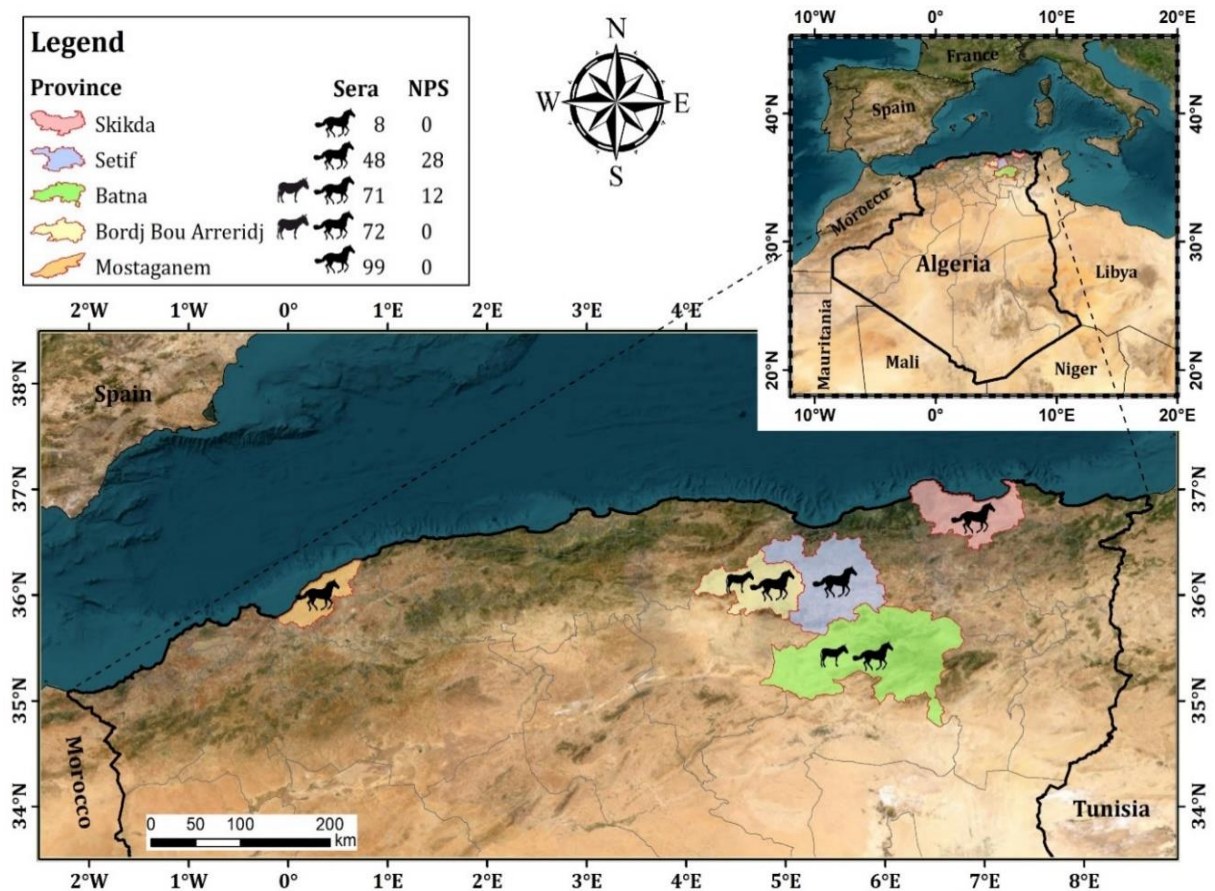


Figure 13 : Carte du nord Algérien représentant les lieux de récolte des échantillons avant, pendant et après l'épizootie de la grippe équine de 2021 (Figure réalisée à l'aide d'ArcGIS version 10.3).

Les échantillons sériques ont été collectés dans deux périodes distinctes. Ils ont été collectés sur les équidés dans les Wilaya de Batna et de Sétif durant le mois février 2021, alors que ceux provenant des régions de Bordj Bou Arréridj, Mostaganem et Skikda ont été réalisés au moins 4 semaines après l'épizootie de la grippe équine qui a sévit en Algérie durant la première

semaine du mois de mars 2021. De plus, un deuxième prélèvement sérique a été réalisé 3 à 4 semaines après les premiers échantillons sur 10 chevaux, dont un appartient à la région de Merouana (Wilaya de Batna) et neuf à la région d'El-Eulma (Wilaya de Sétif), présentant des signes cliniques similaires à ceux observés lors de l'atteinte par la grippe équine, durant l'épisode respiratoire de mars 2021. Après coagulation pendant 24 h à 4°C, les échantillons ont été centrifugés (3000 g pendant 15 min, à une température ambiante) et les sérums ont été recueillis puis conservés à -20°C jusqu'à analyse. Différentes races de chevaux ont été incluses dans cette étude (Pur-Sang Arabe, Pur-Sang Anglais, Barbe et d'autres races), dont la majorité nés et élevés en Algérie. Parmi les 285 chevaux testés dans la présente étude, seuls 54 chevaux de l'Haras Hocine El Mansour (Wilaya de Mostaganem) avaient été vaccinés contre l'EIV à l'aide d'un vaccin sous-unitaire ISCOM Matrix, Equilis Prequenza Te (MSD Animal Health, anciennement Intervet), entre septembre 2020 et juin 2021.

1.1.1. Description du vaccin utilisé : Equilis Prequenza Te

a. Propriétés

Equilis Prequenza Te est un vaccin sous unitaire indiqué contre la grippe équine, composé par l'hémagglutinine, des souches immunogènes du virus vaccinal, qui présente la propriété de stimulateur active de l'immunité contre l'influenza équine.

Le choix et la mise à jour des souches virales de la grippe équine (A/equi1/Prague/1/56, A/equi-2/Newmarket/1/93, A/equi-2/Newmarket/2/93), en fonction de l'apparition des nouveaux variants, ont été fait suivant les recommandations de l'WOAH et de l'WHO.

L'adjuvant exclusif de ce vaccin, ISCOM-MATRIX, permet de stimuler à la fois l'immunité humorale et cellulaire. Après injection, l'adjuvant et l'antigène HA sont rapidement transportés vers les nœuds lymphatiques, ne créant pas de dépôts au niveau musculaire. Ils y stimulent les Th-1 (à l'origine de l'immunité cellulaire) et les Th-2 (immunité à l'origine de l'humorale). L'immunité conférée contre la grippe est de 12 mois après la primo vaccination.

b. Composition

Chaque dose (1 mL) d'Equilis Prequenza Te contient :

		Adjuvant	
A/équine -1/Prague/1/56	100 UA*		
A/équine-2/Newmarket/1/93	50 UA	Saponine purifiée	375 µg
A/équine-2/Newmarket/2/93	50 UA	Cholestérol	125 µg
Anatoxine tétanique	40EF**	Phosphatidylcholine	62,5 µg

* UA : Unités antigéniques

** EF : Equivalent de la Flocculation, correspondant à ≥ 30 UI/ml de sérum de cobaye.

c. Mode d'administration pour les équins

L'administration d'Equilis Prequenza Te, se fait selon le protocole suivant :

c.1. Primo vaccination

- 1^{ère} injection à partir de 6 mois
- 2^{ème} injection 4 semaines plus tard

c.2. Rappel

- Le 1^{er} rappel (3^{ème} injection) contre la grippe équine est effectué 5 mois après la primovaccination. Il induit une immunité qui dure au moins 12 mois.
- Le 2^{ème} rappel est effectué 12 mois après le premier rappel.
- L'utilisation alternée, à 12 mois d'intervalle, d'un vaccin approprié contre la grippe équine, contenant les souches A/équine-1/Prague/1/56, A/équine-2/Newmarket/1/93, A/équine-2/Newmarket/2/93 est recommandé afin d'assurer le maintien des niveaux d'immunité vis-à-vis de la grippe.

En cas de risque d'infection élevé ou de prise colostrale, une injection initiale supplémentaire peut être ordonné à l'âge de 4 mois, suivie d'un protocole de vaccination complet (vaccination à l'âge de 6 mois et 4 semaines plus tard).

1.2. Echantillons virologiques

Des écouvillons nasopharyngés (ENP) ont été réalisés sur des chevaux (n= 40), âgés entre 1 et 11 ans dont 29 femelles et 11 mâles, présentant des signes cliniques de la maladie respiratoire, au cours de la première semaine du mois de mars 2021. Ainsi, 28 chevaux appartenant à l'hippodrome de Bazer Sakra d'El Eulma (Wilaya de Sétif), 6 à l'hippodrome de Barika et 6 aux propriétaires privés de la région de Merouana (Wilaya de Batna) (Figure 13). La majorité des chevaux de l'étude sont de race Pur-Sang Arabe, Pur-Sang Anglais et Barbe. Les ENPs ont été placés dans 5 ml du milieu de transport viral (VTM, pour Viral Transport Medium) composé du tampon de phosphate salé (PBS, pour Phosphate Buffered Saline), 5 000 U/mL de pénicilline, 250 mg/mL d'amphotéricine B et 2 % v/v sérum de veau fœtal (SVF) et transporté immédiatement sous froid au laboratoire, puis conservé à -20°C jusqu'à analyse.

2. Méthodes

2.1. Les analyses sérologiques

Selon les instructions du fabricant, les 298 sérums sanguins ont été analysés à l'aide du coffret ELISA, ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-Species (Innovative Diagnostics

(ID), Montpellier, France) pour la détection des anticorps anti-nucléoprotéine (NP) du virus de la grippe A.

2.1.1. Description et principe

- Les puits sont sensibilisés par la NP du virus Influenza A.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Si les anticorps anti-NP présents, on assiste à la formation un complexe antigène-anticorps qui masque ces épitopes.
- Un conjugué anti-NP marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe sur les épitopes NP restés libre, formant ainsi un complexe antigène-conjugué HRP.
- Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par la solution TMB.
- La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :
 - En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, apparition d'une coloration bleue qui devient jaune après l'ajout de la solution d'arrêt.
 - En présence d'anticorps dans l'échantillon, aucune coloration ne sera apparue.
- La lecture se réalise à 450 nm.

2.1.2. Composants du coffret ID Screen® Influenza A Antibody Competition Multi-Species

a. Les réactifs

- Puits sensibilisés par la NP
- Conjugué (concentré 10X)
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Tampon de dilution 3
- Tampon de dilution 2
- Solution de lavage (concentrée 20X)
- Solution de révélation
- Solution d'arrêt (0,5 M)

b. Matériel supplémentaire requis mais non fourni

- Pipette de précision, mono ou multicanaux pour mesurer des volumes de 10 µl, 100 µl et 300 µl.

- Embouts de pipettes à usage unique.
- Un lecteur de microplaques de 96 puits.
- Eau distillée ou déminéralisée.
- Système de lavage manuel ou automatique.

2.1.3. Procédure

a. Préparation des échantillons

Pour réduire les différences des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une microplaque de 96 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transférer dans la plaque ELISA à l'aide d'une pipette multicanaux.

b. Préparation de la solution de lavage

Si nécessaire, ramener la solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) et bien l'agiter pour assurer la dissolution des cristaux. Préparez la solution de lavage (1X) de l'eau distillée/déminéralisée.

La qualité de l'étape de lavage peut influencer les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration).

c. Distribution des échantillons et contrôle

- 90 μL du tampon de dilution 2 dans chaque puit.
- 10 μL de contrôle positif dans les puits A1 et B1.
- 10 μL de contrôle négatif dans les puits C1 et D1.
- 10 μL de chaque échantillon à tester dans les puits restants.

d. Incubation de la plaque

Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes (± 6 minutes) à 37°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$).

e. Lavage

- Videz les puits.
- Lavage de tous les puits (5 fois) avec un minimum de 300 μL de solution de lavage.
- Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.

f. Incubation du conjugué

- Préparer le conjugué 1X en diluant le conjugué 10X au $1/10^{\text{ème}}$ dans le tampon de dilution 3.
- Distribuer 50 μL du conjugué 1X dans chaque puit.
- Couvrir la plaque et incuber 30 min (± 3 min) à 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).

g. Lavage

- Videz les puits.
- Laver 3 fois chaque puit avec un minimum de 300 µL de la solution de lavage.
- Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.

h. Révélation

- Distribuer 50 µL de la solution de révélation dans chaque puit.
- Couvrir la plaque et incuber 10 min (\pm 1 min) à 21°C (\pm 5°C) dans l'obscurité.
- Distribuer 50 µL de la solution d'arrêt dans chaque puit pour arrêter la réaction.
- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

i. Validation

Le test est validé si :

- La valeur moyenne de la densité optique des contrôles négatifs (DOCN) est supérieure à 0,700.

$$DO_{CN} > 0.700$$

- La valeur moyenne de la densité optique des contrôles positifs (DOCP) est inférieure à 30% de la valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs (DOCN).

$$DO_{CP} / DO_{CN} < 0.3$$

j. Interprétation

- Pour chaque échantillon, calculer le pourcentage de compétition (S/N%) :

$$S/N \% = (DO_{\text{échantillon}} / DO_{CN}) \times 100$$

- Les échantillons présentant une valeur S/N % :
 - Supérieure ou égale à 50 % sont considérés comme négatifs.
 - Entre 45% et 50% sont considérés comme douteux.
 - Inférieure ou égale à 45 % sont considérés comme positifs.

2.2. Les analyses virologiques**2.2.1. Extraction de l'ARN viral**

Les ENPs ont été plongés dans 2 ml de milieu essentiel minimum (MEM) (Gibco 31095) sans liquide céphalo-rachidien (LCR), avec un acide aminé non essentiel (NEAA, pour Non Essential Amino Acid) 1X, pyruvate de sodium 1X, pénicilline/streptomycine 1X, HEPES 25 mM. 200 µl ont été utilisés pour l'extraction de l'ARN avec l'extracteur automatique King Fisher à l'aide du kit NucleoMag®VET (Macherey-Nagel, Allemagne) (Tableau 3) conformément aux instructions du fabricant. Les acides nucléiques ont été élués dans un volume final de 100 µL et stockés à -80 ° C jusqu'à analyse.

Tableau 3 : Composition du kit NucleoMag® VET pour 96 préparations.

Composants	Nombre et/ou Volume
Billes B NucleoMag®	2 × 1.25 mL
Tampon de lyse VL1	30 mL
Tampon de liaison VEB	110 mL
Tampon de lavage VEW1	75 mL
Tampon de lavage VEW2	75 mL
Tampon d'éluion VEL	30 mL
ARN porteur (lyophilisé)*	400 µg
Tampon d'ARN porteur	500 µL
Protéinase K (lyophilisé)*	75 mg
Tampon protéinase PB	8 mL

* : solutions à préparer (voir au-dessous "c. Isolement de l'ARN viral à partir des ENPs")

a. Protocole

b. Préparation des ENPs

- Incuber les écouvillons avec du PBS, du chlorure de sodium ou un milieu de culture cellulaire pendant 30 min en agitant.
- Retirez et essorez l'écouvillon.
- Purification dans 200 µL du tampon ou du milieu sans particules.

c. Isolement de l'ARN viral à partir des ENPs

Le protocole standard porte sur un volume d'échantillon de 200 µL (homogénéisé). Avant de procéder au protocole NucleoMag® VET, préparez les éléments suivants :

- Protéinase K : avant la première utilisation du coffret, ajoutez 3,35 mL du tampon protéinase PB à chaque flacon de protéinase K lyophilisée. La solution dissoute de protéinase K doit être conservée en aliquote à -20°C.
- ARN porteur : avant la première utilisation du coffret, ajoutez 500 µL du tampon ARN porteur à chaque flacon d'ARN porteur lyophilisé. Conservez la solution d'ARN porteur dissoute en aliquote à -20°C.

c1. Échantillon de lyse

On mélange bien, 200 µL d'échantillon (homogénéisé), 20 µL de protéinase K, 4 µL d'ARN porteur et 180 µL du tampon VL ; et en pipetant de haut en bas, puis on procède à une incubation à température ambiante pendant 15 min.

c2. Lier l'acide nucléique aux NucleoMag® B-Beads

Agitation du mélange de 600 µL de VEB et 20 µL de perles B pendant 5 à 10 min à température ambiante ou en pipetant de haut en bas (facultatif), puis on retire le surnageant après 2 min de séparation.

c3. Lavage par le VEW1

- Retirer le bloc de puits carrés de NucleoMag® SEP ;
- Ajouter 600 µL du tampon VEW1 ;
- Remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (1 à 3 min) ;
- Retirer et jeter le surnageant après 2 min de séparation.

c4. Lavage avec VEW2

- Retirer le bloc de puits carrés de NucleoMag® SEP ;
- Ajouter 600 µL du tampon VEW2 ;
- Remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (1 à 3 min) ;
- Retirer et jeter le surnageant après 2 min de séparation.

c5. Lavage par l'éthanol 80 %

- Retirer le bloc de puits carrés de NucleoMag® SEP ;
- Ajouter 600 µL d'éthanol 80 % ;
- Remettre les billes en suspension en agitant jusqu'à ce que les billes soient complètement remises en suspension (1 à 3 min) ;
- Retirer et jeter le surnageant après 2 min de séparation.

c6. Perles magnétiques séchées à l'air

- Sécher à l'air libre 10 min à température ambiante

c7. Eluer l'ARN

- Retirer le bloc des puits carrés de NucleoMag® SEP ;
- Ajouter 50 à 100 µL du tampon VEL dans chaque puit du bloc des puits carrés ;
- Agiter pendant 5 min à température ambiante ou mélanger en pipetant de haut en bas (facultatif) ;
- Séparation pendant 2 min et transfert de l'ARN viral dans des plaques/tubes d'élution.

2.2.2. Réaction en chaîne de polymérase

L'ARN élué a été testé pour la présence du virus de la grippe équine par la technique qRT-PCR en ciblant une partie du gène codant la protéine matricielle (M1), comme décrit Legrand et al. (2013). La qRT-PCR a été réalisée dans une réaction de 25 µL avec 2,5 µl d'ARN à l'aide du kit QuantiTect virus (Qiagen, Hilden, Allemagne) (Tableau 4) conformément aux instructions du fabricant. Les amorces et la sonde utilisées pour l'amplification étaient Mia-Eq-Forward (AATGGCTAAAGACAAGACC), Mia-Eq-Reverse (TTTGGACAAAGCGTCTAC) et Mia-Eq-Probe (CTGCAGTCCTCGCTCACTG). Les échantillons ont été incubés à 50 °C pendant 20 min puis à 95 °C pendant 5 min suivis de 45 cycles dans les conditions suivantes : 95 °C pendant 15 s, 60 °C pendant 45 s et ont été réalisés sur Mastercycler Ep Realplex (Eppendorf, France).

Tableau 4 : Composition du kit QuantiTect Virus pour 50 réactions.

Composants	Nombre et/ou Volume
5x QuantiTect Virus Master Mix*	0,5 ml
100x QuantiTect Virus RT Mix**	25 µl
Eau sans nucléase	2 ml
Dilution d'acide nucléique QuantiTect	1 flacon

* Contains HotStarTaq® Plus DNA Polymerase, QuantiTect Virus Buffer, dNTP mix (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), and ROX passive reference dye.

** Contains a unique formulation of Sensiscript® Reverse Transcriptase.

2.2.3. Séquence et analyse phylogénétique

Parmi tous les écouvillons nasaux positifs par RT-qPCR, nous avons sélectionné deux échantillons de chaque région pour une caractérisation plus approfondie des gènes codant pour les protéines HA et NA. La transcription inverse en ADNc a été réalisée à partir de 2 µl d'ARN extrait en utilisant SuperScript III (Thermo scientific). Les synthèses d'ADNc ont été réalisées à l'aide de l'amorce universelle UNI12 (AGCAAAAGCAGG). L'amplification PCR à partir de 2 µl de produits d'ADNc a été réalisée à l'aide de l'ADN polymérase de haute fidélité Phusion (Thermo scientific). Une (1) paire d'amorces a été utilisée pour le gène NA : EQ-N8-2F (GCAAAAGCAGGAGTTTAAAATG) / EQ-N8-1460R (GTAGAAACAAGGAGTTTTTTTCG) (Manuguerra et al., 2000), et 2 paires d'amorces pour le gène HA : EQ-H3 -9F (CAGGGGATATTTCTGTCAATCATG) / EQ-H3-1741R (AGTAGAAACAAGGGTGTTTTAAAC), EQ-H3-9F / EQ-HA-1686R (GCATCTGATGTTGCCTTTTTGGC) (Ilobi et al., 1998). Les échantillons ont été incubés à

95°C pendant 3 minutes, suivis de 35 cycles dans les conditions suivantes : 95°C pendant 30 secondes, 55°C pendant 30 secondes, 72°C pendant 120 secondes. Le programme se termine par un palier de 72°C pendant 5 min. Le séquençage a été réalisé par Eurofins (Cologne, Allemagne) selon la méthode Sanger. Après une recherche effectuée à l'aide de l'outil de recherche d'alignement local de base (BLASTn) disponible dans GenBank, National Center for Biotechnology Information (NCBI) pour identifier les séquences liées aux isolats d'EI dans la présente étude, l'analyse phylogénétique des séquences partielles HA1 a été éditée par le Logiciel Geneious Prime 2022.2.2 et aligné sur la version MEGA X 10.2.6 (Kumar et al., 2018). L'arbre phylogénétique a été créé à l'aide de la méthode du maximum likelihood et du modèle Tamura-Nei avec Nearest-Neighbor-Interchange avec 1000 répétitions bootstraps. La méthode d'alignement Clustal W a été suivie pour aligner les séquences d'acides aminés HA1.

2.3. Analyse statistique

Dans un premier temps, le test du Chi carré a été utilisé pour comparer le pourcentage d'anticorps anti-EIV détectés entre les ânes et les chevaux, et pour analyser les résultats sérologiques des 285 chevaux de l'enquête en étudiant les facteurs épidémiologiques (âge, race, sexe et origine géographique) susceptibles d'influencer sur la prévalence de l'EIV. La valeur de $p < 0,05$ a été considérée statistiquement significative. Une régression logistique ordinaire a été utilisée pour déterminer les facteurs de risque prédictifs de la séropositivité de l'EIV (la variable dépendante) avec des rapports de cotes (OR) et des intervalles de confiance (IC) correspondants à 95 % calculés pour chaque variable dans des analyses univariées. Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel RStudio Desktop (version 2022.07.1+554, <https://www.rstudio.com/>). Par ailleurs, le faible effectif d'ânes rend inutile la subdivision de cette population par tranches d'âge et l'étude des différents facteurs épidémiologiques.

Résultats & Discussion

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Séropositivité de la grippe équine par le test NP-ELISA

Un total de 298 échantillons de sérums équins provenant de 5 Wilayas Algériennes a été analysés par le test NP-ELISA pour détecter les anticorps dirigés contre la nucléoprotéine de l'EIV, parmi lesquels 147 (49,3 %) échantillons se sont révélés positifs, 50 % (149/298) négatifs et 0,7 % (2/298) douteux (Tableau 5).

1.2. Facteurs de risque associés à la séropositivité de la grippe équine

1.2.1. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de l'espèce

Nos résultats montrent que la prévalence des anticorps anti-EIV variait selon l'espèce d'équidés testés (Tableau 5). En effet, la prévalence des anticorps anti-EIV chez les chevaux était significativement plus élevée (Test du Chi carré, $p < 0,005$) que chez les ânes. Ainsi, 51,2 % (146/285) des chevaux possédant des anticorps reconnaissant la NP de l'EIV, alors que seulement 7,7 % (1/13) des ânes ont été détectés positifs.

Tableau 5 : Séroprévalence du virus de la grippe équine détectée par le test NP-ELISA chez 298 équidés en Algérie, en 2021.

	Nb. de sérums testés	Positif	Négatif	Douteux	$X^2 p$ -value	Odds Ratio	95% CI
Ânes	13	1 (7,7%)	12 (92,3%)	0 (0,0%)	< 0,005	1	2,16 – 277,61
Chevaux	285	146 (51,2 %)	137 (48,1%)	2 (0,7%)			
Total	298	49,3% (147/298)	50% (149/298)	0,7% (2/298)			

Nb. Nombre

1.2.2. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de la race

La race du cheval semble influencer le taux de séropositivité de l'EIV. Les résultats ELISA (Tableau 6) indiquent une prévalence significativement plus élevée d'anticorps anti-EIV chez les chevaux Arabe – Barbe ($p < 0,0001$), Selle Français ($p < 0,0001$), les autres races ($p < 0,005$) et les Pur-Sang Arabes ($p < 0,005$) par rapport aux chevaux Pur-Sang Anglais et ceux de la race Barbe. Les taux de séropositivité de l'EIV les plus élevés étaient respectivement de 76,5 %, 61 %, 54,2 % et 47,4 % chez les races Arabe – Barbe, Selle Français, autres races et Pur-Sang Arabe. À l'inverse, les Pur-Sang Anglais et les chevaux de race Barbe ont montré une séroprévalence de 25 % et 16,3 %, respectivement. Parmi les 52 chevaux Arabe – Barbe détectés séropositifs, 40 (58,9%) ont été échantillonnés dans les régions de Bordj Bou Arréridj et de Skikda, avec 35 (51,5 %) et 5 (7,3 %) pour chacune de ces régions, respectivement

(Tableau 7). Par ailleurs, parmi les 25 chevaux de Selle Français séropositifs, 21 (51,2 %) avaient été vaccinés contre l'EIV (Tableau 6).

Tableau 6 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA au sein des races équinnes algériennes en 2021.

Race	Nb. de sérums testés	Positif	Chevaux vaccinés	Chevaux non vaccinés	X^2 p-value	Odds Ratio	95% CI
Ar-Barbe	68	52 (76,5%)	0 (0%)	52 (76,5%)	< 0,0001	1	0,14 – 0,56
PS Ar	97	46 (47,4%)	28 (28,9%)	18 (18,6%)	< 0,005	0,29	0,21 – 1,13
Selle FR	41	25 (61%)	21 (51,2%)	4 (9,8%)	< 0,0001	0,48	0,02 – 0,17
Barbe	43	7 (16,3%)	0 (0%)	7 (16,3%)		0,06	0,02 – 0,42
PS Ang	12	3 (25%)	0 (0%)	3 (25%)		0,11	0,14 - 1
Autres	24	13 (54,2%)	1 (4,2%)	12 (50%)	< 0,005	0,37	
Total	285	146 (51,2%)	50 (17,5%)	96 (33,7%)			

IC : Intervalle de confiance ; Ar-Barbe : arabe-Barbe, PS Ar : Pur-sang arabe, Selle Fr : Selle Français, PS Ang : Pur-sang anglais.

Tableau 7 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA chez les chevaux de race Arabe-Barbe dans les différentes régions algériennes de l'étude, en 2021.

Region	Chevaux de race Arabe - Barbe		
	Nb. de sérums testés	Positif	Négatif
Batna	25	12 (17,6%)	13 (19,1%)
Bordj Bou Arréridj	37	35 (51,5%)	2 (2,9%)
Sétif	1	0	1 (1/5%)
Skikda	5	5 (7,3%)	0
Total	68	52 (76,5%)	16 (23,5%)

1.2.3. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de la région

La séroprévalence de l'EIV chez les chevaux variait selon les régions étudiées, notamment Bordj Bou Arréridj, Mostaganem, Sétif et Batna (Tableau 8), avec 65,7%, 57,6%, 35,4% et 31,7%, respectivement. Présentant des résultats significatifs au test Chi carré ($p < 0,005$ à $p < 0,05$). Ainsi, les 8 (100 %) chevaux de la région de Skikda ont été testés séropositifs à l'EIV. De plus, parmi les 54 chevaux protégés par le vaccin sous-unitaire à base d'ISCOM, Equilis Prequenza Te contre l'EIV, dans la Wilaya de Mostaganem, 50 (50,5%) ont été identifiés comme positifs par le test NP-ELISA.

Tableau 8 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA en fonction de la région.

Region	Nb. de sérums testés	Positif	Chevaux vaccinés	Chevaux non vaccinés	X^2 p-value	Odds Ratio	95% CI
Batna	63	20 (31,7%)	0 (0%)	20 (31,7%)		1	1,92 – 8,41
BBA	67	44 (65,7%)	0 (0%)	44 (65,7%)	< 0,005	3,96	0,51 – 2,56
Sétif	48	17 (35,4%)	0 (0%)	17 (35,4%)		1,15	
Skikda	8	8 (100%)	0 (0%)	8 (100%)			1,49 – 5,73
Mostaganem	99	57 (57,6%)	50 (50,5%)	7 (7,1%)	< 0,05	2,89	
Total	285	146 (51,2%)	50 (17,5%)	96 (33,7%)			

IC : Intervalle de confiance.

1.2.4. Séroprévalence de la grippe équine en fonction du sexe

Cette étude a montré une différence significative ($p < 0,05$) dans la séroprévalence de l'EIV entre les mâles (59,4 %) et les femelles (46,4 %) (Tableau 9). Ainsi, parmi les chevaux séropositifs, 28 mâles (26,4%) et 22 femelles (12,3%) avaient été vaccinés contre l'EIV.

Tableau 9 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA en fonction du sexe du cheval en Algérie, en 2021.

Sexe	Nb. de sérums testés	Positif	Chevaux vaccinés	Chevaux non vaccinés	$X^2 p$ -value	Odds Ratio	95% CI
Femelle	179	83 (46,4%)	22 (12,3%)	61 (34,1%)	< 0,05	1	1,05 – 2,81
Mâle	106	63 (59,4%)	28 (26,4%)	35 (33%)		1,71	
Total	285	146 (51,2%)	50 (17,5%)	96 (33,7%)			

IC : Intervalle de confiance.

1.2.5. Séroprévalence de la grippe équine en fonction de l'âge

La prévalence des anticorps anti-EIV démontre l'existence d'une différence significative en fonction de l'âge des chevaux testés, comme l'indique le Tableau 10. Le taux de séropositivité le plus élevé de l'EIV (61,9 %) a été observé chez les jeunes chevaux ($\leq 2,5$ ans). Ainsi, parmi les 39 jeunes chevaux séropositifs, 30 (47,6 %) ont été vaccinés contre l'EIV. En revanche, la prévalence de l'EIV chez les animaux les plus âgés (≥ 10 ans) est de 40,4 %.

Tableau 10 : Séroprévalence de l'EIV détectée par le test NP-ELISA en fonction de l'âge du cheval en Algérie, en 2021.

Âge (Année)	Nb. de sérums testés	Positif	Chevaux vaccinés	Chevaux non vaccinés	p -value	Odds Ratio	95% CI
$\leq 2,5$	63	39 (61,9%)	30 (47,6%)	9 (14,3%)	< 0,05	1	0,35 – 1,27
3 - 5	101	53 (52,5%)	18 (17,8%)	35 (34,7)		0,66	0,26 – 1,06
6 - 9	74	35 (47,3%)	1 (1,4%)	34 (45,9)		0,53	0,18 – 0,88
≥ 10	47	19 (40,4%)	1 (2,1%)	18 (38,3%)		0,40	
Total	285	146 (51,2%)	50 (17,5%)	96 (33,7%)			

IC : Intervalle de confiance.

1.3. Épizootie de la grippe équine qui à sévit en Algérie en 2021

1.3.1. La maladie clinique

La première information sur le déclenchement de cette épizootie a été reçu de la région d'El-Eulma (Wilaya de Sétif), au cours de la première semaine du mois de Mars 2021, marquant le début de l'apparition des premiers cas de chevaux affectés par la grippe équine en Algérie. Par la suite, la maladie s'est rapidement propagée à diverses régions du pays, affectant à la fois les populations de chevaux Pur-Sang et non Pur-Sang (Figure 13). Touchant ainsi plus de 1500 chevaux et entraînant l'annulation des courses à l'échelle nationale pendant deux mois.

Le taux de morbidité au cours de cet épisode respiratoire a atteint 100 %, ce qui signifie que tous les chevaux non vaccinés présentaient des signes cliniques suite à une infection par l'EIV. Les manifestations cliniques chez les animaux infectés comprennent de la fièvre allant de 39 à 40,6°C, un écoulement nasal muqueux, une toux sèche et quinteuse et une fatigue modérée. Dans les 2 à 3 jours qui suivent la maladie, l'écoulement nasal est devenu mucopurulent. Généralement la durée moyenne des symptômes est de 5 à 7 jours, alors que dans certains cas, la toux sèche et l'écoulement nasal mucopurulent persistaient jusqu'à 2 semaines. On a rapporté aussi quelques cas isolés de chevaux anorexiques.

1.3.2. Confirmation de la grippe équine par le laboratoire

La grippe équine a été confirmée par la détection du virus dans 39 ENPs par qRT-PCR. De plus, la séroconversion de 5 sérums par le test NP-ELISA (Tableau 11).

Nos résultats obtenus par qRT-PCR ont révélé la présence du génome de l'EIV dans des échantillons prélevés dans diverses régions de l'Est du pays, dont vingt-sept chevaux d'El-Eulma, six de Barika et six de Merouana (Tableau 12).

Tableau 11 : Évaluation de la séroconversion et la détection du virus de la grippe équine (EIV) par le test NP-ELISA et qRT-PCR, respectivement, chez 5 chevaux malades non vaccinés durant l'épizootie de grippe équine qui a sévit en Algérie en 2021.

Localisation/Ville	ID du cheval	Race	Sexe	Âge (Année)	Résultat ELISA		Résultat PCR
					Période d'échantillonnage		
					Mars 2021	Avril 2021	
El-Eulma/Sétif	1	Ar. TB	M	5	-	+	+
	2	Ar. TB	F	4	-	+	+
	3	Ar. TB	F	8	-	+	+
	4	Ar. TB	F	4	-	+	+
	5	Ar. TB	F	3	-	+	+

1.3.3. Caractérisation de la souche virale impliquée dans l'épizootie de la grippe équine qui a sévit en Algérie en 2021

Les résultats des séquences des gènes codant pour les glycoprotéines de surface HA et NA ont identifié l'agent pathogène comme étant le virus de la grippe A (H3N8). Toutes les séquences des gènes HA et NA décrites dans cette étude sont disponibles sur la base des données GenBank sous les numéros d'accès : OR405051 à OR405056 pour le gène HA et OR405057 à OR405061 pour le gène NA.

La comparaison des séquences nucléotidiques des gènes HA et NA a montré une similitude de 100 % entre les six isolats, indiquant qu'il s'agissait de la même souche virale qui s'est propagée

dans les régions de l'étude. La caractérisation moléculaire des séquences nucléotidiques des gènes HA1 et NA des séquences algériennes de 2021, comparées à celles de 90 HA1 et 50 NA disponibles sur la base de données GenBank, démontrent un résultat phylogénétique très intéressant. L'analyse phylogénétique de la séquence nucléotidique partielle du gène HA1 (Figure 14A) et la séquence nucléotidique du gène NA (Figure 14B) montre que les séquences algériennes détectées en 2021 appartiennent à la Clade 1 du sous-groupe Florida au sein du lignage Américain. Les séquences identifiées dans notre étude forment un cluster avec les virus isolés dans la période allant de 2018 à 2022 en Afrique, en Amérique, en Asie et en Europe, présentant un pourcentage d'identité allant de 98,58 % à 99,70 % pour le HA1 et de 97,43 % à 99,63 % pour la NA.

L'alignement des séquences partielles des acides aminés de la protéine HA a révélé que les séquences algériennes de 2021 sont identiques aux isolats : A/Equus_caballus/Paris/1/2018, A/Horses/Saudi_Arabia/CVRL-Ali/2019, A/equine/United_Kingdom/PM081 /2019 et A/equine/New_York/036952/2020, et ont montré une homologie comprise entre 96,04 % à 99,39 % avec les isolats : A/donkey/Nigeria/19RS459-5/2019, A/equine/Ohio/OH21-6023/2021, A/equine/Iowa/1/2021, A/equine/Florida/2/2022, A/equine/Yokohama/aa1/2022, A/equine/Kentucky/9/2004, A/equine/Ohio/1/2003 et A/Equine/South Africa/4/03.

Aussi, l'alignement de la séquence d'acides aminés de la protéine NA a confirmé le sous-type N8 des séquences algériennes détectées en 2021 et a montré une homologie de 99,62% avec les isolats : A/Horses/Saudi_Arabia/CVRL-Ali/2019, A/equine/New York/034924/2020, A/equine/United_Kingdom/PM080/2019 et A/Equus_caballus/Pas_de_Calais/1/2018 et variait de 96,07 % à 96,15 % avec les isolats : A/equine/Ohio/1/2003 et A/Equine/South Africa/4/03.

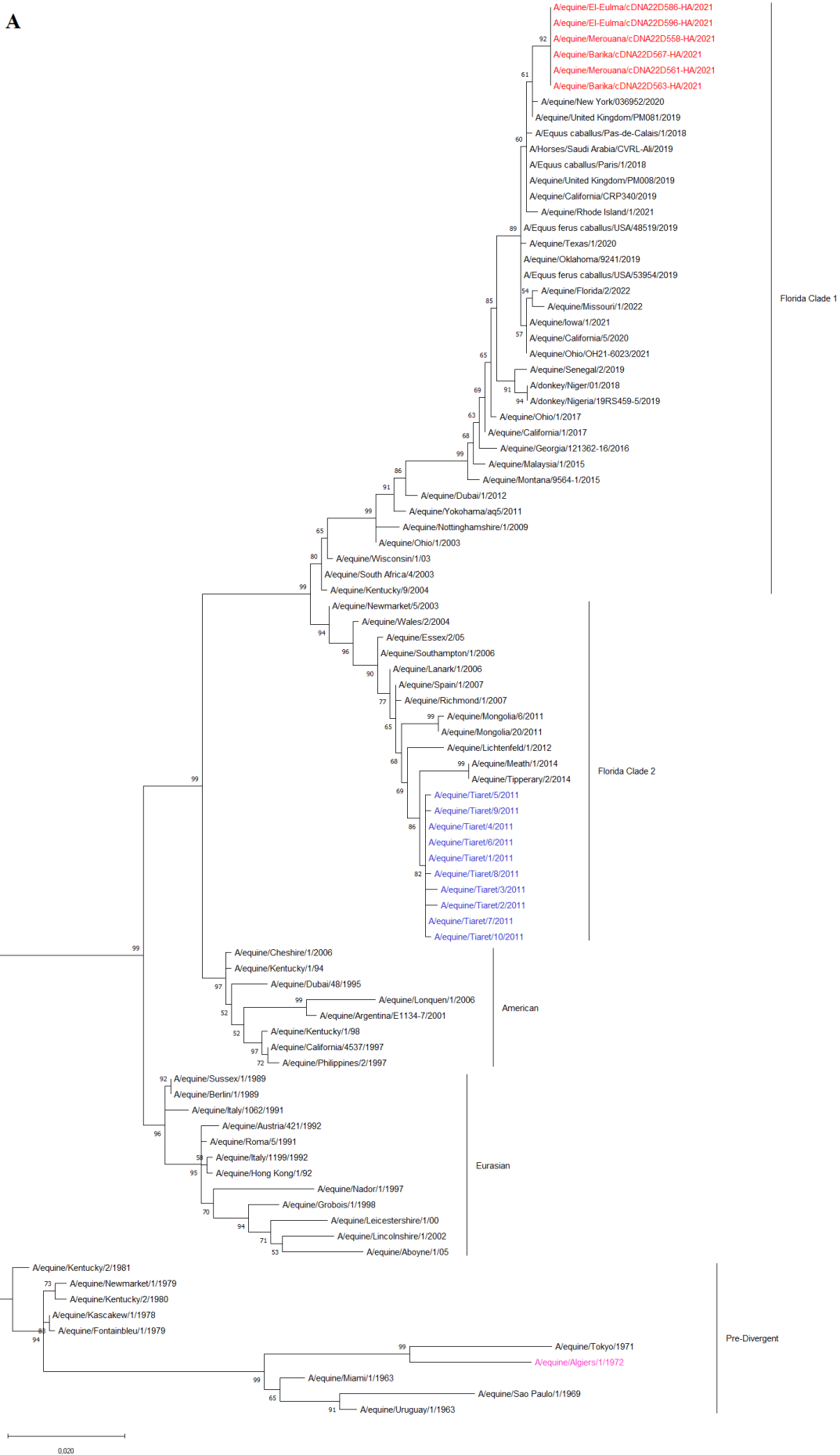
De plus, l'alignement de la séquence protéique de la HA1 avec celle des souches vaccinales de référence du groupe Clade 1 du sous-lignage Florida, A/equine/Ohio/1/2003 et A/Equine/South Africa/4/03, a montré sept substitutions en AA (R62K; N63D; D104N; A138S; T163I; N188T et V223I) (Tableau 13, en vert); et avec la souche de référence du groupe Clade 2, A/equine/Richmond/1/2007, montre la présence de trois autres substitutions en AA (V78A; N159S et E291D) (Tableau 13, en jaune et bleu respectivement). Par ailleurs, l'analyse réalisée sur la protéine NA a révélé que les séquences algériennes détectées dans la présente étude diffèrent des souches de référence du groupe Clade 1 du sous-lignage Florida, A/equine/Ohio/1/2003 et A/Equine/South Africa/4/03, en identifiant douze substitutions en AA (I74M; R76K; V147I; K187R; R252K; D258N; R260K; E271G; S337N; R3777K; G416E et T434K) et neuf substitutions en AA (V147I; K187R; R252K; D258N; R260K; S337N; R3777K; G416E et T434K), respectivement. Ainsi, la révélation de treize substitutions en AA

(K109R; V147I; K187R; I191V; N235D; R252K; D258N; R260K; S337N; R377K; R415K; G416E et S434K) (Tableau 14) par rapport à la souche algérienne de 2011, du groupe Clade 2 du sous-lignage Florida (A/equine/Tiaret/1/2011).

Tableau 12 : Détection de l'EIV par qRT-PCR en fonction de la répartition géographique, la race, du sexe et de l'âge des chevaux affectés durant l'épizootie de la grippe équine qui a sévit en Algérie en 2021.

Localisation	ID du cheval	Race	Sexe	Âge (Année)	Résultat qRT-PCR		Nom de la séquence	
					EIV	Act		
Barika	1	Eng. TB	F	2	+	+	A/equine/Barika/cDNA22D563-HA/2021	
	2	Ar. TB	M	5	+	+	-	
	3	Ar. TB	F	3	+	+	-	
	4	Eng. TB	F	2	+	+	-	
	5	Eng. TB	F	5	+	+	A/equine/Barika/cDNA22D567-HA/2021	
	6	Eng. TB	M	3	+	+	-	
El-Eulma	7	Ar. TB	F	1	-	+	-	
	8	Ar. TB	F	1	+	+	-	
	9	Eng. TB	M	3	+	+	-	
	10	Ar. TB	F	3	+	+	-	
	11	Ar. TB	M	5	+	+	-	
	12	Ar. TB	F	4	+	+	-	
	13	Ar. TB	M	5	+	+	-	
	14	Ar. TB	F	8	+	+	-	
	15	Ar. TB	F	6	+	+	-	
	16	Ar. TB	F	5	+	+	-	
	17	Ar. TB	F	4	+	+	-	
	18	Ar. TB	M	4	+	+	-	
	19	Ar. TB	F	8	+	+	-	
	20	Ar. TB	M	3	+	+	-	
	21	Ar. TB	F	3	+	+	-	
	22	Ar. TB	F	3	+	+	-	
	23	Eng. TB	F	3	+	+	-	
	24	Ar. TB	M	4	+	+	A/equine/El-Eulma/cDNA22D586-HA/2021	
	25	Ar. TB	F	4	+	+	-	
	26	Ar. TB	F	4	+	+	-	
	27	Ar. TB	F	2	+	+	-	
	28	Ar. TB	F	11	+	+	-	
	29	Ar. TB	F	4	+	+	-	
	30	Ar. TB	F	3	+	+	-	
	31	Ar. TB	F	1	+	+	-	
	32	Ar. Barb	F	3	+	+	-	
	33	Ar. TB	M	8	+	+	-	
	Merouana	34	Ar. TB	F	5	+	+	A/equine/El-Eulma/cDNA22D596-HA/2021
		35	Ar. Barb	F	3	+	+	-
		36	Ar. Barb	M	2	+	+	A/equine/Merouana/cDNA22D558-HA/2021
		37	Ar. Barb	F	3	+	+	-
		38	Ar. Barb	F	5	+	+	-
		39	Ar. TB	F	4	+	+	A/equine/Merouana/cDNA22D561-HA/2021
40		Ar. Barb	M	5	+	+	-	

EIV : virus de la grippe équine ; qRT-PCR : réaction en chaîne par polymérase par transcription inverse quantitative en temps réel ; Act : le gène de la β -actine ; Ar. TB : pur-sang arabe, ing. TB : pur-sang anglais, Ar. Barbe : Barbe arabe ; F : Femelle, M : Male.



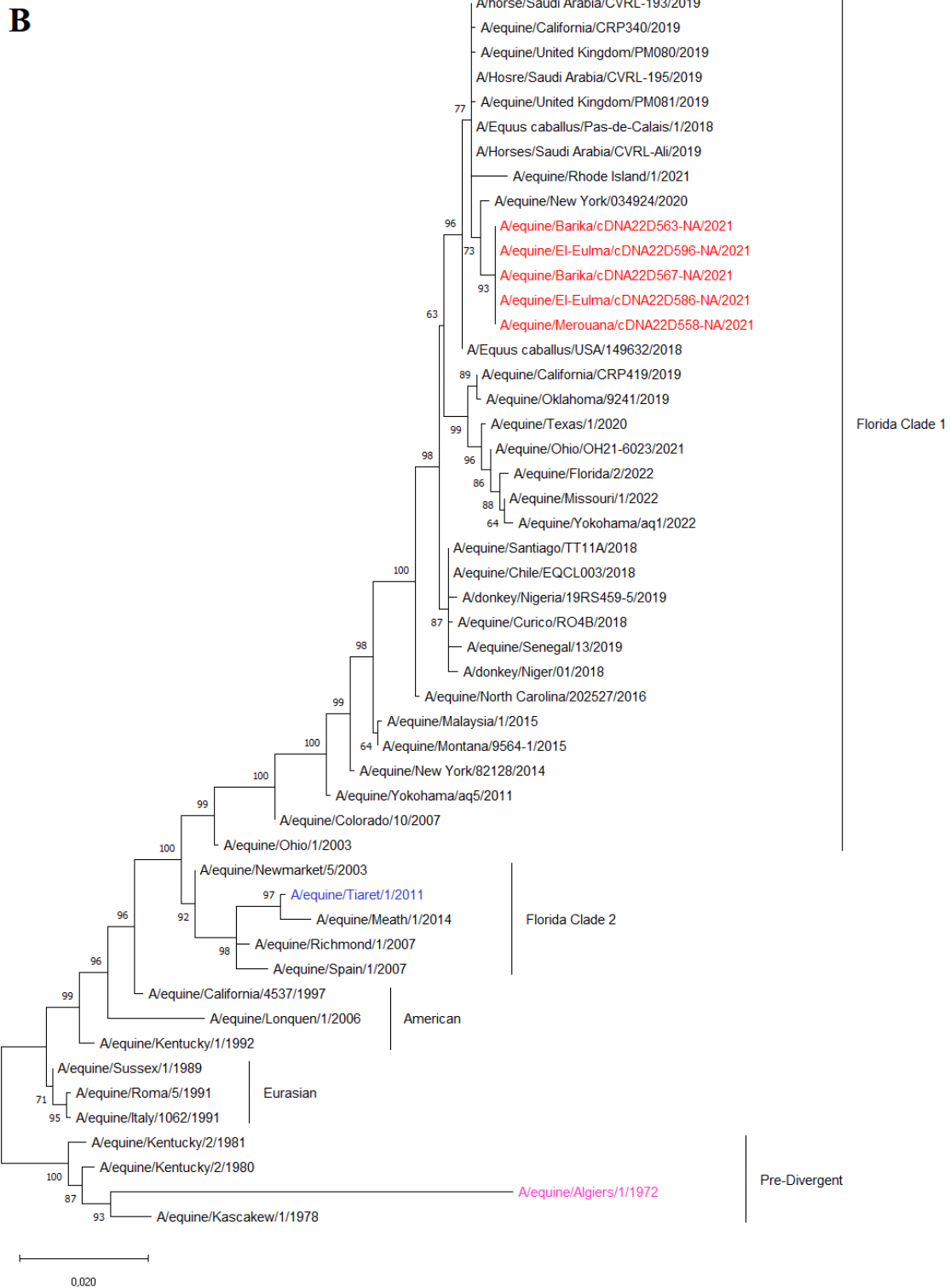


Figure 14 : Analyse phylogénétique des gènes HA et NA du sous-type H3N8 de l’EIV des souches algériennes détectées en 2021. (A) Phylogénie du gène HA1 de 90 souches de l’EIV. (B) Phylogénie du gène NA de 50 souches de l’EIV. L’arbre phylogénétique a été créé en utilisant la méthode du maximum likelihood et du modèle Tamura-Nei avec 1000 bootstraps. Les souches algériennes détectées en 2021 sont en rouge, les souches algériennes de 2011 sont colorées en bleu et la souche algérienne de 1972 est colorée en magenta.

Tableau 13 : Alignement des séquences d'acides aminés HA1 prévues des souches algériennes de 2021 par rapport aux souches de référence de l'OIE incluses dans les vaccins (FC1 et FC2), aux souches FC1 récemment détectées et aux souches algériennes de 2011.

Lignée	Séquence	Position des acides aminés															
		62	63	78	103	104	112	138	159	163	188	223	230	237	252	291	
FC1	A/equine/Merouana/cDNA22D558-HA/2021	K	D	A	P	N	V	S	S	I	T	I	I	V	V	D	
	A/equine/Merouana/cDNA22D561-HA/2021	
	A/equine/Barika/cDNA22D563-HA/2021	
	A/equine/Barika/cDNA22D567-HA/2021	
	A/equine/El-Eulma/cDNA22D586-HA/2021	
	A/equine/El-Eulma/cDNA22D596-HA/2021	
	A/equine/Ohio/OH21-6023/2021	I	.	
	A/equine/Iowa/1/2021	I	.	
	A/equine/New_York/036952/2020	
	A/donkey/Nigeria/19RS459-5/2019	T	.	.	V	.	.	.	
	A/Horses/Saudi_Arabia/CVRL-Ali/2019	
	A/equine/United_Kingdom/PM081/2019	
	A/Equus_caballus/Paris/1/2018	
	A/equine/Ohio/1/2003	R	N	.	.	D	.	A	.	T	N	V	
	A/equine/South_Africa/4/2003	R	N	.	.	D	.	A	.	T	N	V	
	A/equine/Kentucky/9/2004	R	N	.	.	D	.	A	.	T	N	V	
FC2	A/equine/Tiaret/1/2011	R	N	V	L	D	I	A	N	T	N	V	.	.	.		
	A/equine/Tiaret/2/2011	R	N	V	L	D	I	A	N	T	N	V	.	A	.		
	A/equine/Richmond/1/2007	R	N	V	.	D	.	A	N	T	N	V	.	.	E		

Tableau 14 : Alignement des séquences d'acides aminés NA prévues des souches algériennes de 2021 par rapport aux souches de référence de l'OIE incluses dans les vaccins (FC1 et FC2), aux souches FC1 récemment détectées et aux souches algériennes de 2011.

Lignée	Séquence	Position des acides aminés																						
		74	75	76	78	109	147	187	191	211	235	252	258	260	262	271	337	377	397	410	415	416	434	
FC1	A/equine/Merouana/cDNA22D558-NA/2021	M	E	K	S	R	I	R	V	V	D	K	N	K	I	G	N	K	P	V	K	E	K	
	A/equine/Barika/cDNA22D563-NA/2021	-	-	-	-	-	-
	A/equine/Barika/cDNA22D567-NA/2021
	A/equine/El-Eulma/cDNA22D586-NA/2021
	A/equine/El-Eulma/cDNA22D596-NA/2021
	A/equine/Florida/2/2022	I	D	K	V	.	.	R
	A/equine/Ohio/OH21-6023/2021	I	D	K	V	.	.	R
	A/equine/New_York/034924/2020
	A/donkey/Nigeria/19RS459-5/2019	I	K	.	I	R	Q
	A/Horses/Saudi_Arabia/CVRL-Ali/2019	K	R
	A/equine/United_Kingdom/PM081/2019	K	R
	A/Equus_caballus/Pas_de_Calais/1/2018	K	R
	A/equine/Ohio/1/2003	I	.	R	.	.	.	V	K	.	.	R	D	R	.	E	S	R	.	.	.	G	T	
	A/equine/South_Africa/4/2003	-	-	-	-	.	.	V	K	.	.	R	D	R	.	.	S	R	.	.	.	G	T	
FC2	A/equine/Tiaret/1/2011	-	-	-	-	K	V	K	I	.	N	R	D	R	.	.	S	R	.	.	R	G	S	
	A/equine/Richmond/1/2007	I	.	R	P	.	V	K	I	.	N	R	D	R	.	.	S	R	.	I	.	G	T	

2. Discussion

La présente étude, a permis de mettre en évidence après une décennie, depuis 2011 (Laabassi et al., 2015), la présence et la circulation du virus de la grippe au sein de la population équine Algérienne.

La séroprévalence de l'EIV par le test NP-ELISA sur les 298 sérums a montré que 49,3 % des équidés présentaient des anticorps anti-EIV. Ces données sont en accord avec ceux obtenus dans des études antérieures, réalisées en Algérie (Laabassi et al., 2012), en Arabie Saoudite (Hemida et al., 2019), au Maroc (Dilai et al., 2018) et au Nigeria (Olufemi et al., 2022). L'infection des chevaux par l'EIV stimule la production des anticorps dirigés contre toutes les protéines de la particule virale, y compris la NP (Fougerolle et al., 2019). La vaccination contre l'EI n'est pas systématiquement pratiquée par les vétérinaires praticiens, car elle n'est pas obligatoire en Algérie, et malgré les preuves de circulation de l'EI dans la population équine algérienne (Laabassi et al., 2012; Laabassi et al., 2015). A notre connaissance, la détection d'anticorps contre l'EIV dans la population naïve de notre pays qui n'avait connu aucun foyer depuis 2011, a indiqué que les animaux avaient été récemment infectés par l'EIV.

La détection des anticorps anti-EIV par le test NP-ELISA dans les échantillons prélevés chez des chevaux protégés par le vaccin Equilis Prequenza Te, qui contient les sous-unités purifiées des molécules HA et NA et adjuvé par ISCOM matrix, a révélé la présence possible de traces de la protéine NP (Galvin et al., 2013). Cependant, la quantité de la NP contenue dans ce vaccin utilisé chez les animaux de l'étude est inconnue. Le test ELISA détecte à la fois les anticorps post-vaccinaux et les anticorps provenant d'équidés infectés (Dannacher et al., 1977; Fontaine et Moraillon, 1980; Alzieu et Bichet, 1989; Sugiura et al., 1997). Ainsi, le test NP-ELISA est incapable de différencier les chevaux infectés de ceux vaccinés par le vaccin, Equilis Prequenza Te (Galvin et al., 2013). L'analyse de nos échantillons par des tests plus sensibles que la technique ELISA détectant seulement les anticorps dirigés contre la nucléoprotéine, à savoir le test d'inhibition de l'hémagglutination ou l'hémolyse radiale (Galvin et al., 2013) en utilisant les souches des groupes FC1 et FC2, circulantes actuellement, est recommandé pour savoir plus d'informations détaillées sur les souches ayant circulé en Algérie et de confirmer nos résultats chez les équidés naïfs et les chevaux vaccinés par un vaccin sous-unitaire à ISCOM matrix. Il est intéressant de noter que sur la base de leur réponse en anticorps NP-ELISA, la présente étude démontre que la protection vaccinale des chevaux des cinq régions algériennes étudiées met en évidence que seulement 17,5 % des chevaux sont protégés contre la grippe équine. Le faible taux de la protection vaccinale de la population équine algérienne étudiée

pourrait fournir une explication de la détection de l'EIV lors de l'épizootie de mars 2021, affectant un grand nombre de chevaux dans de nombreuses régions du pays. Cette enquête démontre pour la première fois, le dépistage de l'EIV chez la population asine en Algérie. Un (1) seul échantillon de sérum sanguin prélevé sur un âne a révélé des anticorps dirigés contre l'EIV, par le test ELISA. Des résultats similaires ont été observés dans différentes études réalisées dans la région du Maghreb (Ellouze, 1980; Chabchoub et al., 2001; Boukharta et al., 2014). Les ânes sont également sensibles au virus de la grippe équine et présentent les mêmes signes cliniques que ceux observés les chevaux (Ahearne et al., 2022; Lazić et al., 2023).

Cette étude suggère que la séroprévalence de l'EIV dans la population équine algérienne varie selon les espèces. L'infection des ânes par les virus de la grippe équine est rare (Yang et al., 2018). La séroprévalence de la grippe équine chez les chevaux atteints est de 51,2 %. La faible sensibilité des ânes (7,7 %) à l'infection par l'EIV pourrait s'expliquer par le plus grand nombre d'échantillons de chevaux dépistés par rapport aux ânes, ou pourrait être liée à la densité des équidés dans chaque espèce (Yongfeng et al., 2020). Par ailleurs, le cheval est plus sensible à l'infection par l'EIV que l'âne (Crucière et al., 1989; Boussetta et al., 1994; Ghram et al., 1997). Cependant, certains auteurs ont signalé quelques épizooties graves d'EI chez l'âne dans différentes régions du monde (Yang et al., 2018; Moreira et al., 2019; Yongfeng et al., 2020; Ahearne et al., 2022; Badji et al., 2022).

Nos données montrent une association entre la race des chevaux testés et la séroprévalence de l'EIV, confirmant les résultats obtenus par Laabassi et al. (2012), qui ont montré une différence significative dans la prévalence de l'EIV entre les chevaux de race Pur-Sang Arabe et ceux de la race Pur-Sang Anglais en Algérie. A l'inverse, certains auteurs ont montré une séropositivité de l'EI très élevée chez les chevaux de race Barbe que chez les chevaux Pur-Sang (Ellouze, 1980; Boussetta et al., 1994). La détection d'anticorps contre la nucléoprotéine de l'EIV semble significativement plus élevée chez les races de chevaux Arabe-Barbe et Selle Français que chez les chevaux Barbe et Pur-Sang Anglais. Cette trouvaille pourrait s'expliquer par la période de la réalisation des prélèvements et le statut vaccinal des chevaux, car la majorité des chevaux Arabe-Barbe séropositifs (42/52) appartenant aux régions de Bordj Bou Arréridj et de Skikda où les sérums ont été collectés après le foyer de 2021, ainsi parmi les 25 chevaux de race Selle Français détectés séropositifs, 21 sont vaccinés contre le virus de la grippe équine.

La présente étude montre que le taux de séropositivité de l'EIV dans les régions de Bordj Bou Arréridj (65,70%) et de Mostaganem (57,6%) était significativement plus élevé que ceux obtenus chez les chevaux stationnés dans les régions de Batna (31,70%) et de Sétif (35,4%). En effet, tous les chevaux (8/8) de la région de Skikda étaient infectés par l'EIV. Ces disparités

dans la prévalence de l'EIV peuvent être liées à la circulation de l'EIV, à la densité (notamment dans la région de Batna) et au statut vaccinal des chevaux (principalement dans la région de Mostaganem) dans chaque région. De plus, les niveaux de séroprévalence étaient susceptibles d'être fortement influencés par le moment de l'échantillonnage, car nos échantillons n'avaient pas été collectés aux mêmes périodes. Ainsi, les échantillons de sérum des régions de Batna et de Sétif ont été collectés avant l'épizootie de 2021, tandis que ceux des régions de Bordj Bou Arréridj et de Skikda ont été collectés après le foyer de la grippe équine de 2021. Il a été décrit, que le test ELISA est approprié pour la surveillance de l'EI dans une population naïve (Galvin et al., 2013). Ce résultat renforce l'hypothèse que ces populations de chevaux ont été infectées pour la première fois de leur vie par l'EIV.

Selon la littérature, jusqu'à ce jour, aucune différence de susceptibilité à l'infection par l'EIV n'a été rapportée en médecine équine entre mâles et les femelles. Nos résultats démontrent pour la première fois, l'existence d'une association entre le sexe du cheval testé et la séroprévalence de l'EIV. La détection d'anticorps dirigés contre l'EIV semble significativement plus élevée chez les chevaux mâles que chez les femelles. Ce résultat pourrait s'expliquer par le statut vaccinal des chevaux, car parmi les 63 chevaux mâles détectés séropositifs, 28 sont protégés contre l'EIV par un vaccin sous-unitaire à ISCOM matrix. Effectivement, certains auteurs ont rapporté que le sexe des équidés ne constitue pas un facteur de risque de l'infection par l'EIV (Nyaga et al., 1980; Laabassi et al., 2012; Olufemi et al., 2022).

La détection d'anticorps dirigés contre la NP de l'EIV semble être significativement plus élevée chez les jeunes chevaux ($\leq 2,5$ ans) que chez les chevaux âgés (≥ 10 ans). Cette découverte a été démontrée précédemment par Waldeman et al. (1934). Cependant, ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus dans d'autres études, dans lesquelles la séroprévalence de l'EIV était significativement plus élevée chez les chevaux adultes que chez les jeunes chevaux (Newton et al., 2006; Barquero et al., 2007; Laabassi et al., 2012; Diallo et al., 2020; Olufemi et al., 2022). Dans la présente étude, la forte prévalence des anticorps anti-grippe chez les chevaux de moins de 2,5 ans pourrait être due principalement à la vaccination contre l'EI, car la majeure partie des jeunes chevaux séropositifs (30/39) étaient vaccinés. Le faible taux d'équidés séropositifs de plus de 10 ans pourrait s'expliquer par une circulation virale de faible amplitude (Laabassi et al., 2015).

La comparaison entre les séquences nucléotidiques des virus détectés durant le foyer actuel, de mars 2021, A/equine/Merouana/1/2021 (H3N8), A/equine/Merouana/2/2021 (H3N8), A/equine/Barika/1/2021 (H3N8), A/equine/Barika/2/2021 (H3N8), A/equine/El-Eulma/1/2021 (H3N8) et A/equine/El-Eulma/2/2021 (H3N8), démontre que les gènes HA1 et

NA sont complètement identiques, avec une similarité de 100 %. Il est important de noter qu'un niveau élevé de similarité des séquences peut suggérer que les séquences proviennent de la même souche du virus de la grippe équine mais ont été obtenues à partir d'échantillons distincts, collectés dans des périodes et des lieux différents. De plus, nos séquences présentent des pourcentages d'identité allant de 98,58 % à 99,70 % pour le gène HA1 et de 98,90 % à 99,62 % pour le gène NA, par rapport aux souches isolées en Europe, en Amérique, en Asie et en Afrique entre 2018 et 2022. Cette similarité pourraient s'expliquer par les mouvements des chevaux participant dans les compétitions internationales en constituant une source importante de la propagation des maladies infectieuses (Herholz et al., 2008; Dominguez et al., 2016), et pourrait donc être à l'origine de l'actuelle introduction de l'EIV en Afrique du Nord. Récemment, au Japon, la souche A/equine/Yokohama/aq1/2022 a été isolée chez un cheval Canadien pendant la quarantaine à Yokohama en 2022 (Nemoto et al., 2023). Entre 2018 et 2019, l'EIV a été introduit au Nigéria par l'importation de chevaux argentins infectés et les virus se sont ensuite propagés à d'autres pays de l'Afrique de l'Ouest.

La séquence d'acides aminés de la protéine HA1 des nouvelles séquences algériennes a une identité à 100% avec les souches A/Equus_caballus/Paris/1/2018, A/Horses/Saudi_Arabia/CVRL-Ali/2019, A/equine/United_Kingdom/PM081/2019 et A/equine/New_York/036952/2020. Ces souches ont été caractérisées en France, en Arabie Saoudite, au Royaume-Uni et aux États-Unis, respectivement. Les autres virus les plus apparentés à nos souches et qui sont clustrés au sein du lignage Américain sont A/donkey/Nigeria/19RS459-5/2019 isolé du Nigeria, et A/equine/Ohio/OH21-6023/2021, A/equine/ Iowa/1/2021 et A/equine/Florida/2/2022 isolés aux États-Unis d'Amérique. Ainsi, les virus détectés en Algérie lors de l'épizootie de 2021 sont très similaires à ceux isolés à partir de chevaux malades depuis 2018 dans diverses régions du monde, dont l'Europe (Fougerolle et al., 2019; OIE, 2019; Paillot et al., 2019; Olguin-Perglione et Barrandeguy, 2021), l'Amérique du Sud (Mena et al., 2018; Castro et al., 2019; Olguin-Perglione et al., 2020; Olguin-Perglione et Barrandeguy, 2021), l'Asie (Alaql et al., 2022; Nemoto et al., 2023) et l'Afrique (Diallo et al., 2020; Shittu et al., 2020). Ces données suggèrent que ce virus de la grippe équine a circulé dans la partie occidentale et centrale de l'Afrique ainsi que dans les pays du Moyen-Orient avant 2021 et qu'il a continué de se propager dans la population équine de l'Amérique du Nord jusqu'en au moins 2022. Il est important de noter que l'alignement de la séquence du gène HA1 a montré que les isolats A/equine/Tiaret/1/2011 à A/equine/Tiaret/10/2011 responsables de l'épizootie de 2011 en Algérie appartenant au Clade 2 du sous-lignage Florida du lignage Américain et n'appartenant pas étroitement aux virus détectés dans la présente épizootie. À l'exception d'un virus du clade 2 identifié en Chine, tous les virus isolés et caractérisés à partir

des foyers détectés entre avril et juillet 2022 appartenant au clade 1 du sous-lignage Florida. Ils sont similaires à ceux identifiés en Europe et aux États-Unis en 2019. Les virus du clade 1 sont endémiques aux États-Unis et depuis 2019 semblent avoir supplanté les virus du clade 2 en Europe (OIE, 2022), en Asie et en Afrique. Nos données démontrent clairement que l'EIV circulant dans la région du Maghreb appartient aux mêmes virus du sous-lignage Florida, isolés ces dernières années chez des chevaux malades dans les 5 continents.

Par rapport aux souches vaccinales FC1, recommandées par l'OIE, représentées par A/equine/South Africa/4/2003 et A/equine/Ohio/1/2003, les séquences Algériennes de 2021 présentaient sept (7) mutations aux positions : R62K, N63D, D104N, A138S, T163I, N188T et V223I. Cependant, il existe des différences antigéniques mineurs entre les souches vaccinales et les souches circulant dans le monde depuis 2019, ce qui suggère que les souches vaccinales FC1 actuelles recommandées par WOAAH sont toujours efficaces contre le FC1 circulant actuellement (OIE, 2022; Nemoto et al., 2023).

Le taux de morbidité élevé (100%) observé lors de cette épizootie chez les chevaux non vaccinés stationnés dans les régions de Batna et Sétif prouve que cette population équine n'est pas protégée naturellement contre l'EIV en raison de la faible circulation de l'EIV dans ces régions de l'Est algérien depuis l'épizootie de 2011.

Conclusion

Conclusion

Le virus de la grippe équine du sous-type H3N8 est devenu une véritable menace pour la santé équine, entraînant d'importantes pertes économiques à l'échelle mondiale. Face à cette situation, une intervention rapide avec une mise en place d'une surveillance globale sont nécessaires pour la détection précoce de l'émergence ou de la réémergence des virus de la grippe équine en Algérie. De plus, il est important de mettre à jour les vaccins de nouvelle génération afin d'assurer une immunité plus proche de celle induite par les souches sauvages.

L'enquête séro-épidémiologique approfondie, menée en 2021 et portant sur la prévalence, la distribution et les caractéristiques du virus de la grippe équine circulant dans différentes régions Algériennes, offre des informations cruciales sur la dynamique de la circulation de l'EIV et ses impacts potentiels sur la population équine.

Notre étude démontre que l'épizootie de la grippe équine qui a sévi en Algérie en 2021 a été causée par la souche H3N8 appartenant au sous-lignage Florida Clade 1 au sein du lignage américain, similaire à celles circulantes actuellement à l'échelon mondiale. Il est important de noter qu'il s'agit de la première détection et caractérisation moléculaire de la souche FC1 du virus de la grippe équine dans la région du Maghreb. Les résultats de cette étude fournissent une image épidémiologique bien détaillée sur la grippe équine en Algérie, qui pourrait être utile pour orienter des stratégies de diagnostic, de prévention et de contrôle efficaces contre ce virus dans notre pays.

Afin de renforcer la lutte contre la grippe équine, il est nécessaire de renforcer la surveillance épidémiologique à travers un réseau national dédié, de développer des vaccins modernes pour une meilleure efficacité, de mener des études de suivi longitudinales pour surveiller l'évolution du virus, de sensibiliser les acteurs du secteur équin à l'importance des mesures de prévention et de biosécurité, et de renforcer la collaboration internationale pour accéder à des outils et expertises avancés. Enfin, des recherches approfondies sur les mécanismes d'adaptation du virus et ses interactions avec l'hôte s'imposent pour mieux anticiper les dynamiques épidémiologiques et concevoir des stratégies de lutte adaptées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdulkareem, Y.A., Luaibi, O.K., Mohamed, N.S., Wali, A., 2020. Molecular characterization and genetic detection for canine influenza virus genotype H3N8 in Iraq Plant Archives Volume 20 No. 2, 2020 pp. 5009-5014.
- Aeschbacher, S., Santschi, E., Gerber, V., Stalder, H.P., Zanoni, R.G., 2015. Development of a real-time RT-PCR for detection of equine influenza virus. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 157, 191–201.
- Ahearne, M.M., Pentzke-Lemus, L.L., Romano, A.M., Larsen, E.D., Watson, A.M., O’Fallon, E.A., Landolt, G.A., 2022. Disease progression, pathologic, and virologic findings of an equine influenza outbreak in rescue donkeys. *J. Vet. Intern. Med.* 36, 2230–2237.
- Ahmed, B.M., Bayoumi, M.M., Farrag, M.A., Elgamal, M.A., Daly, J.M., Amer, H.M., 2022. Emergence of equine influenza virus H3Nx Florida clade 2 in Arabian racehorses in Egypt. *Viol. J.* 19, 1–11.
- Akarsu, H., Burmeister, W.P., Petosa, C., Petit, I., Müller, C.W., Ruigrok, R.W.H., Baudin, F., 2003. Crystal structure of the M1 protein-binding domain of the influenza A virus nuclear export protein (NEP/NS2). *EMBO J.* 22, 4646–4655.
- Alaql, F.A., Alhafufi, A.N., Kase, S., Alhammad, Y.M.O., Albaqshi, H., Alyousaf, A., Alsubaie, F.M., Alghamdi, A.N., Abdel-Moneim, A.S., Alharbi, S.A., 2022. Full-Length Genome of the Equine Influenza A Virus Subtype H3N8 from 2019 Outbreak in Saudi Arabia. *Animals* 12, 1–13.
- Alvarez, A.C., Brunck, M.E.G., Boyd, V., Lai, R., Virtue, E., Chen, W., Bletchly, C., Heine, H.G., Barnard, R., 2008. A broad spectrum, one-step reverse-transcription PCR amplification of the neuraminidase gene from multiple subtypes of influenza A virus. *Viol. J.* 5, 1–11.
- Alzieu, J.P., Bichet, H., 1989. Réflexions sur la grippe équine et la rhinopneumonie équine. *Moyens de contrôle. Rev. Méd. Vét* 140, 1097–1107.
- Arzt, S., Baudin, F., Barge, A., Timmins, P., Burmeister, W.P., Ruigrok, R.W.H., 2001. Combined results from solution studies on intact influenza virus M1 protein and from a new crystal form of its N-terminal domain show that M1 is an elongated monomer. *Virology* 279, 439–446.

- Ault, A., Zajac, A.M., Kong, W.P., Gorres, J.P., Royals, M., Wei, C.J., Bao, S., Yang, Z. yong, Reedy, S.E., Sturgill, T.L., Page, A.E., Donofrio-Newman, J., Adams, A.A., Balasuriya, U.B.R., Horohov, D.W., Chambers, T.M., Nabel, G.J., Rao, S.S., 2012. Immunogenicity and clinical protection against equine influenza by DNA vaccination of ponies. *Vaccine* 30, 3965–3974.
- Badji, A., Faye, A., Thior, Y.E.H., Sarr, S., Mbengue, B., Sene, A., 2022. Risk factors for infection with equine influenza virus in donkeys (*Equus asinus*) in Senegal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 15, 1783–1790.
- Barquero, N., Daly, J.M., Newton, J.R., 2007. Risk factors for influenza infection in vaccinated racehorses: Lessons from an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine* 25, 7520–7529.
- Baz, M., Paskel, M., Matsuoka, Y., Zengel, J., Cheng, X., Treanor, J.J., Jin, H., Subbarao, K., 2015. A Live Attenuated Equine H3N8 Influenza Vaccine Is Highly Immunogenic and Efficacious in Mice and Ferrets. *J. Virol.* 89, 1652–1659.
- Bean, W.J., 1984. Correlation of Influenza A Virus Nucleoprotein in Genes with Host Species. *Virology* 133, 438–442.
- Behillil, S., Enouf, V., van der Werf, S., 2019. Influenza viruses, epidemics and monitoring networks. *Actual. Pharm.* 58, 20–26.
- Benmansour, A., Benelmouffok, A., Bouguermouh, A., 1977a. Outbreak of equine influenza by a new strain of Myxovirus type 2. II. Epizootiology. *Arch. l’Institut Pasteur d’Algerie. Inst. Pasteur d’Algerie* 52, 111–118.
- Benmansour, A., Benelmouffok, A., Bouguermouh, A., 1977b. Outbreak of equine influenza caused by a new strain of equine Myxovirus subtype 2. I. Etiology. *Arch. l’Institut Pasteur d’Algerie. Inst. Pasteur d’Algerie* 52, 105–110.
- Berg, M., Desselberger, U., Abusugra, I.A., Klingeborn, B., Linné, T., 1990. Genetic drift of equine 2 influenza a virus (H3N8), 1963-1988: Analysis by oligonucleotide mapping. *Vet. Microbiol.* 22, 225–236.
- Bertram, S., Glowacka, I., Steffen, I., Kühl, A., Pöhlmann, S., 2010. Novel insights into proteolytic cleavage of influenza virus hemagglutinin. *Rev. Med. Virol.* 20, 298–310.
- Biswas, S.K., Nayak, D.P., 1994. Mutational analysis of the conserved motifs of influenza A virus polymerase basic protein 1. *J. Virol.* 68, 1819–1826.

- Böttcher-Friebertshäuser, E., Klenk, H.D., Garten, W., 2013. Activation of influenza viruses by proteases from host cells and bacteria in the human airway epithelium. *Pathog. Dis.* 69, 87–100.
- Boukharta, M., Azlmat, S., Elharrak, M., Ennaji, M.M., 2015. Multiple alignment comparison of the non-structural genes of three strains of equine influenza viruses (H3N8) isolated in Morocco. *BMC Res. Notes* 8, 1–10.
- Boukharta, M., Touil, N., El, E., Terta, M., Kissi, B., El, M., Dvm, H., Ennaji, M.M., 2013. Phylogenetic and Molecular Characterization of the Equine Influenza Virus A (H3N8) Causing the 1997 and 2004 Outbreaks in Morocco. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 942–948.
- Boukharta, M., Zakham, F., Aloui, A., Touil, N., Elharrak, M., Ennaji, M.M., 2014. Serological, molecular characterization and epidemiological situation of equine influenza in the Arabic Maghreb countries between 1972 to 2010. *J. Basic Appl. Zool.* 67, 119–126.
- Boussetta, M., Chabchoub, A., Ghram, A., Jomaa, I., Ghorbel, A., Aouina, T., Amor, H., 1994. Enquête séroépidémiologique sur la grippe et l'anémie infectieuse des équidés dans le nord-est tunisien 277–281.
- Bouvier, N.M., Palese, P., 2008. The biology of influenza viruses. *Vaccine* 26, 49–53.
- Bryant, N.A., Rash, A.S., Russell, C.A., Ross, J., Cooke, A., Bowman, S., MacRae, S., Lewis, N.S., Paillot, R., Zanoni, R., Meier, H., Griffiths, L.A., Daly, J.M., Tiwari, A., Chambers, T.M., Newton, J.R., Elton, D.M., 2009. Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007. *Vet. Microbiol.* 138, 41–52.
- Bryant, N.A., Rash, A.S., Woodward, A.L., Medcalf, E., Helweggen, M., Wohlfender, F., Cruz, F., Herrmann, C., Borchers, K., Tiwari, A., Chambers, T.M., Newton, J.R., Mumford, J.A., Elton, D.M., 2011. Isolation and characterisation of equine influenza viruses (H3N8) from Europe and North America from 2008 to 2009. *Vet. Microbiol.* 147, 19–27.
- Castro, E.R., Perez, R., Rodriguez, S., Bassetti, L., Negro, R., Vidal, R., 2019. Epidemiological and virological findings during an outbreak of equine influenza in Uruguay in 2018. *Rev. Sci. Tech.* 38, 737–749.

- Chabchoub, A., Landolsi, F., Zientara, S., Amira, A., Mejri, M., Ghorbel, A., Ghram, A., 2001. A propos d'une epizootie de grippe equine survenue en Tunisie. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 78, 69–73.
- Chambers, T.M., 2014. A brief introduction to equine influenza and equine influenza viruses. *Methods Mol. Biol.* 2123, 355–360.
- Chambers, T.M., 1995. Equine influenza-current veterinary perspectives, part 1. *Equine Pr.* 17, 19–23.
- Chambers, T.M., Reedy, S.E., 2014. Equine influenza culture methods. *Methods Mol. Biol.* 1161, 403–410.
- Chen, W., Calvo, P.A., Malide, D., Gibbs, J., Schubert, U., Bacik, I., Basta, S., O'Neill, R., Schickli, J., Palese, P., Henklein, P., Bennink, J.R., Yewdell, J.W., 2001. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat. Med.* 7, 1306–1312.
- Chenavas, S., Monod, A., Ruigrok, R.W.H., Crépin, T., 2013. Le complexe de transcription et de réplication des virus influenza, une cible pour de nouvelles molécules antivirales. *Virologie* 17, 6–16.
- Chien, C.Y., Xu, Y., Xiao, R., Aramini, J.M., Sahasrabudhe, P. V., Krug, R.M., Montelione, G.T., 2004. Biophysical Characterization of the Complex between Double-Stranded RNA and the N-Terminal Domain of the NS1 Protein from Influenza A Virus: Evidence for a Novel RNA-Binding Mode. *Biochemistry* 43, 1950–1962.
- Ciampor, F., Thompson, C.A., Grambas, S., Hay, A.J., 1992. Regulation of pH by the M2 protein of influenza A viruses. *Virus Res.* 22, 247–258.
- Cianci, C., Gerritz, S.W., Deminie, C., Krystal, M., 2013. Influenza nucleoprotein: Promising target for antiviral chemotherapy. *Antivir. Chem. Chemother.* 23, 77–91.
- Claridge, J.K., Mohd-Kipli, F., Florea, A., Gate, T., Schnell, J.R., 2020. pH-dependent secondary structure propensity of the influenza A virus M2 cytoplasmic tail. *Biomol. NMR Assign.* 14, 157–161.
- Colman, P.M., 1994. Influenza virus neuraminidase: Structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Sci.* 3, 1687–1696.

- Crawford, P.C., Dubovi, E.J., Castleman, W.L., Stephenson, I., Gibbs, E.P.J., Chen, L., Smith, C., Hill, R.C., Ferro, P., Pompey, J., Bright, R.A., Medina, M.J., Johnson, C.M., Olsen, C.W., Cox, N.J., Klimov, A.I., Katz, J.M., Donis, R.O., 2005. Epidemiology: Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science*. 310, 482–485.
- Crucière, C., Guillemin, M.C., Roseto, A., Wirbel, A., Plateau, E., 1989. Production of monoclonal antibodies against equine influenza: application to a comparative study of various strains of the virus. *Ann. Rech. Vet.* 20, 243–250.
- Cullinane, A., Newton, J.R., 2013. Equine influenza-A global perspective. *Vet. Microbiol.* 167, 205–214.
- Daly, J.M., Blunden, A.S., MacRae, S., Miller, J., Bowman, S.J., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Smith, K.C., 2008. Transmission of equine influenza virus to english foxhounds. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 461–464.
- Daly, J.M., Lai, A.C.K., Binns, M.M., Chambers, T.M., Barrandeguy, M., Mumford, J.A., 1996. Antigenic and genetic evolution of equine H3N8 influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 77, 661–671.
- Dannacher, G., Coudert, M., Fedida, M., Perrin, M., 1977. La grippe équine : étude quantitative de l'état immunitaire post-vaccinal et des corrélations entre ses différents aspects.
- Darapaneni, V., Prabhaker, V.K., Kukol, A., 2009. Large-scale analysis of influenza A virus sequences reveals potential drug target sites of non-structural proteins. *J. Gen. Virol.* 90, 2124–2133.
- Das, K., Aramini, J.M., Ma, L.C., Krug, R.M., Arnold, E., 2010. Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17, 530–538.
- De Vlugt, C., Sikora, D., Pelchat, M., 2018. Insight into influenza: A virus cap-snatching. *Viruses*
- Dea, S., Elazhary, M.A.S.Y., Roy, R.S., 1980. Les virus influenza chez l'homme et les animaux. Une revue de la littérature. *La Rev. Vétérinaire Can.* 21, 171–178.
- Diallo, A.A., Souley, M.M., Issa Ibrahim, A., Alassane, A., Issa, R., Gagara, H., Yaou, B., Issiakou, A., Diop, M., Ba Diouf, R.O., Lo, F.T., Lo, M.M., Bakhoun, T., Sylla, M., Seck, M.T., Meseko, C., Shittu, I., Cullinane, A., Settypalli, T.B.K., Lamien, C.E., Dundon, W.G., Cattoli, G., 2020. Transboundary spread of equine influenza viruses (H3N8) in West and

- Central Africa: Molecular characterization of identified viruses during outbreaks in Niger and Senegal, in 2019. *Transbound. Emerg. Dis.* 1–10.
- Dilai, M., Piro, M., Fougerolle, S., El, M., Mahir, W., 2018. Serological investigation of racehorse vaccination against equine influenza in Serological investigation of racehorse vaccination against equine in fl uenza in Morocco. *Vet. Microbiol.* 223, 153–159.
- Doll, M.K., Winters, N., Boikos, C., Kraicer-Melamed, H., Gore, G., Quach, C., 2017. Safety and effectiveness of neuraminidase inhibitors for influenza treatment, prophylaxis, and outbreak control: A systematic review of systematic reviews and/or meta-analyses. *J. Antimicrob. Chemother.* 72, 2990–3007.
- Dominguez, M., Münstermann, S., de Guindos, I., Timoney, P., 2016. Equine disease events resulting from international horse movements: Systematic review and lessons learned. *Equine Vet. J.* 48, 641–653.
- Du, R., Cui, Q., Rong, L., 2019. Competitive cooperation of hemagglutinin and neuraminidase during influenza a virus entry. *Viruses* 11, 1–13.
- Ellouze, M.R., 1980. Contribution à l'étude épidémiologique de l'anémie infectieuse, de l'artérite à virus, de la rhinopneumonie et de la grippe équine en Tunisie. Thèse Doc. Vét. Sidi Thabet.
- Elton, D., Bryant, N., 2011. Facing the threat of equine influenza. *Equine Vet. J.* 43, 250–258.
- Fodor, E., 2013. The RNA polymerase of influenza A virus: Mechanisms of viral transcription and replication. *Acta Virol.* 57, 113–122.
- Fodor, E., Crow, M., Mingay, L.J., Deng, T., Sharps, J., Fechter, P., Brownlee, G.G., 2002. A Single Amino Acid Mutation in the PA Subunit of the Influenza Virus RNA Polymerase Inhibits Endonucleolytic Cleavage of Capped RNAs 76, 8989–9001.
- Fontaine, M., Morailon, A., 1980. Considérations sur l'épizootie de grippe 1978-1979 en France.
- Fougerolle, S., Fortier, C., Legrand, L., Jourdan, M., Marcillaud-Pitel, C., Pronost, S., Paillot, R., 2019. Success and limitation of equine influenza vaccination: The first incursion in a decade of a florida clade 1 equine influenza virus that shakes protection despite high vaccine coverage. *Vaccines* 7, 1–18.

- Fynan, E.F., Webster, R.G., Fuller, D.H., Haynes, J.R., Santoro, J.C., Robinson, H.L., 1993. DNA vaccines: Protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 11478–11482.
- Gahan, J., Garvey, M., Gildea, S., Gür, E., Kagankaya, A., Cullinane, A., 2018. Whole-genome sequencing and antigenic analysis of the first equine influenza virus identified in Turkey. *Influenza Other Respi. Viruses* 12, 374–382.
- Galvin, P., Gildea, S., Arkins, S., Walsh, C., Cullinane, A., 2013. The evaluation of a nucleoprotein ELISA for the detection of equine influenza antibodies and the differentiation of infected from vaccinated horses (DIVA). *Influenza Other Respi. Viruses* 7, 73–80.
- Gamblin, S.J., Skehel, J.J., 2010. Influenza hemagglutinin and neuraminidase membrane glycoproteins. *J. Biol. Chem.* 285, 28403–28409.
- Gamoh, K., Nakamura, S., 2017. Update of inactivated equine influenza vaccine strain in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 79, 649–653.
- Ghram, A., Chabchoub, A., Boussetta, M., Baazaoui, S., Ibn Amor, H., Landolsi, F., 1997. Enquête séroépidémiologique de la rhinopneumonie des équidés en Tunisie. *Rev d'élevage et de médecine vétérinaire des pays Tropicaux.* 50, 273–276.
- Glass, K., Wood, J.L.N., Mumford, J.A., Jesset, D., Grenfell, B.T., 2002. Modelling equine influenza 1: A stochastic model of within-yard epidemics. *Epidemiol. Infect.* 128, 491–502.
- Gonzalez-obando, J., Forero, J.E., Zuluaga-cabrera, A.M., Ruiz-saenz, J., 2022. Equine Influenza Virus: An Old Known Enemy in the Americas *Vaccines* (Basel). 2022 Oct 14;10(10):1718. doi: 10.3390/vaccines10101718. PMID: 36298583; PMCID: PMC9610386.
- Gorman, O.T., Bean, W.J., Kawaoka, Y., Webster, R.G., 1990. Evolution of the nucleoprotein gene of influenza A virus. *J. Virol.* 64, 1487–1497.
- Gorman, O.T., Webster, R.G., 1990. Evolution of Influenza A Virus PB2 Genes: Implications for Evolution of the Ribonucleoprotein Complex and Origin of Human Influenza A Virus *Journal of virology* 64.10 (1990): 4893-4902.
- Guu, T.S.Y., Dong, L., Wittung-Stafshede, P., Tao, Y.J., 2008. Mapping the domain structure of the influenza A virus polymerase acidic protein (PA) and its interaction with the basic protein 1 (PB1) subunit. *Virology* 379, 135–142.

- Han, C.W., Jeong, M.S., Jang, S.B., 2019. Structure and Function of the Influenza A Virus Non-Structural Protein 1. *J. Microbiol. Biotechnol* 29, 1184–1192.
- Hannant, D., Jessett, D.M., O'Neill, T., Mumford, J.A., 1989. Antibody isotype responses in the serum and respiratory tract to primary and secondary infections with equine influenza virus (H3N8). *Vet. Microbiol.* 19, 293–303.
- Hannant, D., Mumford, J.A., 1989. Cell mediated immune responses in ponies following infection with equine influenza virus (H3N8): the influence of induction culture conditions on the properties of cytotoxic effector cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 21, 327–337.
- Hannant, D., Mumford, J.A., Jessett, D.M., 1988. Duration of circulating antibody and immunity following infection with equine influenza virus. *Vet. Rec.* 122, 125—128.
- Hannoun, C., 1980. Rappel sur le virus de la grippe. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis* 3, 1–4.
- Hara, K., Schmidt, F.I., Crow, M., Brownlee, G.G., 2006. Amino Acid Residues in the N-Terminal Region of the PA Subunit of Influenza A Virus RNA Polymerase Play a Critical Role in Protein Stability, Endonuclease Activity, Cap Binding, and Virion RNA Promoter Binding. *J. Virol.* 80, 7789–7798.
- Hassett, D.E., Whitton, J.L., 1996. DNA immunization. *Trends Microbiol.* 4, 307–312.
- Hemida, M.G., Perera, R.A.P.M., Chu, D.K.W., Alnaeem, A.A., Peiris, M., 2019. Evidence of equine influenza A (H3N8) activity in horses from Eastern and Central Saudi Arabia: 2013–2015. *Equine Vet. J.* 51, 218–221.
- Herholz, C., Füssel, A.E., Timoney, P., Schwermer, H., Bruckner, L., Leadon, D., 2008. Equine travellers to the Olympic Games in Hong Kong 2008: A review of worldwide challenges to equine health, with particular reference to vector-borne diseases. *Equine Vet. J.* 40, 87–95.
- Hirst, B.Y.G.K., 1942. The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. *J. Exp. Med.* 75, 49–64.
- Hom, N., Gentles, L., Bloom, J.D., Lee, K.K., 2019. Deep Mutational Scan of the Highly Conserved Influenza A Virus M1 Matrix Protein Reveals Substantial Intrinsic Mutational Tolerance. *J. Virol.* 93, 1–16.

- Horohov, D.W., 2015. The equine immune responses to infectious and allergic disease: A model for humans? *Mol. Immunol.* 66, 89–96.
- Huang, T.S., Palese, P., Krystal, M., 1990. Determination of influenza virus proteins required for genome replication. *J. Virol.* 64, 5669–5673.
- Huarte, M., Falcón, A., Nakaya, Y., Ortín, J., García-Sastre, A., Nieto, A., 2003. Threonine 157 of Influenza Virus PA Polymerase Subunit Modulates RNA Replication in Infectious Viruses. *J. Virol.* 77, 6007–6013.
- Ibañez, L.I., Caldevilla, C.A., Paredes Rojas, Y., Mattion, N., 2018. Genetic and subunit vaccines based on the stem domain of the equine influenza hemagglutinin provide homosubtypic protection against heterologous strains. *Vaccine* 36, 1592–1598.
- ICTV, 2021. ICTV 9th report. ICTV 9th Rep. Disponible sur : https://ictv.global/report_9th/RNAneg/Orthomyxoviridae. (Consulté le 17 octobre 2023).
- Ji, Y., Guo, W., Zhao, L., Li, H., Lu, G., Wang, Z., Wang, G., Liu, C., Xiang, W., 2011. Development of an antigen-capture ELISA for the detection of equine influenza virus nucleoprotein. *J. Virol. Methods* 175, 120–124.
- Jolly, P.D., Zhen Fang, F., Robinson, A.J., 1986. Viruses associated with respiratory disease of horses in New Zealand: An update. *N. Z. Vet. J.* 34, 46–50.
- Ka-Leung, A.N., Jia Huai, W., Pang-Chui, S., 2009. Structure and sequence analysis of influenza A virus nucleoprotein. *Sci. China, Ser. C Life Sci.* 52, 439–449.
- Kamps, B.S., Hoffmann, C., Preiser, W., 2006. Influenza Report 2006, *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Kapczynski, D.R., Segovia, K., 2020. Techniques for the Measurement of Cell Mediated Immune Responses to Avian Influenza Virus. *Methods Mol. Biol.* 2123, 227—245.
- Karakus, U., Thamamongood, T., Ciminski, K., Ran, W., Günther, S.C., Pohl, M.O., Eletto, D., Jeney, C., Hoffmann, D., Reiche, S., Schinköthe, J., Ulrich, R., Wiener, J., Hayes, M.G.B., Chang, M.W., Hunziker, A., Yángüez, E., Aydillo, T., Krammer, F., Oderbolz, J., Meier, M., Oxenius, A., Halenius, A., Zimmer, G., Benner, C., Hale, B.G., García-Sastre, A., Beer, M., Schwemmler, M., Stertz, S., 2019. MHC class II proteins mediate cross-species entry of bat influenza viruses. *Nature* 567, 109–112.

- Kareche, H., Daly, J.M., Laabassi, F., 2022. Epidemiology of equine influenza in the Maghreb area. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 89, 101868.
- Khan, Amjad, Mushtaq, M.H., Ahmad, M.U.D., Nazir, J., Farooqi, S.H., Khan, Asghar, 2017. Molecular Epidemiology of a novel re-assorted epidemic strain of equine influenza virus in Pakistan in 2015–16. *Virus Res.* 240, 56–63.
- Kinsley, R., Scott, S.D., Daly, J.M., 2016. Controlling equine influenza: Traditional to next generation serological assays. *Vet. Microbiol.* 187, 15–20.
- Kirkland, P.D., Finlaison, D.S., Crispe, E., Hurt, A.C., 2010. Influenza virus transmission from horses to dogs, Australia. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 699–702.
- Kleij, L., Bruder, E., Raoux-Barbot, Dorothée, Nathalie, L., Nevers, Q., Deloizy, C., Costa, B. Da, Legrand, L., Barrey, E., Chenal, A., Pronost, S., Delmas, B., Dhorne-Pollet, S., 2024. Genome sequences of equine influenza A subtype H3N8 viruses by long read sequencing and functional characterization of the PB1-F2 virulence factor of A/equine/Paris/1/2018. *Veterinary Research*, 55(1), 1-19.
- Kostina, L. V., Grebennikova, T. V., Zaberezhnyi, A.D., Aliper, T.I., 2019. Vaccines against equine influenza (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biol.* 54, 216–226.
- Krug, R.M., Yuan, W., Noah, D.L., Latham, A.G., 2003. Intracellular warfare between human influenza viruses and human cells: The roles of the viral NS1 protein. *Virology* 309, 181–189.
- Kuchipudi, S. V, Nissly, R.H., 2018. veterinary sciences Novel Flu Viruses in Bats and Cattle: “Pushing the Envelope” of Influenza Infection 1–10.
- Laabassi, F., 2016. Epidemiology of Equine Influenza Viruses, in: *Epidemiology of Communicable and Non-Communicable Diseases - Attributes of Lifestyle and Nature on Humankind* edited by Fyson Kasenga
- Laabassi, F., Lecouturier, F., Amelot, G., Gaudaire, D., Mamache, B., Laugier, C., Legrand, L., Zientara, S., Hans, A., 2015. Epidemiology and Genetic Characterization of H3N8 Equine Influenza Virus Responsible for Clinical Disease in Algeria in 2011. *Transbound. Emerg. Dis.* 62, 623–631.
- Laabassi, F., 2015. *La Grippe Equine*. Ed : slefevre. Editions Universitaires Européennes, OmniScriptum GmbH & Co.KG., ISBN: 978-3-8416-6983-4.

- Laabassi, F., Mamache, B., 2014. Virus de la grippe équine : épidémiologie, diagnostic et vaccination. *Rev. Med. Vet. (Toulouse)*. 165, 31–43.
- Laabassi, F., Mamache, B., Guadire, D., Amelot, G., Nasri, A.M., Pronost, S., Legrand, L., HANS, A., 2012. Enquête séro-épidémiologique sur la grippe équine en Algérie. *Rev. Méd. Vét* 163, 227–234.
- Lai, A.C.K., Chambers, T.M., Holland, R.E., Morley, P.S., Haines, D.M., Townsend, H.G.G., Barrandeguy, M., 2001. Diverged evolution of recent equine-2 influenza (H3N8) viruses in the Western Hemisphere. *Arch. Virol.* 146, 1063–1074.
- Lamb, R.A., Choppin, P.W., 1981. Identification of a second protein (M2) encoded by RNA segment 7 of influenza virus. *Virology* 112, 729–737.
- Lazić, S., Savić, S., Petrović, T., Lazić, G., Žekić, M., Drobnjak, D., Lupulović, D., 2023. Serological Examinations of Significant Viral Infections in Domestic Donkeys at the Special Nature Reserve “Zasavica”, Serbia. *Animals* 13, 1–14.
- Lee, E.J., Kim, E.J., Shin, Y.K., Song, J.Y., 2016. Design and testing of multiplex RT-PCR primers for the rapid detection of influenza A virus genomic segments: Application to equine influenza virus. *J. Virol. Methods* 228, 114–122.
- Legrand, L.J., Pitel, P.H.Y., Marcillaud-Pitel, C.J., Cullinane, A.A., Couroucé, A.M., Fortier, G.D., Freymuth, F.L., Pronost, S.L., 2013. Surveillance of equine influenza viruses through the RESPE network in France from November 2005 to October 2010. *Equine Vet. J.* 45, 776–783.
- Lequin, R.M., 2005. Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Clin. Chem.* 51, 2415–2418.
- Lu, Z., Chambers, T.M., Boliar, S., Branscum, A.J., Sturgill, T.L., Timoney, P.J., Reedy, S.E., Tudor, L.R., Dubovi, E.J., Vickers, M.L., Sells, S., Balasuriya, U.B.R., 2009. Development and evaluation of one-step TaqMan real-time reverse transcription-PCR assays targeting nucleoprotein, matrix, and hemagglutinin genes of equine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.* 47, 3907–3913.
- Lunn, D.P., Hussey, S., Sebring, R., Rushlow, K.E., Radecki, S. V., Whitaker-Dowling, P., Youngner, J.S., Chambers, T.M., Holland, R.E., Horohov, D.W., 2001. Safety, efficacy, and immunogenicity of a modified-live equine influenza virus vaccine in ponies after induction of exercise-induced immunosuppression. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218, 900–906.

- Lunn, D.P., Soboll, G., Schram, B.R., Quass, J., McGregor, M.W., Drape, R.J., MacKlin, M.D., McCabe, D.E., Swain, W.F., Olsen, C.W., 1999. Antibody responses to DNA vaccination of horses using the influenza virus hemagglutinin gene. *Vaccine* 17, 2245–2258.
- Maclachlan, N., Dubovi, E.J., 2016. *Fenner's Veterinary Virology 5th Edition*, Fenner's Veterinary Virology.
- Magano, J., 2009. Synthetic Approaches to the Neuraminidase Inhibitors Zanamivir (Relenza) and Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) for the Treatment of Influenza. *Chem. Rev.* 109, 4398–4438.
- Manuguerra, J.C., Zientara, S., Sailleau, C., Rousseaux, C., Gicquel, B., Rijks, I., Van Der Werf, S., 2000. Evidence for evolutionary stasis and genetic drift by genetic analysis of two equine influenza H3 viruses isolated in France. *Vet. Microbiol.* 74, 59–70.
- Marc, D., 2014. Influenza virus non-structural protein NS1: Interferon antagonism and beyond. *J. Gen. Virol.* 95, 2594–2611.
- Marc, D., 2012. NS1 des virus influenza : Une protéine très « influente ». *Virologie* 16, 95–106.
- Martínez-Sobrido, L., Peersen, O., Nogales, A., 2018. Temperature sensitive mutations in influenza a viral ribonucleoprotein complex responsible for the attenuation of the live attenuated influenza vaccine. *Viruses* 10.
- McAuley, J.L., Gilbertson, B.P., Trifkovic, S., Brown, L.E., McKimm-Breschkin, J.L., 2019. Influenza virus neuraminidase structure and functions. *Front. Microbiol.* 10.
- Mei-Ling Li, P.R. and R.M.K., 2001. The active sites of the influenza cap-dependent endonuclease are on different polymerase subunits. *EMBO J.* 20, 2078–2086.
- Mena, J., Brito, B., Moreira, R., Tadich, T., González, I., Cruces, J., Ortega, R., van Bakel, H., Rathnasinghe, R., Pizarro-Lucero, J., Medina, R., Neira, V., 2018. Reemergence of H3N8 Equine Influenza A virus in Chile, 2018. *Transbound. Emerg. Dis.* 65, 1408–1415.
- Min, J.Y., Subbarao, K., 2010. Cellular targets for influenza drugs. *Nat. Biotechnol.* 28, 239–240.

- Moreira, R., García, A., Ahumada, C., Badía, C., Suárez, P., Yangari, B., Aguayo, C., Herrera, J., Espejo, G., Pinto, E., 2019. Report of 2018 equine influenza outbreak in Chile. *Austral J. Vet. Sci.* 51, 27–31.
- Mostafa, A., Abdelwhab, E.M., Mettenleiter, T.C., Pleschka, S., 2018. Zoonotic potential of influenza A viruses: A comprehensive overview. *Viruses* 10, 1–38.
- Mumford, J.A., Hannant, D., Jessett, D.M., 1990. Experimental infection of ponies with equine influenza (H3N8) viruses by intranasal inoculation or exposure to aerosols. *Equine Vet. J.* 22, 93–98.
- Muranaka, M., Yamanaka, T., Katayama, Y., Hidari, K., Kanazawa, H., Suzuki, T., Oku, K., Oyamada, T., 2010. Distribution of influenza virus sialoreceptors on upper and lower respiratory tract in horses and dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 125–127.
- Myers, C., Wilson, W.D., 2006. Equine Influenza Virus. *Clin. Tech. Equine Pract.* 5, 187–196.
- Na, W., Lyoo, K.S., Yoon, S.W., Yeom, M., Kang, B., Moon, H., Kim, H.K., Jeong, D.G., Kim, J.K., Song, D., 2016. Attenuation of the virulence of a recombinant influenza virus expressing the naturally truncated NS gene from an H3N8 equine influenza virus in mice. *Vet. Res.* 47, 1–9.
- Naffakh, N., Tomoiu, A., Rameix-Welti, M.A., Van Der Werf, S., 2008. Host restriction of avian influenza viruses at the level of the ribonucleoproteins. *Annu. Rev. Microbiol.* 62, 403–424.
- Nayak, D.P., Balogun, R.A., Yamada, H., Zhou, Z.H., Barman, S., 2009. Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus Res.* 143, 147–161.
- Nelson, K.M., Schram, B.R., McGregor, M.W., Sheoran, A.S., Olsen, C.W., Lunn, D.P., 1998. Local and systemic isotype-specific antibody responses to equine influenza virus infection versus conventional vaccination. *Vaccine* 16, 1306–1313.
- Nemoto, M., Okita, N., Kitahata, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kinoshita, Y., Kambayashi, Y., Cullinane, A., Yamanaka, T., Ohta, M., 2020. Evaluation of cobas Influenza A/B & RSV Test for Diagnosis of Equine Influenza. *J. Equine Vet. Sci.* 94.
- Nemoto, M., Reedy, S.E., Yano, T., Fukuda, S., Garvey, M., Kambayashi, Y., Koji, H.B., Chambers, T., Yamanaka, T., Cullinane, A., M., T., 2023. Antigenic comparison of H3N8

- equine influenza viruses belonging to Florida sublineage clade 1 between vaccine strains and North American strains isolated in 2021 – 2022. *Arch. Virol.* 168, 1–5.
- Nemoto, M., Tamura, N., Bannai, H., Tsujimura, K., Kokado, H., Ohta, M., Yamanaka, T., 2019. Mutated influenza A virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir marboxil from an experimentally infected horse. *J. Gen. Virol.* 100, 1471–1477.
- Neumann, G., 2021. Influenza reverse genetics-historical perspective. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 11.
- Newton, J.R., Daly, J.M., Spencer, L., Mumford, J.A., 2006. Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease. *Vet. Rec.* 158, 185–192.
- Nyaga, P.N., Wiggins, A.D., Priester, W.A., 1980. Epidemiology of equine influenza, risk by age, breed and sex. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 3, 67–73.
- O’Neill, R.E., Talon, J., Palese, P., 1998. The influenza virus NEP (NS2 protein) mediates the nuclear export of viral ribonucleoproteins. *EMBO J.* 17, 288–296.
- Ohta, M., Bannai, H., Kambayashi, Y., Tamura, N., Tsujimura, K., Yamayoshi, S., Kawaoka, Y., Nemoto, M., 2021. Growth properties and immunogenicity of a virus generated by reverse genetics for an inactivated equine influenza vaccine. *Equine Vet. J.* 1–6.
- Ohta, M., Bannai, H., Nemoto, M., Kambayashi, Y., Tamura, N., Tsujimura, K., 2020. Antibody Responses Against Equine Influenza Virus Induced by Concurrent and by Consecutive Use of an Inactivated Equine Influenza Virus Vaccine and a Modified Live Equine Herpesvirus Type 1 Vaccine in Thoroughbred Racehorses. *J. Equine Vet. Sci.* 94, 103221.
- OIE, 2022. Expert surveillance panel on équine influenza vaccine composition. WOAHP 2022, 1–3. Disponible sur : <https://www.woah.org/app/uploads/2022/10/expert-surveillance-panel-on-equine-influenza-vaccine-composition.pdf>. (Consulté le 17 Septembre 2023).
- OIE, 2020. OIE Expert surveillance panel on equine influenza vaccine composition. *Bulletin* 2020, 1–69.
- OIE, 2019a. Equine influenza (infection with equine influenza virus). *WOAH Terr. Man.* 2019 1–20.

- OIE, 2019b. OIE Expert Surveillance Panel on Equine Influenza Vaccine Composition. Bulletin 2019, 1–7.
- Okazaki, K., Kawaoka, Y., Webster, R.G., 1989. Evolutionary Pathways of the PA Genes of Influenza A Viruses 172, 601–608.
- Oladunni, F.S., Oseni, S.O., Martinez-Sobrido, L., Chambers, T.M., 2021. Equine Influenza Virus and Vaccines. Viruses 13, 1657.
- Olguin-Periglione, C., Barrandeguy, M.E., 2021. An overview of equine influenza in south america. Viruses 13.
- Olguin-Periglione, C., Vissani, M.A., Alamos, F., Tordoya, M.S., Barrandeguy, M., 2020. Multifocal outbreak of equine influenza in vaccinated horses in Argentina in 2018: Epidemiological aspects and molecular characterisation of the involved virus strains. Equine Vet. J. 52, 420–427.
- Olsen, C.W., McGregor, M.W., Dybdahl-Sissoko, N., Schram, B.R., Nelson, K.M., Lunn, D.P., Macklin, M.D., Swain, W.F., Hinshaw, V.S., 1997. Immunogenicity and efficacy of baculovirus-expressed and DNA-based equine influenza virus hemagglutinin vaccines in mice. Vaccine 15, 1149–1156.
- Olufemi, O.T., Edeh, E.R., Isyaku, M.S., Haliru, M., Samaila, S., Mshelia, P.W., Owolodun, O.A., Newton, J.R., Daly, J.M., 2022. Seroprevalence of Equine Influenza and Its Associated Risk Factors in Northwest Nigeria. Pathogens 11, 1372.
- Paillot, R., 2014. A systematic review of recent advances in equine influenza vaccination. Vaccines 2, 797–831.
- Paillot, R., Grimmett, H., Elton, D., Daly, J.M., 2008. Protection, systemic IFN γ , and antibody responses induced by an ISCOM-based vaccine against a recent equine influenza virus in its natural host. Vet. Res. 39.
- Paillot, R., Hannant, D., Kydd, J.H., Daly, J.M., 2006. Vaccination against equine influenza: Quid novi? Vaccine 24, 4047–4061.
- Paillot, R., Pitel, P.H., Pronost, S., Legrand, L., Fougerolle, S., Jourdan, M., Marcillaud-Pitel, C., 2019. Florida clade 1 equine influenza virus in France. Vet. Rec. 184, 101.

- Paillot, R., Prowse, L., 2012. ISCOM-matrix-based equine influenza (EIV) vaccine stimulates cell-mediated immunity in the horse. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 145, 516–521.
- Paillot, R., Rash, N.L., Garrett, D., Prowse-Davis, L., Montesso, F., Cullinane, A., Lemaitre, L., Thibault, J.C., Wittreck, S., Dancer, A., 2016. How to meet the last oie expert surveillance panel recommendations on equine influenza (EI) vaccine composition: A review of the process required for the recombinant canarypox-based EI vaccine. *Pathogens* 5, 1–13.
- Pang, I.K., Iwasaki, A., 2011. Inflammasomes as mediators of immunity against influenza virus. *Trends Immunol.* 32, 34–41.
- Pasricha, G., Mukherjee, S., Chakrabarti, A.K., 2018. Apoptotic and Early Innate Immune Responses to PB1-F2 Protein of Influenza A Viruses Belonging to Different Subtypes in Human Lung Epithelial A549 Cells. *Adv. Virol.* 2018.
- Paterson, D., Fodor, E., 2012. Emerging Roles for the Influenza A Virus Nuclear Export Protein (NEP). *PLoS Pathog.* 8, 1–8.
- Patterson-Kane, J.C., Carrick, J.B., Axon, J.E., Wilkie, I., Begg, A.P., 2008. The pathology of bronchointerstitial pneumonia in young foals associated with the first outbreak of equine influenza in Australia. *Equine Vet. J.* 40, 199–203.
- Peek, S.F., Landolt, G., Karasin, A.I., Slack, J.A., Steinberg, H., Semrad, S.D., Olsen, C.W., 2004. Acute Respiratory Distress Syndrome and Fatal Interstitial Pneumonia Associated with Equine Influenza in a Neonatal Foal. *J. Vet. Intern. Med.* 18, 132–134.
- Pellegrini, F., Buonavoglia, A., Omar, A.H., Diakoudi, G., Lucente, M.S., Odigie, A.E., Sposato, A., Augelli, R., Camero, M., Decaro, N., Elia, G., Bányai, K., Martella, V., Lanave, G., 2023. A Cold Case of Equine Influenza Disentangled with Nanopore Sequencing. *Animals* 13, 1–12.
- Pielak, R.M., Chou, J.J., 2011. Influenza M2 proton channels. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 1808, 522–529.
- Powell, D.G., 1991. Viral respiratory disease of the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 7, 27–52.
- Prokudina-Kantorovich, E., Semenova, P., 1996. Intracellular Oligomerization of Influenza Virus Nucleoprotein 56, 1–6.

- Quinlivan, M., Dempsey, E., Ryan, F., Arkins, S., Cullinane, A., 2005a. Real-time reverse transcription PCR for detection and quantitative analysis of equine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.* 43, 5055–5057.
- Quinlivan, M., Zamarin, D., García-Sastre, A., Cullinane, A., Chambers, T., Palese, P., 2005b. Attenuation of Equine Influenza Viruses through Truncations of the NS1 Protein. *J. Virol.* 79, 8431–8439.
- Ramsay, A.J., Husband, A.J., Ramshaw, I.A., Bao, S., Matthaei, K.I., Koehler, G., Kopf, M., 1994. The role of interleukin-6 in mucosal IgA antibody responses in vivo. *Science.* 264, 561–563.
- Rash, A., 2017. Diagnosis of equine influenza. *Vet. Rec.* 181, 113–114.
- Reemers, S., Sonnemans, D., Horspool, L., van Bommel, S., Cao, Q., van de Zande, S., 2020. Determining Equine Influenza Virus Vaccine Efficacy—The Specific Contribution of Strain Versus Other Vaccine Attributes. *Vaccines* 8, 501.
- Rees, W.A., Harkins, J.D., Lu, M., Holland, R.E., Lehner, A.F., Tobin, T., Chambers, T.M., 1999. Pharmacokinetics and therapeutic efficacy of rimantadine in horses experimentally infected with influenza virus A2. *Am. J. Vet. Res.* 60, 888–894.
- Rehwinkel, J., Tan, C.P., Goubau, D., Schulz, O., Pichlmair, A., Bier, K., Robb, N., Vreede, F., Barclay, W., Fodor, E., Reis e Sousa, C., 2010. RIG-I Detects Viral Genomic RNA during Negative-Strand RNA Virus Infection. *Cell* 140, 397–408.
- Rodriguez, L., Reedy, S., Nogales, A., Murcia, P.R., Chambers, T.M., Martinez-Sobrido, L., 2018. Development of a novel equine influenza virus live-attenuated vaccine. *Virology* 516, 76–85.
- Rossman, J.S., Jing, X., Leser, G.P., Lamb, R.A., 2010. Influenza Virus M2 Protein Mediates ESCRT-Independent Membrane Scission. *Cell* 142, 902–913.
- Rossman, J.S., Lamb, R.A., 2011. Influenza virus assembly and budding. *Virology* 411, 229–236.
- Ruigrok, R.W.H., Baudin, F., 1995. Structure of influenza virus ribonucleoprotein particles. II. Purified RNA-free influenza virus ribonucleoprotein forms structures that are indistinguishable from the intact influenza virus ribonucleoprotein particles. *J. Gen. Virol.* 76, 1009–1014.

- Ruszkowska, A., Lenartowicz, E., Moss, W.N., Kierzek, R., Kierzek, E., 2016. Secondary structure model of the naked segment 7 influenza A virus genomic RNA. *Biochem. J.* 473, 4327–4348.
- Saito, T., Webster, R.G., 1992. Characterization of a New Avian-like influenza A Virus from Horses in China 255, 245–255.
- Samji, T., 2009. Influenza A: Understanding the viral life cycle. *Yale J. Biol. Med.* 82, 153–159.
- Schild, G.C., Pereira, M.S., Chakraverty, P., 1975. Single radial haemolysis: a new method for the assay of antibody to influenza haemagglutinin. Applications for diagnosis and seroepidemiologic surveillance of influenza. *Bull. World Health Organ.* 52, 43–50.
- Schmitt, A.P., Lamb, R.A., 2005. Influenza Virus Assembly and Budding at the Viral Budding Zone. *Adv. Virus Res.* 64, 383–416.
- Scholtens, R.G., Steele, J.H., Dowdle, W.R., Yarbrough, W.B., Robinson, R.Q., 1964. U.S. Epizootic of Equine Influenza, 1963. *Public Heal. reports (Washington, D.C. 1896)* 79, 393–402.
- Schroeder, C., Heider, H., Möncke-Buchner, E., Lin, T.I., 2005. The influenza virus ion channel and maturation cofactor M2 is a cholesterol-binding protein. *Eur. Biophys. J.* 34, 52–66.
- Schultz-Cherry, S., Dybdahl-Sissoko, N., Neumann, G., Kawaoka, Y., Hinshaw, V.S., 2001. Influenza Virus NS1 Protein Induces Apoptosis in Cultured Cells. *J. Virol.* 75, 7875–7881.
- Scott, S.D., Kinsley, R., Temperton, N., Daly, J.M., 2016. The optimisation of pseudotyped viruses for the characterisation of immune responses to equine influenza virus. *Pathogens* 5, 1–8.
- Shi, L., Galarza, J.M., Summers, D.F., 1961. Recombinant-baculovirus-expressed PB2 subunit of the influenza A virus RNA polymerase binds cap groups as an isolated. *Bmj* 2, 98–98.
- Shittu, I., Meseko, C.A., Sulaiman, L.P., Inuwa, B., Mustapha, M., Zakariya, P.S., Muhammad, A.A., Muhammad, U., Atuman, Y.J., Barde, I.J., Zecchin, B., Quaranta, E.G., Shamaki, D., Alabi, O., Monne, I., Fusaro, A., Joannis, T.M., 2020. Fatal multiple outbreaks of equine influenza H3N8 in Nigeria, 2019: The first introduction of Florida clade 1 to West Africa. *Vet. Microbiol.* 248, 108820.

- Shtyrya, Y.A., Mochalova, L. V, Bovin, N., 2009. Influenza virus neuraminidase: structure and function. *Acta Naturae* (англоязычная версия) 1, 26–32.
- Singh, R.K., Dhama, K., Karthik, K., Khandia, R., Munjal, A., Khurana, S.K., Chakraborty, S., Malik, Y.S., Virmani, N., Singh, R., Tripathi, B.N., Munir, M., van der Kolk, J.H., 2018. A comprehensive review on equine influenza virus: Etiology, epidemiology, pathobiology, advances in developing diagnostics, vaccines, and control strategies. *Front. Microbiol.* 9, 1–26.
- Skehel, J.J., Wiley, D.C., 1999. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu. Rev. Biochem.* 777–810.
- Soboll, G., Horohov, D.W., Aldridge, B.M., Olsen, C.W., McGregor, M.W., Drape, R.J., Macklin, M.D., Swain, W.F., Lunn, D.P., 2003a. Regional antibody and cellular immune responses to equine influenza virus infection, and particle mediated DNA vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 94, 47–62.
- Soboll, G., Nelson, K.M., Leuthner, E.S., Clark, R.J., Drape, R., Macklin, M.D., Swain, W.F., Olsen, C.W., Lunn, D.P., 2003b. Mucosal co-administration of cholera toxin and influenza virus hemagglutinin-DNA in ponies generates a local IgA response. *Vaccine* 21, 3081–3092.
- Sovinova, O., Tumova, B., Pouska, F., J. Nemeč, 1958. Isolation of a virus causing respiratory diseases in horses. *Acta. virol.* 1, 52–61.
- Stauffer, S., Nebioglu, F., Helenius, A., 2016. In vitro disassembly of influenza A virus capsids by gradient centrifugation. *J. Vis. Exp.* 2016, 1–6.
- Steinhauer, D.A., 1999. 1999 Steinhauer Role of Hemagglutinin Cleavage for 20, 1–20.
- Strategy, D., 2007. Disease Strategy Equine influenza. Response.
- Sugiura, T., Kondo, T., Matsumura, T., Imagawa, H., Kamada, M., Ihara, T., 1997. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for titration of antibody to equine herpesvirus type 1. *J. Equine Sci.* 8, 57–61.
- Szewczyk, B., Bieńkowska-Szewczyk, K., Król, E., 2014. Introduction to molecular biology of influenza A viruses. *Acta Biochim. Pol.* 61, 397–401.
- Timoney, P.J., 1996. Equine influenza. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 19, 205–211.
- Tong, S., Zhu, X., Li, Y., Shi, M., Zhang, J., Bourgeois, M., Yang, H., Chen, X., Recuenco, S., Gomez, J., Chen, L.M., Johnson, A., Tao, Y., Dreyfus, C., Yu, W., McBride, R., Carney, P.J.,

- Gilbert, A.T., Chang, J., Guo, Z., Davis, C.T., Paulson, J.C., Stevens, J., Rupprecht, C.E., Holmes, E.C., Wilson, I.A., Donis, R.O., 2013. New World Bats Harbor Diverse Influenza A Viruses. *PLoS Pathog.* 9.
- Tu, J., Zhou, H., Jiang, T., Li, C., Zhang, A., Guo, X., Zou, W., Chen, H., Jin, M., 2009. Isolation and molecular characterization of equine H3N8 influenza viruses from pigs in China. *Arch. Virol.* 154, 887–890.
- Van Maanen, C., Cullinane, A., 2002. Equine influenza virus infections: An update. *Vet. Q.* 24, 79–94.
- Varghese, J.N., Laver, W.G., Colman, P.M., 1983. Structure of the influenza virus glycoprotein antigen neuraminidase at 2.9 Å resolution. *Nature* 303, 35–40.
- Virmani, N., Pavulraj, S., Bera, B.C., Anand, T., R. K. Singh, Tripathi, B.N., 2020. Equine influenza virus, in: *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*. pp. 215–238.
- Waddell, G.H., 1963. A New Influenza Virus Associated with Equine Respiratory Disease. *J. Amer. vet. med. Assoc.* 143, 587–590.
- Waghmare, S.P., Mode, S.G., Kolte, A.Y., Babhulkar, N., Vyavahare, S.H., Patel, A., 2010. Equine influenza: An overview. *Vet. World* 3, 194–197.
- Wang, X., Basler, C.F., Williams, B.R.G., Silverman, R.H., Palese, P., García-Sastre, A., 2002. Functional Replacement of the Carboxy-Terminal Two-Thirds of the Influenza A Virus NS1 Protein with Short Heterologous Dimerization Domains. *J. Virol.* 76, 12951–12962.
- Warda, F., shosha, eman, abdelraouf, aml, Anes Kalad, M., 2021. Immunogenicity of inactivated Equine Influenza (H3N8) virus vaccine with different adjuvants in equine. *Benha Vet. Med. J.* 40, 5–11.
- Webster, G.R., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, T.M., Kawakami, Y., 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiol. Rev.* 56, 152–179.
- Webster, R.G., 1993. Are equine influenza viruses still present in horses? *Equine Vet. J.* 25, 537–538.
- Webster, R.G., Fynan, E.F., Santoro, J.C., Robinson, H., 1994. Protection of ferrets against influenza challenge with a DNA vaccine to the haemagglutinin. *Vaccine* 12, 1495–1498.
- Webster, R.G., Guo, Y.J., 1991. New Influenza virus in horses. *Nature* 351, 527.

- Webster, R.G., Laver, W.G., Air, G.M., Schild, G.C., 1982. Molecular mechanisms of variation in influenza viruses. *Nature* 296, 115–121.
- Wen, F., Wan, X.F., 2019. Influenza Neuraminidase: Underrated Role in Receptor Binding. *Trends Microbiol.* 27, 477–479.
- Whitlock, F., Grewar, J., Newton, R., 2022a. An epidemiological overview of the equine influenza epidemic in Great Britain during 2019. *Equine Vet. J.* 1–12.
- Whitlock, F., Murcia, P.R., Newton, J.R., 2022b. A Review on Equine Influenza from a Human Influenza Perspective. *Viruses* 14.
- WHO, 1980. Influenza Nomenclature. *Wkly Epidem. Rec.* 38, 294–295.
- Wilson, I.A., Skehel, J.J., Wiley, D.C., 1981. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 Å resolution. *Nature* 289, 366–373.
- Wilson, W.D., 1993. Equine Influenza. *Vet. Clin. North Am. - Equine Pract.*
- Wise, H.M., Foeglein, A., Sun, J., Dalton, R.M., Patel, S., Howard, W., Anderson, E.C., Barclay, W.S., Digard, P., 2009. A Complicated Message: Identification of a Novel PB1-Related Protein Translated from Influenza A Virus Segment 2 mRNA. *J. Virol.* 83, 8021–8031.
- Wu, N.C., Wilson, I.A., 2020. Influenza Hemagglutinin Structures and Antibody Recognition. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 10.
- Yadav, M.P., Uppal, P.K., Mumford, J.A., 1993. Physico-chemical and biological characterization of A/Equi-2 virus isolated from 1987 equine influenza epidemic in India. *International Journal of Animal Sciences*, 1993, Vol. 8, No. 1, 93-98.
- Yamanaka, T., Bannai, H., Nemoto, M., Tsujimura, K., Kondo, T., Muranaka, M., Hobo, S., Minamijima, Y.H., Yamada, M., Matsumura, T., 2012. Efficacy of a single intravenous dose of the neuraminidase inhibitor peramivir in the treatment of equine influenza. *Vet. J.* 193, 358–362.
- Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Fu, T.Q.H., Fernandez, C.J., Gildea, S., Cullinane, A., 2017. Rapid diagnosis of equine influenza by highly sensitive silver amplification immunochromatography system. *J. Vet. Med. Sci.* 79, 1061–1063.

- Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Gildea, S., Cullinane, A., 2016. Evaluation of twenty-two rapid antigen detection tests in the diagnosis of Equine Influenza caused by viruses of H3N8 subtype. *Influenza Other Respi. Viruses* 10, 127–133.
- Yang, H., Xiao, Y., Meng, F., Sun, F., Chen, M., Cheng, Z., Chen, Y., Liu, S., Chen, H., 2018. Emergence of H3N8 equine influenza virus in donkeys in China in 2017. *Vet. Microbiol.* 214, 1–6.
- Yang, J., Yang, L., Zhu, W., Wang, D., Shu, Y., 2021. Epidemiological and Genetic Characteristics of the H3 Subtype Avian Influenza Viruses in China. *China CDC Wkly.* 3, 929–936.
- Yondon, M., Zayat, B., Nelson, M.I., Heil, G.L., Anderson, B.D., Lin, X., Halpin, R.A., McKenzie, P.P., White, S.K., Wentworth, D.E., Gray, G.C., 2014. Equine influenza A(H3N8) virus isolated from bactrian camel, Mongolia. *Emerg. Infect. Dis.* 20, 2144–2147.
- Yongfeng, Y., Xiaobo, S., Nan, X., Jingwen, Z., Wenqiang, L., 2020. Detection of the epidemic of the H3N8 subtype of the equine influenza virus in large-scale donkey farms. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 8, 26–30.
- Young, D., Fowler, C., Bush, K., 2001. RWJ-270201 (BCX-1812): A novel neuraminidase inhibitor for influenza. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 356, 1905–1913.
- Youngner, J.S., Whitaker-Dowling, P., Chambers, T.M., Rushlow, K.E., Sebring, R., 2001. Derivation and characterization of a live attenuated equine influenza vaccine virus. *Am. J. Vet. Res.* 62, 1290–1294.
- Zanaty, A.M., Erfan, A.M., Mady, W.H., Amer, F., Nour, A.A., Rabie, N., Samy, M., Selim, A.A., Hassan, W.M.M., Naguib, M.M., 2019. Avian influenza virus surveillance in migratory birds in Egypt revealed a novel reassortant H6N2 subtype. *Avian Res.* 10, 1–10.
- Zhang, M., Liu, M., Bai, S., Zhao, C., Li, Z., Xu, J., Zhang, X., 2021. Influenza A Virus–Host Specificity: An Ongoing Cross-Talk Between Viral and Host Factors. *Front. Microbiol.* 12, 1–9.

Résumé

La grippe équine (EI) est l'une des infections respiratoires les plus contagieuses chez les chevaux, les ânes et les mulets, causée par le virus influenza équin (EIV) du genre *Alphainfluenzavirus* de la famille des *Orthomyxoviridae*. Deux sous-types d'EIV sont responsables de la grippe équine : le sous-type H7N7 et le sous-type H3N8. Cependant, le sous-type H3N8 a persisté jusqu'à ce jour. Au cours de la première semaine du mois de Mars 2021, une épizootie de la grippe équine a été signalée dans la région d'El Eulma (Wilaya de Sétif), se propageant rapidement dans différentes régions du pays. Cette étude vise à évaluer la séroprévalence de la grippe équine en Algérie en fonction de l'âge, de l'espèce, de la race, de la région, du sexe des équidés et du statut vaccinal des chevaux, sachant que la vaccination contre la grippe équine n'est pas obligatoire dans notre pays, tout en incluant l'analyse phylogénétique des gènes HA et NA de l'EIV responsable de la récente épizootie. Cette étude démontre pour la première fois la détection de la souche FC1 de l'EIV dans la région du Maghreb.

Mots clés :

Grippe équine, H3N8, FC 1, NP-ELISA, Séro-épidémiologie, Phylogénie, Algérie.

Abstract

Equine influenza (EI) is one of the most contagious respiratory infections in horses, donkeys, and mules, caused by equine influenza virus (EIV) belonging to the genus *Alphainfluenzavirus* in the family *Orthomyxoviridae*. Two subtypes of EIV have been responsible for causing equine influenza: H7N7 subtype and H3N8 subtype. However, the H3N8 subtype has persisted to this day. During the first week of March 2021, an outbreak of equine influenza was signaled in the region of El Eulma (Wilaya of Sétif), spreading rapidly to different regions of the country. This study aims to evaluate the seroprevalence of equine influenza in Algeria according to age, species, breed, region, sex of equines and the vaccination status of horses, knowing that vaccination against equine influenza is not mandatory in our country, while including the phylogenetic analysis of the HA and NA genes of the EIV responsible for the recent epizootic. This study demonstrates for the first time the detection of the FC1 strain of EIV in the Maghreb area.

Keywords:

Equine influenza H3N8, Florida clade 1, NP-ELISA, Seroepidemiology, Phylogeny, Algeria

ملخص

تعد إنفلونزا الخيول (EI) واحدة من أكثر حالات التهابات الجهاز التنفسي المعدية عند الخيول والحمير والبغال، وهي ناجمة عن فيروس إنفلونزا الخيول (EIV) من جنس *Alphainfluenzavirus* عائلة *Orthomyxoviridae*. هناك نوعان فرعيان من EIV مسؤولان عن أنفلونزا الخيول: النوع الفرعي H7N7 والنوع الفرعي H3N8. خلال الأسبوع الأول من شهر مارس 2021، تم الإبلاغ عن حالة وبائية لأنفلونزا الخيول في منطقة العلما (ولاية سطيف)، والتي انتشرت بسرعة في مناطق مختلفة من البلاد. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الانتشار المصلي لأنفلونزا الخيول في الجزائر حسب العمر والنوع والسلالة والمنطقة وجنس الخيول وحالة التطعيم للخيول، مع العلم أن التطعيم ضد أنفلونزا الخيول ليس إلزامياً في بلدنا، في حين تشمل التحليل التطوري لجينات HA و NA في فيروس إنفلونزا الخيول المسؤولة عن الوباء الحيواني الأخير. توضح هذه الدراسة لأول مرة اكتشاف سلالة FC1 من EIV في منطقة المغرب العربي.

الكلمات المفتاحية:

إنفلونزا الخيول (H3N8)، فلوريدا فرع 1، NP-ELISA، السيرولوجية، تطور الأنساب، الحصان، الجزائر.