République Algérienne Démocratique et populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE YAHIA FARES -MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de **Master**
en : Science de la nature et de la vie
Spécialité : **Biologie et Pathologie Cellulaire**

Par **:**
- DJELLABI Imene

- ARIBI Fahima

THEME :

Etude Sérologique de la Bronchite Infectieuse Aviaire

Devant le Jury composé de :

Dr. **SALHI Omar**	M.C.A	Univ- BLIDA	Promoteur
Mr. **BACHENE M. S.**	M.C.A	Univ- MEDEA	Co-Promoteur
Dr. **KAABOUBE**	M.C.B	Univ-MEDEA	Examinateur
Dr. **MESSAI CH.R**	M.C.A	Univ- Alger	Examinateur

Année universitaire : 2020/2021



Remerciement

من قول الرسول الكريم صلى الله عليه وسلم:(من صنع إليكم معروفا فكافئوه، فإن لم تجدوا ما تكافئونه به فادعوا له حتى تروا أنكم كافأتموه...) رواه أبو داوود

Les premières personnes que nous tenons à remercier sont nos encadrant ***Ms SALHI Omar*** *et* ***Ms BACHENE Mohamed Sadek*** *pour guidés de leur conseils avisés afin de mener à bien ce travail.*

Nous n'oublions pas non plus ceux qui nous ont aidés et nous ont fourni les informations nécessaires pour mener à bien cette recherche, notamment le vétérinaire ***Benkouider Saada.***

On teint à remercie aussi:

- *Les membres de jury pour avoir accepté d'évaluer notre travail.*
- *Le corps d'enseignants.*
- *Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans l'élaboration de ce mémoire.*

Imene et Fahima



Dédicace

*Avant tous je remercie **ALLAH** qui m'a donné la volonté de continuer mes études et faire ce modest travail, j'ai l'honneur et le plaisir de dédier ce modeste travail à :*

***Mes très chers parents ;** qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes cotés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parent*

***Mes frères ;** Fathi ; Kamel ;Mahfoud et **Mes sœur ;** Fatima El Zahra ; Souhila qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

***Mes neuveux nièces ;** Alaa ; Ramzi ; Iyad ; Adem.*

***Mes belles sœurs ;** Sabrine et Asma.*

***A mes amis ;** Pour tous ces bons moments passés ensemble, puissent nos chemins se croiser le plus souvent possible : Islam ; Nadia ; Mounira ; Yassemin ; Djahida ; Manel ; Amira.*

***A mon binôme** ; fahima et toute sa famile.*

A toute les personnes qui j'ai recontrées durant mon cursus.

Imene

Fi



Dédicace

Je remercie Dieu de m'avoir donné le courage et la force pour arriver la où j'en suis, j'ai l'honneur et le plaisir de dédier ce modeste travail à :

A mon cher mes parents ; *et a que j'aime tant et qui m'ont encouragé, cru en moi et m'ont toujours dirigé vers le droit chemin.*

Mes frères ; *Ayoub ; Moussa ; Abd le razak ; Sidahmed et* ***Mes sœur ;*** *Hanane ; Khadîdja ; Fatima qui m'ont étaient d'une aide précieuse.*

Ma neveu ; *Anas.*

A mon marie ; *Riyad et sa famille.*

A mes amies ; *Marwa ; Rania ; Islam ; wafa ; Samai .*

A mon binôme *; Imene et toute sa famille.*

Une pensée a toute la promo 2020-2021.

Fahima

Résumé

Le présent travail a été mené dans le but de réaliser une étude sérologique de la bronchite infectieuse (BI) chez les poulets de chair dans la région de Médéa (5 élevages / 200 sérums) par la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à chaque maladie.

Nos résultats montrent que, parmi tous les élevages étudiés, IB a montré une positivité sérologique de 60%. Le risque de séropositivité était significativement plus faible au printemps de 55% (p = 0,03, OR=0.45). Cependant, les élevages ayant une densité plus élevée ou âgés de plus de 30 jours étaient plus séropositifs respectivement de 45 % (p = 0,04, OR=0.55) et 40 % (p = 0,02 ; OR=0.60).

L'enquête sérologique menée dans le cadre de cette étude a fourni un cadre important sur la bronchite infectieuse qui est une pathologie dominante en élevage de poulets de chair. Ainsi, nombreux facteurs sont responsables de l'apparition de cette maladie.

Mots clés : Sérologique ; bronchite infectieuse ; poulets de chair, Algérie.

Abstract

The present study was conducted in order to assess the serological and epidemiological state of infectious bronchitis (BI) in flesh chickens in Algeria (30 farms / 1200 serts) by the ELISA method and to evaluate the influence some of the risk factors associated with each disease.

Our results show that among all the breeding studied, IB showed a serological positivity of 40%. The risk of seropositivity was significantly lower in the spring of 40% ($p = 0.036$). However, farms with a higher density or over 30 days were more seropositive by 47% respectively ($p = 0.041$) and 45% ($p = 0.019$).

The serological investigation conducted under this study provided an important framework on infectious bronchitis, which is a dominant pathology in flesh chickens. Many factors are responsible for the appearance of this disease.

Key words: serology; infectious bronchitis; broiler Chickens, Algeria.

ملخص

أجريت هذه الدراسة من أجل تقييم الحالة المصلية والبيئة بالتهاب الشعب الهوائية المعدية (ثنائية) في دجاجات اللحم في الجزائر (30 من المزارع / 1200 سراح) من خلال طريقة ELISA وتقييم التأثير بعض عوامل الخطر المرتبطة بكل مرض وبعد تظهر نتائجنا أنه من بين جميع تربية الدراسة، أظهر IB إيجابية مصلية قدرها 40٪. كان خطر السيروبوسيتية أقل بكثير في ربيع 40٪ .(P = 0.036)ومع ذلك، كانت المزارع ذات الكثافة المرتفعة أو أكثر من 30 يوما أكثر واقعية بنسبة 47٪ على التوالي (P = 0.041) و 45٪ .(p = 0.019)قدم التحقيق المصلي الذي أجري بموجب هذه الدراسة إطارا هاما بشأن التهاب الشعب الهوائية المعدي وهو أمراض مهيمنة في الدجاج اللحم. العديد من العوامل هي المسؤولة عن ظهور هذا المرض .

الكلمات الرئيسية: فيروس نقص المناعة ؛ التهاب الشعب الهوائية المعدية. دجاج اللاحم ، الجزائر.

Liste d'Abréviations

AC : anticorps

AOM : Les anticorps d'origine maternels

ARN : acide ribonucléique

BI : bronchite infectieuse

CI : intervalle de confiance

CN : control négatif

CP : control positif

CV : coefficient de variation

DO : densité optique

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

IBD : maladie de Gumboro

JAVMA : journal of the american veterinary medical association

ND : Newcastle deseases

P : probabilité

S : sensibilité

SARS : Severe acut respiratory syndrom

VBI : virus de la bronchite infectieuse

VN : neutralisation virale

Liste des Figures

Figure 1 : Morphologies du virus du SARS 05
Figure 2 : Organisation génomique de l'VBI 06
Figure 3 : Analyses phylogénétiques des souches de BI à partir d'un séquençage du gène S1 07
Figure 4 : Lésions d'IBV sur des embryons de 17 jours 7 jours post-inoculation. Comparaison entre un embryon normal (droite) et 2 embryons infectés (gauche). Les embryons infectés présentent un retard de croissance important 08
Figure 5 : Poulettes présentant une dyspnée et une conjonctivite 13
Figure 6 : Les fausses pondeuses présentent une posture caractéristique "en pingouin" 14
Figure 7 : Œufs difformes à coquille minceet rugueuse 14
Figure 8 : Les œufs décolorés et tachés de sang 15
Figure 9 : Carte géographique dans le Médéa 21
Figure 10 : Les élevages prélevés 22
Figure 11 : Diagramme schématique des protocoles de vaccination utilisés dans les élevages prélevés (d : jour de vaccination) 23
Figure 12 : Technique de prélèvement 24
Figure13 : Les étapes de décantation du sérum..... 25
Figure 14 : Kit ELISA utilisé 26
Figure15 : Lecteur de ELISA 26
Figure16 : Signes cliniques et lésions observés 32
Figure17 : Effet de facteurs de risqué pour IB (A. suspicion clinique, C. saison, D. âge,E. densité) 35

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les vaccins utilisés (souche vaccinale, type de vaccin et mode d'administration 23
Tableau 2 : Les résultats sont interprétés de la façon suivante 29
Tableau 3 : Caractéristiques des élevages étudiés 30
Tableau 4: Etude sérologique.....33
Tableau 5: Sensibilité (%) et spécificité (%), avec intervalle de confiance à 95% (IC) et prévalence réelle du test sur la base des signes cliniques et lésionnels pour la détection de IB 33
Tableau 6: Effet de facteurs de risque pour IB 34

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION 01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA BRNCHITE INFECTIEUSE

I . Définition 03

II. Historique 03

III. Etiologie 04

IV. Pathogénie 09

V. Epidémiologie 10

1. Epidémiologie descriptive 10

2. Epidémiologie Analytique 11

VI. Symptôme 12

VII. Pathogénicité 16

VIII. Lésions 18

1. Lésions Macroscopique 18

2. Lésions Microscopique 18

XI. Traitement 19

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Problématique 20

II. Objectif 20

III Matériels et Méthodes. 21

III. 1. Régions et durée d'étude 21

III. 2. Animale 22

III. 3. Etude Clinique 23

III. 4. Echantillonnage 24

III. 5. Méthode de laboratoire 25
III. 6. Facteurs de risque 29
III. 7. Analyse statistique 31
IV. Résultats 32
IV. 1. Etude clinique 32
IV. 2. Etude sérologique 33
IV. 3. Etude de fiabilité de diagnostic 33
IV. 4. Les facteurs influençant l'apparition de BI 34
V. Discussion 36
V. 1. Etude sérologique 36
V. 2. Etude clinique 37
V. 3. Les facteurs influençant l'apparition des maladies BI 38
Conclusion Générale 40
Références Bibliographiques

Introduction

Introduction :

Le secteur de la volaille de chair est à la fois le plus important et le plus efficace au monde, ainsi que la plus grande industrie productrice de viande ***(Bowersock, 2002; Gupta et al, 2014).*** En effet, ce secteur est très important pour un nombre croissant de pays, l'Algérie en faisant partie. La production de poulets de chair est toutefois menacée par un certain nombre de maladies infectieuses causant des pertes économiques énormes, notamment les maladies virales, telles que la maladie de Newcastle (ND), la bronchite infectieuse (IB) et la bursite infectieuse (Gumboro, IBD) et qui sont fréquentes dans ce secteur ***(Lillehoj et al, 2003; Pradhan et al, 2014; Mohan et al, 2006).***

La bronchite infectieuse aviaire (IB) est une maladie virale aiguë, hautement contagieuse et économiquement importante chez les poulets, causée par le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) ***(Ahmed et al, 2007; Pradhan et al, 2014).*** Virus de la famille des Coronaviridae, l'IBV se caractérise par une grande variabilité génétique et pathogène, et de nouvelles variantes continuent à émerger ***(Bochkov et al. 2006; Dolz et al, 2008; Abdel-Moneim et al., 2009; ICTV, 2011; Amin et al. , 2012; Auvigne et al, 2013; Seger et al, 2016).*** Selon les signes cliniques, l'IB est généralement divisé en types néphropathogène et respiratoire et peut se propager dans des unités à âges multiples ***(Khan et al 2005; Bing et al, 2007; Abao et al, 2015).***

En effet, les facteurs de risque liés à la biosécurité et aux pratiques agricoles semblent jouer un rôle important dans la gravité de ces maladies observées dans les fermes touchées ***(Jaganathan et al., 2015).***

Diverses méthodes de diagnostic telles que l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ont été fréquemment utilisées dans le monde entier pour détecter les virus portés par les échantillons de terrain ***(Desingu et al., 2014).*** L'avantage de ce test est de mesurer la réaction sérologique d'un oiseau à l'agent pathogène au fil du temps ***(Auvigne et al. 2013).***

À notre connaissance, il s'agit du premier travail de recherche utilisant la méthode ELISA pour étudier les principales pathologies virales aviaires accompagnées de signes cliniques dans les élevages de poulets de chair dans le nord de l'Algérie.

Par conséquent, la présente étude a donc été menée dans le cadre d'une enquête séro-épidémiologique sur la bronchite infectieuse qui est fréquente dans le terrain algérien en utilisant la méthode ELISA, ainsi pour évaluer les facteurs de risque liés à chaque maladie.

Dans ce manuscrit, nous présenterons dans un premier temps, une partie bibliographique rappelant quelques généralités sur la bronchite infectieuse.
La partie expérimentale comprendra le matériel et les méthodes mis en œuvre pour la réalisation de ce travail, ainsi que les résultats obtenus. Enfin, nous terminerons par une discussion générale qui permettra de faire une synthèse des résultats et de proposer les recommandations.

Chapitre I

Etude de la Bronchite Infectieuse Aviaire

I. Définition :

La bronchite infectieuse est une maladie virale affectant la poule, plus particulièrement les poules pondeuses et les poussins. Elle est due à un Coronavirus.

Elle est caractérisée sur le plan clinique par des signes généraux de fièvre, d'apathie et d'anorexie associés aux signes respiratoire. Les principales pertes économiques sont surtout liées à une faible conversion alimentaire, aux condamnations à l'abattoir, à une mortalité due aux agents pathogènes secondaires tels que E. Coli, M. gallisepticum et enfin aux pertes chez les pondeuses suite à la chute de ponte ou aux déclassements des œufs ***(Venne et Silim, 1992).***

II. Historique :

Le premier coronavirus découvert est un virus animal, responsable chez les volailles d'une maladie respiratoire aiguë très contagieuse. Son nom: virus de la bronchite infectieuse aviaire (*Infectious Bronchitis Virus*, IBV). La maladie qu'il provoque a pour la première fois été observée en 1930 dans le Dakota du Nord (Etats-Unis).

Arthur ***(Schalk et Hawn***) rapportent en 1931 dans le *Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)* avoir identifié une nouvelle maladie respiratoire chez des poussins âgés de deux jours à trois semaines. Le titre de leur article est : *An apparently new respiratory disease in baby chicks*. Chez les volailles, la bronchite infectieuse se caractérise par une détresse respiratoire aiguë, des râles, une toux, une chute de pontes très importante, une détérioration de la qualité des œufs, ainsi que par une mortalité élevée chez les jeunes poussins.

En 1933 ***(Bushnell et brandly***), et la technique de filtration sont arrivés à démontrer que la cause de cette pathologie est un virus, cependant cette découverte était insuffisante par ce que pendant cette période la bronchite infectieuse a été concéder comme une forme atténuée de la laryngotrachiete.

En 1936 et grâce aux études de l'immunisation croisée qui ont été montré l'absence de la protection croisée entre ces deux maladies et lever la confusion entre la BI et d'autres maladies respiratoires.

En 1937, deux chercheurs américains de l'université Rutgers (New Jersey), ***(Beaudette et Hudson)***, rapportent dans le *JAVMA* être parvenus à cultiver l'agent responsable sur des

œufs de poule embryonnés.

L'absence de protection croisée entre les souches pathogènes Massachusetts (découverte en 1941) et Connecticut (découverte en 1951) a été montrée en 1956 par Jungherr etses collègues ; c'est la découverte de l'existence de plusieurs sérotypes du virus de la bronchite infectieuse.

Récemment, les virus de type Qx, aussi appelés virus « chinois » car décrits pour la première fois en Chine en 1996, ont été régulièrement décrits en Asie dans les années 2000. Ils apparaissent en Europe (Italie, Pays-Bas, Allemagne, Belgique, France) après 2004. Très récemment, le virus est mis en évidence en Grande Bretagne.

Il semble bien que sa diffusion en Europe de l'ouest continue. Il est mis en évidence,à plusieurs reprises, dans des prélèvements réalisés en Roumanie, ce qui laisse présager sa large diffusion dans toute l'Europe ***(Brice Robineau et al; 2009).***

III. Etiologie :

III. 1. Classification :

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) appartient à la famille des coronaviridea (virus à ARN). Cette famille est divisée en deux genre:

Le genre Trovirus et le genre coronavirus.

Les coronavirus affectent de nombreuses espèces mammifères (virus de la péritonite infectieuse Féline, Virus du Syndrome de Détrrese Respiratoire Aigu« SARA» de l'entérite transmissible du porc), et aviaires (coronavirus de la dinde, de pigeon).

Ce genre est divisé en trois groupes, selon des critères historiquement antigéniques. Depuis, les séquençages du génome a confirmé cette classification. Ainsi, IBV appartient au Groupe 3, qui ne comprend que des coronavirus aviaires ***(Cavanagh,2007)***

III. 2. Caractéristique:

III. 2.1. Morphologie:

Les coronavirus des oiseaux gallinacés sont actuellement classés dans le genre Coronavirus de la famille des Coronaviridae dans l'ordre des Nidovirales. Il s'agit de virus à ARN de grande taille, le diamètre des virions étant estimé entre 120 et 160 nm. D'importantes projections en forme de massues sont visibles tout autour du virion donnant l'impression d'une couronne (d'où le nom de coronavirus) et permettant l'hémagglutination des hématies.

Ces projections contiennent la protéine S0 qui est clivée par une protéase en glycoprotéines S1 et S2. Physiquement, les virions sont facilement détruits par la chaleur, les solvants lipidiques, les détergents non anioniques, le formol, les agents oxydants et une irradiation par les rayons ultraviolets***(E.kaleta.et al;2015).***

La protéine S est un dimère (parfois trimère) dont les sous-unités S1 (partie bulbaire, environ 500 acides aminés) et S2 (ancrage dans la membrane du virion, environ 600 acides aminés) ont respectivement les fonctions d'attachement à la cellule cible, et de fusion des membranes lors de l'infection par le virus. La sous-unité S1 est responsable de l'induction de la réponse immunitaire de l'hôte ; synthèse d'anticorps neutralisant le virus et inhibant l'hémagglutination ***(Cavanagh, 2007).***

Les coronavirus possèdent aussi un grand nombre de petites glycoprotéines intégrées à la membrane du virion (glycoprotéine M, environ 230 acides aminés), ainsi qu'un faible nombre de protéines non glycosylées de petites tailles et intégrées à l'enveloppe (protéine E, environ 100 acides aminés). Toutes ces protéines sont indispensables à la formation des particules virales lors d'une infection cellulaire. De plus, une protéine de nucléocapside (protéine N, environ 420 acides aminés), est étroitement liée à la molécule ARN du génome ***(Cavanagh, 2007).***

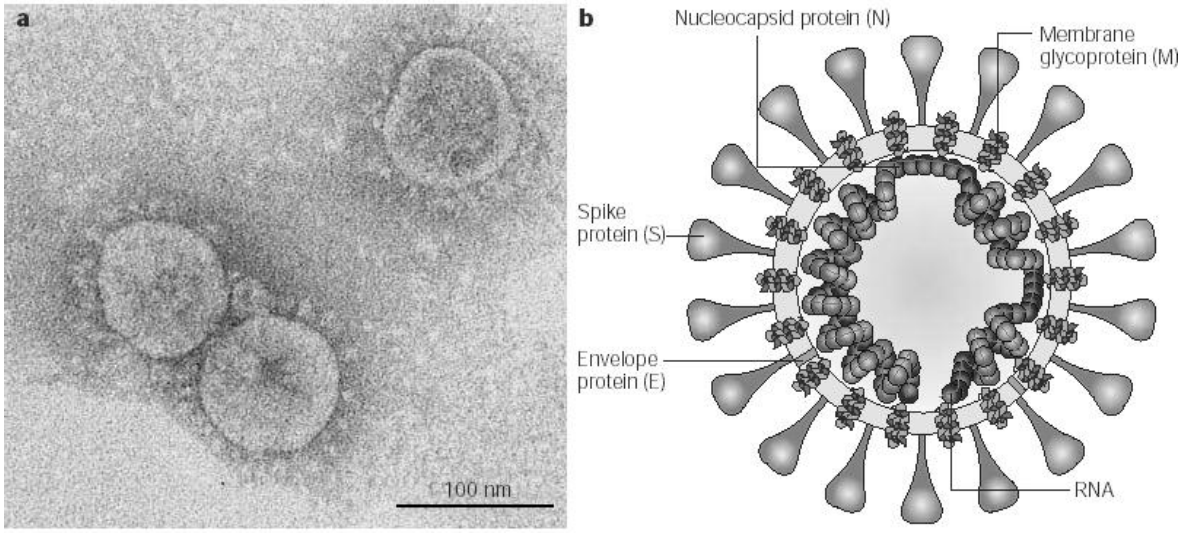


Figure 1 : Morphologies du virus du SARS ***(d'après Stadler et al ; 2003)***

Image a : image par microscopie électronique du virus cultivé sur cellules Véro (image du Dr L. Kolesnikova, institut de Virology, Marburg, Allemagne)

Image b : Représentation schématique du virus. La bicouche lipidique comprend les spicules protéiques (S). Les glycoprotéines membranaires (M) ainsi que les protéines d'enveloppe (E)

protègent la nucléocapside protéique (N). Dans le cas des coronavirus, la membrane lipidique est dérivée de membranes intracellulaires.

III. 2.2. Structure génomique :

Le génome des coronavirus est constitué d'une molécule d'ARN positif simple brin de 27000 à 30000 nucléotides (27,6 kb dans le cas de l'VBI), attribuant à ce virus de grandes capacités d'évolution, par mutation ou recombinaison (création de nouveaux sérotypes).

L'organisation générale du génome des coronavirus est commune à tous les membres du genre, incluant le gène polymérase (ou gène 1) servant à la réplication, des gènes codant pour les protéines structurales (S, E, M et N), ainsi que quelques gènes (deux dans le cas d'VBI) codant pour des protéines non essentielles à la réplication mais probablement essentielles à l'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte (gènes 3 et 5) ***(Corrand L. P.A., 2008).***

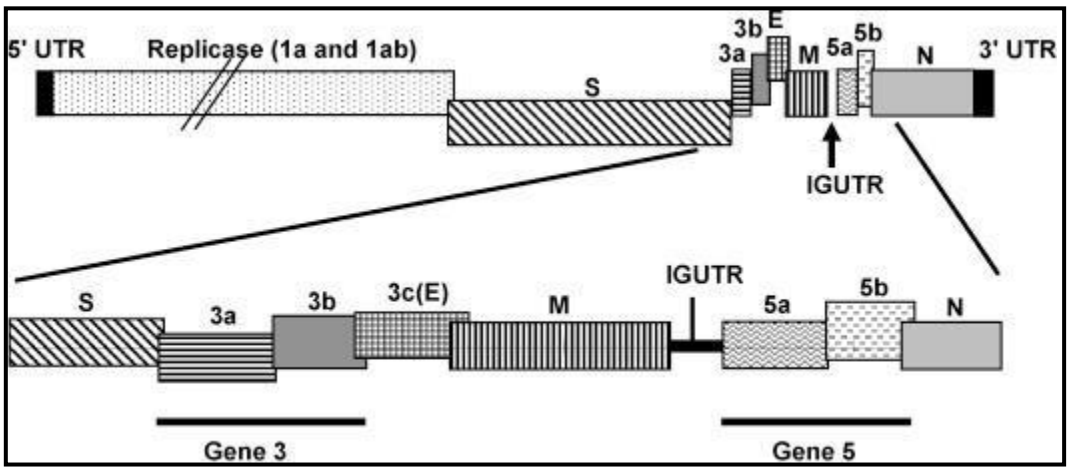


Figure 02 : Organization génomique de l'VBI ***(Cavanagh D., 2007).***

III.2.3. Réplication de virus :

Le virus de la bronchite infectieuse se réplique dans le cytoplasme des cellules infectées. A chaque transcription du génome viral, de nouveaux ARN messagers sont produits. Les particules virales (virions) se forment par bourgeonnement de la membrane de l'endothélium réticulaire, et non à la surface cellulaire. Les virions s'accumulent dans de lisses vésicules avant d'être relargués hors de la cellule. Les nouveaux virions apparaissent environ 3 à 4 heures après le début de l'infection ***(Animas S.,1994)***

III. 2.4. Diversité antigénique:

La création de nouveaux sérotypes peut s'opérer par mutation (mutations ponctuelles, délétions) ou par recombinaison sur le génome viral (si une cellule est infectée par deux souches différentes d'un même virus) ***(Corrand L. P.A., 2008).***

Actuellement, plus d'une douzaine de sérotypes de l'IBV sont reconnus (notamment par variations antigéniques de la protéine S). Les sérotypes les plus connus sont le sérotype historique Massachusetts, ainsi que les sérotypes Connecticut ou encore Arkansas.Toutefois, au sein d'un même sérotype, on observe l'existence de différentes souches, apparues par mutations ponctuelles sur le génome de l'IBV. Ainsi, par exemple, au sein du sérotype Massachusetts, on retrouve les souches H120 et Beaudette, fréquemment utilisées lors de vaccination ***(Corrand L. P.A., 2008)***.

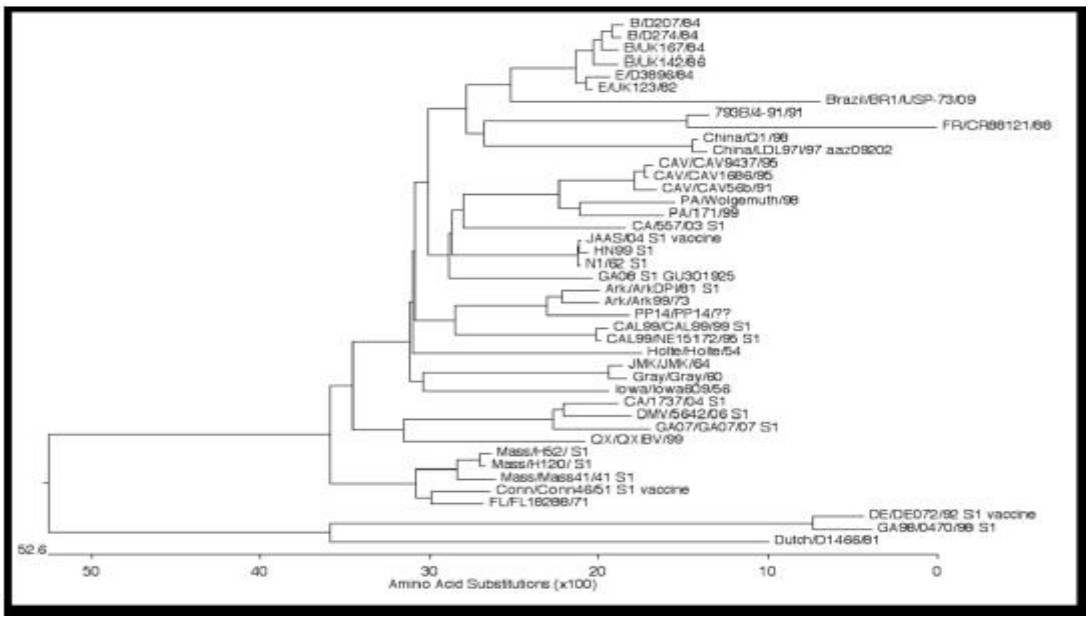


Figure03 : Analyses phylogénétiques des souches de BI à partir d'un séquençage du gène S1***(d'après Smati et al ; 2002)***

Cette analyses montre les relations entre les souches isolées au Québec (Qu_ MV), et les souches de référence Massachusetts, Arkansas, Connecticut et DE072-92

III. 3. Propriété physique et chimique

La thermostabilité du virus est variable selon les sérotypes. L'IBV est en général inactivé en 15 mnà 56°C, ou après 90 min à 45°C. Il est stable à 4°C après lyophilisation, ou à -30°C. Le virus n'est plus stable à des pH supérieurs à 8 ou inférieurs à 6, bien qu'une grande stabilité de certaines souches à pH 3 ait été mise en évidence. Enfin, celui-ci est sensible au traitement par l'éther, les désinfectants comme les solutions de crésyl, à 1% d'alcool à 70° et de formol à 1% pendant 3 min ***(Bruder ; 1991)***.

Il a été rapporté que le virus est résistant dans l'environnement en moyenne pendant 56

jours en hiver, et 12 jours au printemps ***(Cavanagh ; 1997)***. En pratique, on peut donc estimer que le virus sera résistant environ un mois dans un environnement de poulailler, permettant ainsi une large dissémination aux individus qui l'occupent. Le virus ne sera jamais totalement éliminé lors d'un protocole de désinfection classique en élevage, mais la charge virale d'un bâtiment en sera fortement diminuée. C'est pourquoi à la prophylaxie sanitaire (nettoyage et désinfection des bâtiments d'élevage) sera toujours idéalement pratiquée une prophylaxie médicale (vaccination des poulets), afin de prévenir au mieux une infection par IBV.

III. 4. Isolement et culture :

III. 4. .1. Culture sur des œufs embryonnés :

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire se révèle difficile à cultiver. Il sera généralement isolé à partir d'échantillons de trachées, de poumons, de reins, ou encore de tonsilles caecales (amygdales caecales).

La culture su œufs embryonnés SPF est le plus souvent utilisée, par inoculation d'un homogénat de tissus infectés dans le liquide allatoidien à 10 jours d'age. Lors des premiers passages, certains embryons infectés présentent des retards de croissance et une position recroquevillée au 19éme jour, mais peu de mortalité. On peut aussi voir une diminution du volume du sac vitellin dont la membrane est affinée. A l'autopsie des embryons, on observe très souvent des dépots d'autres sur les reins. Plus le nombre de passages su œufs embryonnés augmente, plus le taux d'embryons mal k2 formés et la mortalités augementent. On obtient généralement 80% de mortalité au 20éme jour d'incubation aprés10 passages ***(Kusters et al; 1990), (Cavanagh;1997).***



Figure04: Lésions d'IBV sur des embryons de 17 jours 7 jours post-inoculation. Comparaisonentre un embryon normal (droite) et 2 embryons infectés (gauche). Les embryons infectés présentent un retard de croissance important. ***(Corrand ; 2008).***

III. 4. 2. Culture cellulaire :

La culture cellulaire de l'IBV est difficile à réaliser en pratique, et se déroule généralement sur des cellules rénales ou hépatiques d'embryons de poulets. Le temps minimal de production de virions est de 3 à 4h, mais les titres maximaux en virions sont atteints vers 14 à 36h (temps variable selon la souche d'IBV et la dose infectante). Toutefois ce titre viral est généralement 10 à 100 fois moins élevé que ceux susceptibles d'être obtenus par culture sur œufs embryonnés ***(Lukert, 1965).*** Les cellules rénales infectées commencent à former des syncitia dès 6h post-inoculation. Après 18 à 24h, les syncitia contiennent 20 à 40 noyaux et deviennent vacuolisés. Les noyaux sont pycnotiques.

VI. Pathogénie :

VI.1. Tropisme tissulaire :

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire infecte initialement les cellules ciliées et mucosales de l'appareil respiratoire supérieur. Le virus est majoritairement ré-isolé dans le système respiratoire supérieur (cavités nasales, trachées), à un titre maximum pendant 2 à 5 jours post infection ***(Ambali et Jones, 1990 ; Cavanagh, 2003).*** La persistance virale dans la trachée est variable selon les souches virales, et IBV peut être détecté jusqu'à 14 jours post infection ***(Ambali et Jones, 1990).*** L'IBV peut de plus être retrouvé dans les poumons et les sacs aériens (à de mêmes titres viraux). Ainsi l'IBV est responsable de la perte des cils des cellules de l'appareil respiratoire, voire de pneumonies peu sévères, secondairement suivies par des surinfections bactériennes, responsables directes du tableau pathologique.

L'IBV possède aussi un tropisme pour d'autres tissus non respiratoires : le rein, l'oviducte, le testicule, ainsi que certaines portions du tube digestif (œsophage, proventricule, duodénum, jéjunum, rectum, cloaque). Le virus peut être isolé dans les organes lymphoïdes : organes lymphoïdes primaires (bourse de Fabricius) et secondaires (glande de Harder, tonsilles caecales).

L'infection virale du tube digestif n'entraîne normalement pas de manifestation clinique. Les néphrites occasionnées par l'infection rénale de certains sérotypes d'IBV sont dues au tropisme pour les cellules épithéliales du bas de l'appareil rénal (tube contourné distal, tubules collecteurs, tubes collecteurs). L'infection de l'oviducte par l'IBV est responsable d'une diminution de la ponte.

Les titres en virus retrouvés dans chaque organe ne correspondent pas forcément avec la pathogénicité engendrée. Ainsi, une même souche répliquée à de mêmes titres dans la trachée

et le rein peut n'entraîner qu'une trachéite sans néphrite (***Ambali et Jones, 1990).*** L'aptitude de l'IBV à se répliquer dans des cellules épithéliales de tissus respiratoires, entériques, rénales ou ovariens pourrait, entre autres, être due au fait quel'attachement de l'lBV à la cellule hôte est dépendant de la présence d'acide Nacétylneuraminique(acidesialique) à la surface de cette dernière ***(Cavanagh, 2007).*** De plus, si ce récepteur (ose à 10 atomes de carbone fréquemment rencontré dans les membranes cellulaires) présente une liaison α2, 3 entre la fonction acide et le corps de l'oligo-saccharide, le tropisme de l'IBV pour la cellule est plus important ***(Winter et al., 2006).***

VI.2. Pouvoir pathogène :

Le déterminisme du pouvoir pathogène de l'IBV n'est pas encore clairement élucidé. La protéine S semble être indispensable dans le déterminisme de celui-ci, probablement par reconnaissance spécifique de récepteurs de la cellule cible ***(Balesteros M.L. et al., 1997)***. Toutefois, le rôle déterminant du pouvoir pathogène de la protéine S n'est pas encore totalement élucidé, etle fait de posséder une protéine S d'une souche pathogène ne semble pas être une condition suffisante pour exprimer un pouvoir pathogène.

Le rôle des protéines non structurales (3a, 3b, 5a, 5b) est encore non élucidé, mais il est possible que celles-ci soient, entre autre, responsables d'un contournement de l'immunité de l'hôte, et donc du pouvoir pathogène d'IBV. Cette hypothèse n'est encore qu'une pure conjecture (***Cavanagh, 2007).***

V. Épidémiologie :

V.1. Epidémiologie descriptive :

L'infection naturelle de cette maladie est décrite chez les poulets et les faisans qui sont les seuls hôtes du virus. La Bronchite infectieuse est une infection virale aiguë, hautement contagieuse des poulets de tous âges ayant des effets néfastes sur la qualité et la production des œufs, et se caractérise par une dépression élevée pendant la période de croissance en particulier dans les poules pondeuses. Dans un élevage, la maladie évolue sous une forme clinique aiguë en 48 heures chez les sujets de moins de six semaines. La morbidité est proche de 100%. La mortalitéest souvent faible (sauf pour la souche à tropisme rénal). L'incubation est courte (18-36h) ***(Ntirandekura J.B., 2011),*** Variant selon la dose infectant, la voie d'inoculation, la souche et l'état général de l'animal ***(ReguigB et al.,2020)***

V.2. Epidémiologie analytique

- **Facteur de réceptivité et de sensibilité :**

– Facteurs extrinsèques : Le système divagant favorise la persistence de la maladie et contribue à sa diffusion dans le milieu extérieur.

– Facteurs intrinsèques :

a) Espèces : L'espèce affectée est la poule (Gallus gallus domesticus). Le faisan est également cité comme hôte naturel. La bronchite infectieuse n'est pas une zoonose.

b) Age : La maladie affecte les oiseaux de tout âge mais elle est plus sévère chez les poussins

(Brugere-picoux J. et Silim A., 1992).

– Sources du virus

Les réservoirs du virus sont majoritairement les animaux infectés (malades ou porteurs sains), qui excrètent ce dernier par aérosols (jetage, toux) et par les fientes. L'excrétion virale par le jetage dure environ deux semaines, avec un taux maximal d'excrétion pour les oiseaux infectés à 2 semaines d'âge. L'excrétion fécale peut par contre durer jusqu'à 20 semaines. Le stress peut favoriser l'excrétion ***(Animas S.B. et al., 1994).***

Etant donné que plusieurs variants peuvent circuler au sein d'une population, un oiseau peut-être contaminé plusieurs fois (en cas d'absence de protection vaccinale croisée).

De plus, le virus étant résistant environ un mois dans un environnement de poulailler, le matériel d'élevage ainsi que la litière ou l'aliment peuvent devenir à leur tour des sources potentielles de virus **(*Corrand L. P.A., 2008)***.

- **Mode de transmission :**

La transmission de l'VBI est extrêmement rapide au sein d'un troupeau et entre les bâtiments d'un même élevage.

La transmission horizontale directe par voie respiratoire est la transmission la plus importante, et la transmission indirecte est possible par l'eau, alimentation ou du matériel d'élevage contaminés. Il n'y a pas de transmission verticale rapportée, bien que certains faits aient montré la présence d'VBI dans des œufs pondus jusqu'à 43 jours après la guérison clinique des reproducteurs, l'incubation d'œufs issus de reproducteurs infectés permet d'obtenir des poussins viables et indemnes d'VBI. Et la transmission vectorielle de la bronchite infectieuse n'a jamais été démontrée ***(Cavanagh D. et Naqi S.A., 1997)***.

VI. Symptôme :

Les types et la sévérité des symptômes dépendent dela souche particulière de virus BI, de la résistance de l'hôte acquise ou liée à l'âge, du sexe, des quantités de poussières et de gaz délétères (ammoniac, dioxyde de carbone, hydrogène sulfuré) dans l'air ainsi que des caractéristiques des infections secondaires bactériennes et/ou fungiques. Les symptômes sont fréquemment distincts chez les oiseaux susceptibles. Symptômes observés chez de jeunes poussins dépourvus d'anticorps après exposition à des souches respiratoires de virus BI: après une période d'incubation de 18 à 36 heures***(E.kaleta.et al;2015).***

Il y a peu des signes, et les animaux guérissent spontanément. Les signes sont plus sévères chez lesjeunes, avec une mortalité d'origine primaire. Et chez les adultes, la mortalité est souvent causée par des infections secondaires ***(Guérin J.L. et Boissieu C., 2008)***.

Les signes cliniques généraux sont peu spécifiques de la bronchite infectieuse ; prostration, frilosité, léthargie, retard de croissance, oiseaux ébouriffés, yeux humides (conjonctivite séreuse)***(Corrand L. P.A., 2008)***.

1. Symptômes à prédominance respiratoire :

Les manifestations respiratoires se rencontrent surtout chez les oiseaux de moins de 5 semaines et se traduisent par:

- Abattement, frilosité
- râles, toux, éternuements
- jetage séromuqueux (jamais hémorragique ; différence avec la LTI)
- dyspnée parfois (difficulté respiratoire), conjonctivites et sinusites.

La morbidité peut atteindre 100 % et la mortalité varie entre 5 et 25 % en fonction des complications par mycoplasmes, bactéries (E. coli surtout) et mêmes virales, La guérison généralement spontanée en 1 à 2 semaines, s'accompagne souvent de grands retards de croissance.

Il ya de fréquentes complications de maladie respiratoire chronique, notamment sur les poulets en fin d'engraissement.

le passage du virus sur des poules pondeuses provoquer a des signes respiratoires discrets et fugaces ***(Maladies des vollailes 2éme édition;2001)***.



Figure05: Poulettes présentant une dyspnée et une conjonctivite **(*Brugére-Picoux J. et al., 2015).***

2. Manifestations à tropisme génital :

Le passage du virus de la bronchite infectieuse sur des futures pondeuses de moins de 2 semaines, hormis l'atteinte respiratoire, aura des conséquences désastreuses sur la ponte par destruction des cellules de l'appareil génital. Ces lésions génitales cliniquement occultes et irréversibles aboutiront à des «fausses pondeuses », c'est-à-dire des femelles adultes qui ne pondront jamais.

Les atteintes tardives chez la poule en ponte provoquent des troubles respiratoires discrets et surtout, des chutes de ponte en quantité et en qualité, d'expression variable en fonction du momentde la contamination :

- un passage de Bl en début de ponte provoque un léger décrochement de la courbe puis tout rentre dans ordre en 1 ou 2 semaines.
- La contamination juste après le pic de ponte aura des conséquences catastrophiques sur la production.
- la maladie en fin de ponte provoquera un arrêt de ponte irréversible.

Outre les problémes de quantité d'œufs perdus, les pertes économiques par « non-qualité ». sont considérables (œufs déformés,"cerclés", petits, décolorés, fragiles).Le problème de fragilité des coquilles est souvent persistant ***(Maladies des vollailes 2éme édition;2001)***.



Figure06: Les fausses pondeuses présentent une posture caractéristique "en pingouin" ***(Brugére-Picoux J. et al., 2015).***

Les œufs pondus pendant la phase aigüe de la maladie contiennent un blanc d'œuf aqueux. La couleur, la grosseur et la solidité des œufs pondus varie énormément au sein du troupeau affecté. Généralement les œufs de coquille brune sont décolorés du fait de la ponte d'un œuf immature. Certain présentent des dépôts de calcium sur leur surface. D'autres œufs, dépourvus de coquille, n'ont que la membrane coquillière interne comme revêtement externe. Les œufs présentant une coquille altérée se cassent facilement ; ils ne sont pas utilisables pour l'incubation et pour la vented'œufs de consommation ***(Brugére-Picoux J. et al., 2015).***

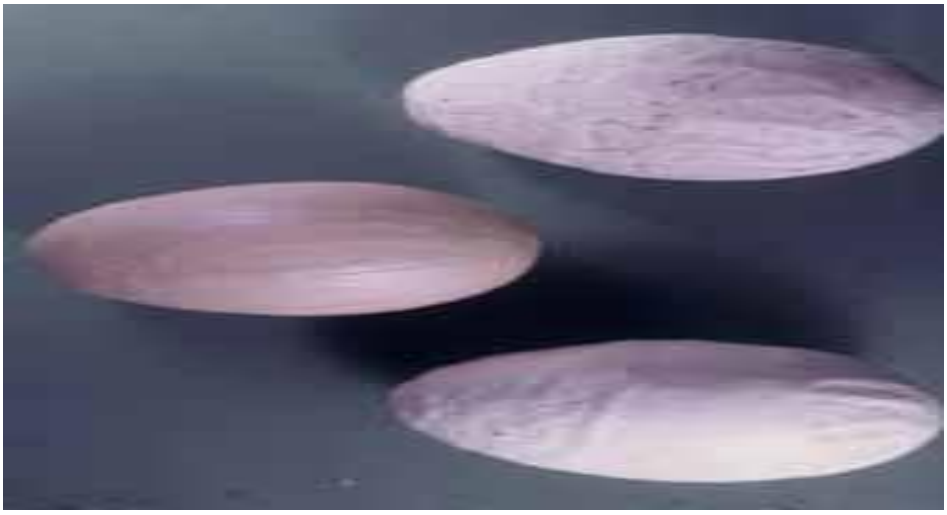


Figure07: Œufs difformes à coquille minceet rugueuse **(*Brugére-Picoux J. et al.,2015).***



Figure08: Les œufs décolorés et tachés desang ***(Brugére-Picoux J. et al., 2015).***

De récents travaux ont montré la possibilité du virus de l'BI de se répliquer aussi dans les cellules ciliées des voies séminifères (retetestis, épididyme) des testicules de coqs. Cette atteinte serait ainsi à l'origine d'une formation de calculs dans l'épididyme, causant une réduction de fertilité chez cescoqs ***(Villarreal L. B. et al., 2007).***

Les poulets adultes mâles peuvent être atteints par la maladie due aux des souches néphropathogénes, respiratoire et entéritique. Apparemment les gonades et la qualité de la semence nesont pas affectées sévèrement ***(Brugére-Picoux J. et al., 2015).***

3. Infections à tropisme rénal :

Une forme rénale de coronavirose peut être associée aux formes respiratoires. Ce virus à tropisme rénal, néphropathogène, provoque une néphrite associée à une urolithiase (précipitations minérales dans le rein). Dans ce cas, une insuffisance rénale se met en place ; avec dépression, mortalité, soif intense, fèces humides.

Dans ces formes rénales, les signes respiratoires sont souvent discrets et les symptômes digestifs dominent, avec une dégradation des litières qui peut être importante notamment en production de poulet de chair. La mortalité est plus importante lors d'une atteinte rénale ***(GuérinJ.L et al., 2011 et Corrand L. P.A., 2008).***

4. Les symptômes digestifs :

L'VBI est un des virus suspectés (avec le virus de la bursite infectieuse, des adénovirus ou des réovirus) d'être responsable de proventriculite chez le poulet de chair. VBI a été détecté par PCR dans des broyats de proventricule issus d'animaux d'élevage présentant des signes cliniques, et l'inoculation expérimentale (par gavage) de ces broyats, à des poulets SPF, a

recréé une proventriculite chez les oiseaux. Dans ce cas, les oiseaux présentent un proventricule distendu, épaissi et atonique.

Ce phénomène est responsable, entre autre, de ruptures accidentelles du proventricule lors de l'éviscération des oiseaux à l'abattoir, causant la condamnation de la carcasse***(Corrand L.P.A., 2008).***

VII.Pathogénicité

1. Signes cliniques

La période moyenne d'incubation de la bronchite infectieuse est de 18 à 36h, variant selon la dose infectante, la voie d'inoculation, la souche, et l'état général de l'animal.

Les signes cliniques dépendent du variant viral de IBV et de son tropisme. Souvent,il y a peu de signes cliniques et les animaux guérissent spontanément. Les signes sont les plus sévères chez les jeunes, avec une mortalité d'origine primaire. Chez les adultes, la mortalité est souvent due à des infections secondaires.

Les signes cliniques généraux sont peu spécifiques de la bronchite infectieuse ;prostration, frilosité, léthargie, retard de croissance, oiseaux ébouriffés, yeux humides (conjonctivite séreuse). Les signes respiratoires sont généralement de la toux, des râles trachéaux, des éternuements, des écoulements nasaux séro-muqueux jamais hémorragiques, parfois des sinus enflés.

Les signes d'une atteinte de l'appareil reproducteur (souvent chez les pondeuses et les reproductrices) sont une chute de ponte (10 à 50%) et une altération des œufs (déformation de la coquille, minceur de la coquille, liquéfaction de l'albumen). Chez les futures reproductrices ou futures pondeuses (de moins de 2 semaines d'âge), le passage de l'IBV bloque définitivement le développement anatomique de la grappe ovarienne, créant ainsi de

« fausses pondeuses ». Le passage de BI en début de ponte provoque une légère chute de ponte qui retourne à la normale en quelques semaines. La maladie en fin de ponte entraine un arrêt irréversible de celle-ci.

De plus, de récents travaux ***(Villarreal et al., 2007)*** ont montré la possibilité du virus de l'IBV de se répliquer aussi dans les cellules ciliées des voies séminifères (*rete testis*, épididyme) des testicules de coqs. Cette atteinte serait ainsi à l'origine d'une formation de calculs dans l'épididyme, causant une réduction de fertilité chez ces coqs.

En cas d'atteinte rénale, une insuffisance rénale (avec dépression, mortalité, soif intense, fécès humides) se met en place. La mortalité est plus importante lors d'une atteinte rénale.

Enfin, l'IBV est un des virus suspectés (avec le virus de la bursite infectieuse, des adénovirus ou des réovirus) d'être responsable de proventriculite chez le poulet de chair. IBV a été détecté par PCR dans des broyats de proventricule issus d'animaux d'élevage présentant des signes cliniques, et l'inoculation expérimentale (par gavage) de ces broyats, à des poulets SPF, a recréé une proventriculite chez les oiseaux ***(Pantin-Jackwood et al., 2005).*** Dans ce cas, les oiseaux présentent un proventricule distendu, épaissi et atonique. Ce phénomène est responsable, entre autre, de ruptures accidentelles du proventricule lors de l'éviscération des oiseaux à l'abattoir, causant la condamnation de la carcasse.

2. Réponse immunitaire

1. Immunité active

La réponse immunitaire active lors d'atteinte d'animaux par l'IBV est de type humoral, par synthèse d'anticorps IgM (locaux) puis IgG (systémiques). On observe aussi l'intervention de lymphocytes T cytotoxiques (LTC) et d'interférons. Des oiseaux ayant été naturellement infectés par l'IBV et ayant guéri deviennent résistants à une infection par le même virus (protection homologue), mais la protection vis à vis d'autres variants viraux d'IBV varie et est peu prévisible (protection hétérologue).

La réponse humorale est la plus étudiée lors d'une infection par IBV, de par son utilité lors de la mesure du taux d'anticorps pour contrôler l'efficacité d'une vaccination (cinétique sérologique) ou pour le diagnostic de la maladie. Les taux d'anticorps, le plus souvent sériques mais aussi locaux, sont évalués par ELISA, neutralisation virale (VN) ou inhibition de l'hémagglutination. Toutefois le taux d'anticorps sériques ne correspond pas àun niveau de protection (d'où l'importance d'une cinétique sérologique) ***(Cavanagh ; 1997).***

Lors d'une primo-vaccination par un virus vivant atténué, un pic d'IgM est d'abord observé ***(Martins et al. 1991),*** suivi d'un pic d'IgG puis un déclin des deux réponses. Lors d'une vaccination de rappel, ou lors d'une infection, les deux taux d'anticorps s'élèvent en même temps, mais les taux d'IgG persistent plus longtemps, apportant à l'animal une protection vaccinale durable.

La réponse à médiation cellulaire implique majoritairement l'intervention de LTC. L'apparition de cette réponse corrèle généralement avec la réduction de l'infection et des signes cliniques ***(Collisson et al ; 2000).*** La lyse des cellules infectées est majoritairement induite par des LTC CD_{8+} et CD_{4-}.

Enfin, des interférons sont aussi détectés lors d'une infection par IBV. Ces interférons sont majoritairement détectés dans la trachée et les poumons et, à de plus faibles niveaux,

dans le plasma, le foie, les reins ou la rate ***(Otsuki et al ; 1987)***. *In vitro*, les interférons réduisent la réplication de l'IBV sur des cultures de cellules de reins de poulets. *In vivo*, l'injection intraveineuse d'interférons retarde l'apparition et la sévérité des signes cliniques de poulets infectés ***(Cavanagh ; 2007)***.

2. Immunité passive

Les anticorps d'origine maternels (AOM) peuvent réduire à la fois la sévérité d'une réaction vaccinale et l'efficacité d'un vaccin si le vaccin est le même que celui utilisé chez les reproducteurs ***(Klieve et Cummings ; 1988)***.En dépit de cela, la vaccination à un jour des poussins issus de troupeaux reproducteurs vaccinés est pratiquée, pour permettre de protéger les poussins quand ce taux d'AOM aura chuté. En effet, lors de la vaccination à un jour des poussins, le virus vaccinal atténué est généralement distribué par aérosol, stimulant ainsi l'immunité locale (bronches, narines, yeux) et la synthèse d'IgM qui n'interfèrent pas avec les anticorps d'origine maternels (IgG) systémiques.

VIII. Lésions

1. Lésions macroscopiques

Les poulets infectés ont un exsudat séreux, catarrhal, ou caséeux dans la trachée, les voies nasales, et les sinus. Les sacs aériens peuvent être mousseux en cas d'infection aiguë, puis elles deviennent opaques et contiennent un exsudat caséeux jaune (fibrine) ***(Benyeda.L et al.,2010).*** Des foyers de pneumonie peuvent être observés autour des grandes bronches.

Des souches néphropathogènes d'IBV induisent des reins hypertrophiés et décolorés, les tubules et les uretères étant souvent distendus par des cristaux d'urate***(Cumming.R.B.,1969)(Riddell.C.,2001).***

Des poules atteintes dans leur jeune âge par une souche à tropisme génital peuvent présenter une absence de développement de l'oviducte, invisible cliniquement en pré ponte. Elles deviendront des « fausses pondeuses ».

2. Lésions microscopiques

La trachée d'un animal atteint de la bronchite infectieuse présente une muqueuse œdémateuse. On observe une stase des cils de l'épithélium de la muqueuse, parfois une desquamation de celui-ci, ainsi qu'une infiltration hétérophilique et lymphocytaire de cette dernière dès 18h post infection ***(Cavanagh ; 1997).*** La régénération de l'épithélium se met en place dès 48h, et l'hyperplasie induite et suivie d'infiltrations massives de la lamina propria par des cellules lymphoïdes ***(Riddell ; 2001).***

Si les sacs aériens sont touchés, on observe de l'œdème, une desquamation des cellules épithéliales, et un exsudat fibrineux dès 24h. On peut aussi observer un nombre important d'hétérophiles, ainsi qu'une prolifération de fibroblastes et une régénération de l'épithélium par des cellules cuboïdes ***(Riddell ; 2001).***

Les lésions rénales de l'IBV sont principalement celles d'une néphrite interstitielle.

Le virus cause une dégénérescence granulaire, une vacuolisation et une desquamation de l'épithélium tubulaire. Une infiltration massive par des hétérophiles dans les espaces interstitiels estobservée lors de la phase aiguë de la maladie. En cas d'urolithiase, les uretères sont distendus et contiennent le plus souvent des cristaux d'urate ***(Riddell ; 2001).***

Une infection de l'oviducte par l'IBV engendre une débilitation des cellules épithéliales et une dilatation des glandes tubulaires. On observe une infiltration de la muqueuse par des lymphocytes et des hétérophiles, ainsi qu'un œdème et un fibroblaste de celle-ci, sur toute la longueur de l'oviducte.

IX. Traitement:

Il n'existe pas de traitement efficace sur les premiers effets du virus BI sur les surfaces épithéliales. Seules des mesures hygiéniques et médicales peuvent réduire les effets secondaires des surinfections bactériennes ou fungiques. Ces mesures concernent en particulier l'amélioration de la qualité de l'air par l'apport constant d'un air frais en ajustant la température ambiante à 15- 25°C. Les infections secondaires fréquentes, en particulier par *Escherichia coli,* nécessitent la mise en place d'un traitement après évaluation de l'antibiosensibilité. En présence de *Mycoplasma* spp., un traitement avec des produits spécifiques est recommandé. Les nouveaux poussins doivent pro- venir de troupeaux indemnes de mycoplasmes***(E.kaleta.et al;2015).***

I. Problématique :

L'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage très sommaires, constituant le lit des infections, ce qui est à l'origine de la faible productivité.
Notamment le secteur de poulet de chair qui est à la fois le plus grand et le plus efficace au monde ainsi que la plus grande industrie de production de viande.

En effet, ce secteur est très important pour un nombre toujours croissant de pays, l'Algérie étant l'un d'entre eux. Cette production de poulet de chair est cependant menacée par un certain nombre de maladies infectieuses notamment virales, causant des pertes économiques énormes pour ce secteur.

Le développement de la production avicole en Algérie fait face à de nombreuses contraintes zootechniques et sanitaires, face auxquelles les vétérinaires avicoles doivent être particulièrement vigilants. Parmi ces contraintes les infections virales occupent une place prépondérante dont la maladie de Newcastle (ND), la bronchite infectieuse aviaire (IB) et la maladie de Gumboro (la bursite infectieuse IBD).

Donc, est-il nécessaire de mieux connaître l'impact des maladies virales, en particulier leur incidence sur la production, pour une optimisation de ce secteur d'activité.

II. Objectif :

Notre travail est consacré à une étude séro-épidémiologique des principales affections virales en élevage de poulet de chair à savoir : la bronchite infectieuse aviaire (IB), en utilisant la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à chaque maladie. Dans la perspective est l'amélioration de la productivité à travers l'amélioration de la santé. Sur un plan plus spécifique, il s'agit de relever la présence des contraintes pathologiques d'origine virale en appréciant le statut immunitaire des oiseaux afin de mettre en place une prise en charge adéquate de ces pathologies.
Pour ce faire notre démarche est la suivante :

- ✓ Une enquête épidémiologique de terrain effectuée sur les élevages prélevés.
- ✓ Une étude clinique de la bronchite infectieuse en élevage de poulet de chair.

- ✓ La recherche d'une éventuelle circulation des virus de la maladie la bronchite infectieuse (IB) à travers la mise en évidence d'anticorps dans le sérum de poules (enquête sérologique) en utilisant la méthode ELISA**.**
- ✓ Identification des facteurs de risque liés à chaque maladie virale.

III. Matériels et méthodes :

III.1. Région et durée d'étude :

Notre expérimentation a été réalisée dans des fermes commerciales de poulet de chair situées dans la région de Médéa), du nord de l'Algérie (longitude 36° et latitude 3°) (Figure 3).

L'étude s'étend sur une période de 1 an, de Juillet 2020 jusqu'à Juin 2021.



Figure 9: Carte géographique dans le Médea.

III.2. Animal :

Les sujets sont prélevés dans 05 élevages avicoles privés de type poulet de chair. Les sujets sont originaires des centres de production de poulet de chair privés (couvoirs privés).

Ces élevages de poulets de chair sont de différentes souches (Arbor acres, Cobb 500, Hubbard F15) âgés de 3-8 semaines et contenant de 3000 à 10000 sujets/élevage (Figure 4).



Figure 10: Les élevages prélevés.

Les élevages étudiés ont été initialement vaccinés contre la maladie de Newcastle (ND), la bronchite infectieuse aviaire (IB) et la maladie de Gumboro (la bursite infectieuse IBD) avec des vaccins vivants selon différents protocoles (Tableau 1, Figure 5).

Les élevages analysés ont été suspectés d'être atteints d'une maladie virale (IB) après avoir présenté des signes cliniques et nécrosiques caractéristiques.

Tableau 1 : Les vaccins utilisés (souche vaccinale, type de vaccin et mode d'administration).

Pathologie	Souche vaccinale	Type de vaccin	Mode d'administration
La maladie de Newcastle (ND)	Clone 30 VG/GA	Vaccins vivants	Eau de boisson
La bronchite infectieuse (IB)	MA5 (Massachussetts) IB 4/91	Vaccins vivants	Eau de boisson
La maladie de Gumboro (IBD)	D78 228 E	Vaccins vivants	Eau de boisson

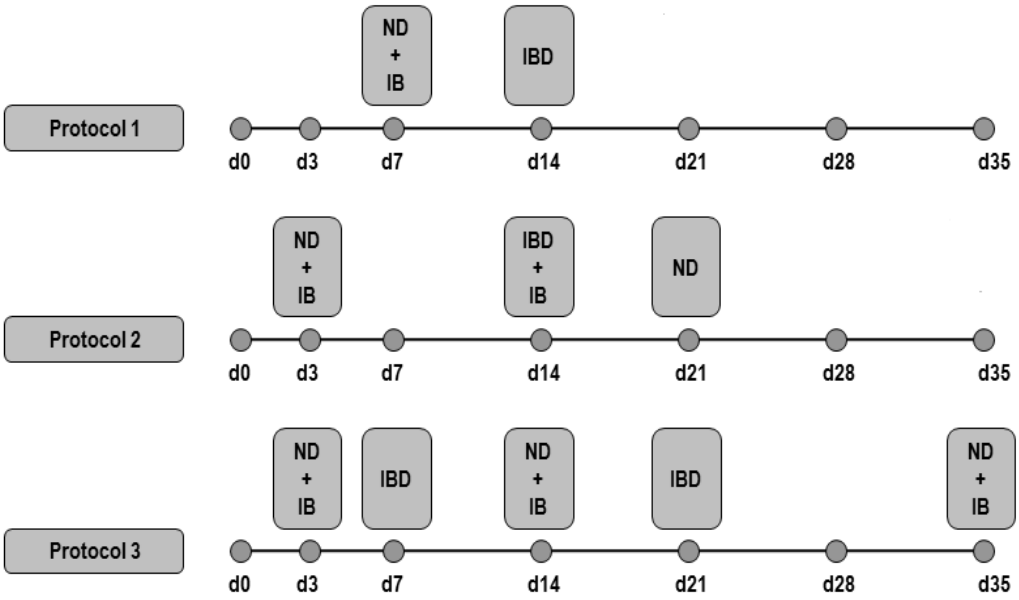


Figure 11 : Diagramme schématique des protocoles de vaccination utilisés dans les élevages prélevés (d : jour de vaccination).

III.3. Etude clinique (Diagnostic clinique) :

Le diagnostic clinique a été établi sur la base des antécédents cliniques relevés par responsables des exploitations, y compris les vétérinaires chargés de suivi, les signes cliniques et les lésions sont enregistrés lors de l'autopsie des poulets atteints.

III.4. Echantillonnage (Prélèvements) :

Les échantillons ont été prélevés au hasard à partir des poulets de chair suspectés cliniquement affectés d'une des maladies virales tel que : la bronchite infectieuse (IB) et montrant des lésions caractéristiques à l'examen nécropsique (autopsie).

Un total de 200 échantillons a été soumis aux analyses sérologiques au sein du laboratoire SNV de Médéa.

Après le signalement d'un cas suspect par l'un des vétérinaires chargé du suivi, nous nous sommes déplacés dans un délai de 1-2 jours pour effectuer la première série de prélèvements et remplir la fiche de prélèvement.

Concernant le protocole de prélèvement, pour chaque élevage, nous avons fait deux séries de prélèvements, une dite prélèvement précoce faite dès le début de l'infection (l'apparition des premiers signes cliniques), 1 à 2 jours au maximum, et l'autre tardive se fera 2-3 semaines plus tard (pour mettre en évidence une éventuelle séroconversion).

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la veine alaire et réalisés directement dans l'élevage (20 échantillons/élevage) (Figure 11), afin de garantir la représentativité des échantillons, les prélèvements de sang ont été réalisés au hasard au sein d'un lot.

Une fois les prélèvements sanguins récoltés dans des tubes secs préalablement identifiés (environ 3 ml/sujet afin de pouvoir exécuter les différentes analyses à partir du même sérum), ils ont été directement acheminés au laboratoire où ils ont subi le jour même une centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn) en vue de récupérer les sérums qui ont été par la suite conservés dans des tubes Eppendorf identifiés et congelés à -20 °C (Figure 12).

Une fois le nombre de sérums prévus atteint (1200 Sérums), les prélèvements on fait l'objet des examens sérologiques.



Figure 12: Technique de prélèvement.



Sang avant centrifugation | Sang après centrifugation | Sérum dans des Eppendorf identifiés

Figure 13 : Les étapes de décantation du sérum**.**

III.5. Méthode de laboratoire (Sérologie) :

Une technique Elisa indirecte a été effectuée en utilisant des kits de la société ID.vet Innovative Diagnostics (Montpellier, France) : ID Screen® IBV Indirect (pour la bronchite infectieuse) (Figure 8).

Les groupes de prélèvements effectués à différentes dates et provenant des différents bâtiments d'élevages ont été simultanément analysés avec le même kit afin d'assurer la comparabilité des résultats fournis par le test et de bien interpréter la cinétique des anticorps (Ac) ; les sérums ont été dilués au 1/500e puis chargés sur des plaques ELISA pour commencer la réaction immuno-absorbante comme indiqué dans les manuels du fabricant.

La lecture des plaques Elisa a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre ELx800 (DIALAB GmbH, Wiener Neudorf, Autriche) muni d'un filtre de 450 nm. La densité optique (DO) obtenue a été transformée en titre d'anticorps (Figure 9).

La transformation des DO, les tests de validité, les titres moyens, et le coefficient de variation (CV) ont été calculés automatiquement par bande et par série de prélèvements à l'aide d'un logiciel fourni par le laboratoire (IDSoft^{TM}, Montpellier, France).

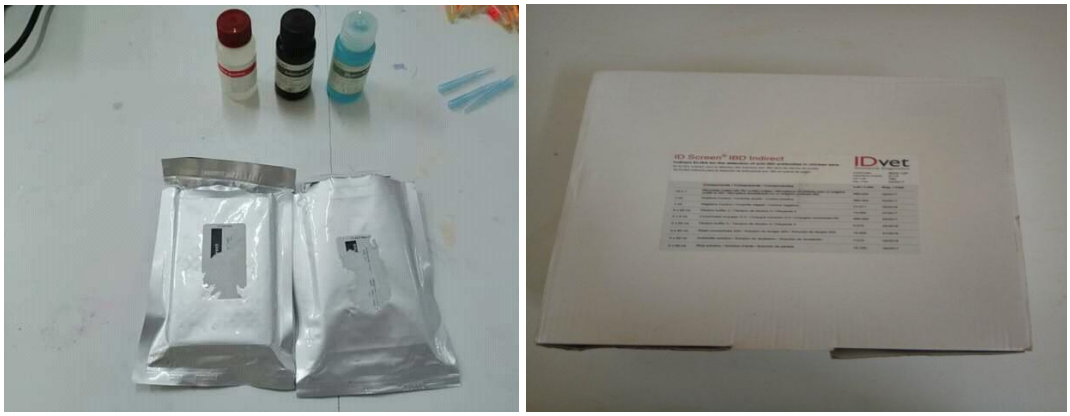


Figure 14 : Kit ELISA utilisé.



Figure 15 : Lecteur de ELISA**.**

- **Information générale :**

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de BI.

Il permet d'apprécier la quantité d'anticorps spécifique présents dans les sérums de poules.

- **Description et principe :**

- Les cupules sont sensibilisées avec l'antigène IB purifié.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques des virus BI, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.
- Un conjugué anti-poule marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps anti-BI, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.
- Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB)

- La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :
- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparait une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
- En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparait pas de coloration.
- La lecture est réalisée à 450 nm.

➢ **Composants du kit**

o **Réactifs :**

- Microplaques sensibilisées avec l'antigène BI purifié
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Tampon de dilution 14
- Conjugué concentré (10X)
- Tampon de dilution 3
- Solution de lavage concentrée (20X)
- Solution de révélation
- Solution d'arrêt (0.5M).

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (+/- 3°C)

2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26 °C.

3. Les composants portant la même dénomination (solution de lavage, diluants) peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

➢ **Matériel nécessaire :**

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5µl, 10µl, 100µl, 200µl.

2. Embout de pipette à usage unique.

3. Lecteur de microplaque à 96 puits.

4. Eau distillée ou désionisée.

5. Système de lavage manuel ou automatique.

➢ **Préparation des échantillons :**

Pour réduire la différence 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 transfère dans la plaque ELISA avec pipette multicanaux.

- **Préparation de la Solution de lavage :**

Si nécessaire, ramener la solution de lavage concentrée **(20X)** à température ambiante (21°C + /-5°C) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la solution de lavage **(1X)** par dilution de la solution de lavage **(20X)** dans de l'eau distillée /désionisée.

- **Mode opératoire :**

Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C +/- 5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.

1. Les échantillons sont dilués au 1/500 en **Tampon de dilution 14.** Dans une pré-plaque de pré-dilution, ajouter

- 245 µl de **Tampon de dilution 14** dans chacun des puits.
- 5 µl du **Contrôle Négatif** dans les cupules A1 et B1.
- 5 µl du **Contrôle Positif** dans les cupules C1 et D1.
- 5 µl d'échantillons à tester dans les cupules restantes

2. Dans la plaque ELISA, ajouter

- 90 µl de **Tampon de dilution 14.**
- 10 µl des **échantillons pré-dilués** ci-dessus.

3. Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3min)** à température ambiante (21°C+/-5°C).
4. Préparer le **Conjugué 1X** en diluant **conjugué concentré 10X** au 1/10^{éme} en **Tampon de dilution 3.**
5. Laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 µl de solution **de lavage 1X.** Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
6. Distribuer 100 µl de **Conjugué anti-poule-HRP 1X** dans chaque cupule.
7. Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3 min)** à température ambiante (21°C +/-5°C).
8. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300µl de solution **de lavage 1X.** Eviter le dessèchement des cupules entre lavages.
9. Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque cupule.
10. Incuber **15 min (+/- 2 min)** à température ambiante (21°C +/- 5°C) à l'obscurité.
11. Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape #9.
12. Mesurer et enregistre les densités optiques à 450nm.

- **Validation :**

Le test est validé si :

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.250.

$$\mathbf{DO_{CP} > 0.250}$$

- ✓ Le rapport entre la moyenne des Contrôles Positifs (DO_{CP}) et la moyenne des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 3.

$$\mathbf{DO_{CP} / DO_{CN} > 3}$$

- **Interprétation**

Pour chaque échantillons, calculer le S/P et le titre en anticorps ;

1-Calcul du rapport S/P

$$S/P = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}}$$

2- Calcul du titre en anticorps

$\mathbf{Log_{10}}$ (titre) = 0.97x $\mathbf{log_{10}}$ (s/p) + 3.449 titre = $10^{\log_{10}(\text{titre})}$

Tableau 2: Les résultats sont interprétés de la façon suivante

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire IBV
S/P ≤ 0.2	Titre ≤ 853	Négatif
S/P > 0.2	Titre > 853	Positif

III.6. Facteurs de risque :

A chaque prélèvements, les données zootechniques et sanitaires sont relevées, soit en interrogeant l'éleveur, soit le vétérinaire chargé du suivi d'élevage, soit par l'observation directe. Les informations collectées donnent lieu à une fiche signalétique identifiant l'élevage et une fiche de suivi caractérisant l'évolution de l'état général de l'élevage.

A côté des données précédentes, l'éleveur indique si la maladie s'est manifestée sur les bandes en présence ou sur les bandes précédentes. Cet élément est un indicateur de la pression virale sauvage propre à l'élevage.

Lors de notre enquête, les paramètres qui sont pris en considération : la région, le climat, la saison, l'âge d'apparition, la densité, la souche, l'hygiène, le protocole de

vaccination qui a été relevé (âge de vaccination, type de vaccin et mode d'administration du vaccin) (Tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques des élevages étudiés.

Paramètres	Classe	Nombre d'élevage	Pourcentage (%)
Région	Béni Slimane	1	20.0
	Médéa	2	40.0
	Ksar El-Boukhari	2	40.0
Climat	Sec	12	40.0
	Humide	18	60.0
Saison	Automne	6	20.0
	Eté	20	66.6
	Printemps	4	13.3
Age (jours)	≤30	8	26.6
	>30	22	73.3
Densité	>10	12	40
	≤10	18	60
Souche	Arbor acres	14	46.6
	Cobb 500	5	16.6
	Hubbard F15	11	36.6
Hygiène	Bonne	7	23.3
	Moyenne	9	30.0
	Mauvaise	14	46.6
Prtocole de Vaccination*	1	9	30.0
	2	13	43.3
	3	8	26.6
Mortalité	<10	6	20.0
	≥10	24	80.0

Protocol de vaccination, 1: primo-vaccination sans rappel; 2: primo-vaccination avec un rappel; 3: primo-vaccination avec deux rappel.

III.7. Analyses statistiques :

Tout d'abord, des statistiques descriptives ont été utilisées pour caractériser les élevages selon les différents facteurs. Ainsi, des analyses statistiques ont été effectuées avec SAS (version 9.1.3 ; SAS Institute Inc., Cary, NC).

Avant d'ajuster l'analyse statistique, l'examen des distributions des titres en anticorps par l'utilisation de (PROC UNIVARIATE, Shapiro-Wilk test) a indiqué que la plupart d'entre eux ne pouvaient pas être considérés comme normalement distribués. Si la variable ne correspond pas à la distribution normale, des ajustements tels que les transformations logarithmique, carrée, racine carrée sont des outils possibles.

Le titre en anticorps de chaque maladie à travers le temps a été analysé en ajustant un modèle linéaire général mixte utilisant la procédure MIXTE du SAS pour évaluer la séropositivité entre le premier et le second prélèvement de sérum.

Ensuite, l'effet de la probabilité de la séropositivité a été évalué à l'aide de modèles multivariables à effets mixtes (PROC GENMOD), en utilisant une distribution normale et des fonctions de liaison logarithmique, et les élevages comme un effet aléatoire.

Les variables offertes au modèle comprenaient la région, le protocole de vaccination, la saison, la souche, le climat, l'hygiène, la densité et l'âge. Les variables âge, densité, saison, climat et hygiène ont été dichotomisées sur : ≤ vs.>30 jours pour les groupes d'âge ; ≤ vs. >10 sujets/m2 groupes pour la densité ; automne vs. été et printemps pour la saison et groupes sec vs. humide pour le climat.

Avant l'inclusion dans le modèle mixte, la sélection initiale des variables a été effectuée à l'aide d'une procédure manuelle par étapes, les variables significatives ($P < 0,1$) restant dans le modèle. Cette procédure a été répétée pour chaque maladie.

La sensibilité et la spécificité de la détection des maladies en fonction des signes cliniques et nécrosiques a été calculée à l'aide de l'évaluation du test de diagnostic de Win Episcope 2.0.

Enfin, Un tracé de lignes empilées de changements de titre en anticorps (graphes) a été généré en utilisant Prism 5.01 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA USA).

IV. Résultats :

IV.1. Etude clinique :

- **Forme respiratoire :**

Signes cliniques : les signes cliniques les plus courants sont les suivants : signes respiratoires : râles, éternuements, toux, jetage nasale.

Lésions : trachéite (congestion de la muqueuse trachéale), dépôt de fibrine.

- **Forme néphro-pathogène :**

Signes cliniques : Diarrhée aqueuse, déshydratation.

Lésions : Les lésions post-mortem les plus fréquemment observées sont : néphrite hémorragique, dépôt d'acide urique au niveau rénale et viscères (goute viscérale), dépôt d'acide urique au niveau articulaire (goute articulaire).



Trachéite



Néphrite



Goute viscérale



Goute articulaire

Figure16: Signes cliniques et lésions observés

IV.2. Etude sérologique :

Le tableau 03 présente les résultats des titres en anticorps pour IB.

Parmi les 5 élevages, 3 (60%) ont été testés positifs à la maladie de la bronchite infectieuse; comme ils ont été montré un faible CV et une différence significative (p <0,0001) dans le titre en anticorps entre le premier et le deuxième échantillon (LSM ± SE, 1854.63 vs 4689.17± 371.38, CV (11-25%), et qui présentent des signes spécifiques (cliniques et lésionnels) et un taux de mortalité variable (12-29%) (Tableau 4, 5).

.

Tableau 4: Etude sérologique

Pathologie	Titres d'anti-corps		CV (%)	SE	P	Seropositivité (%)
	Moy 1	Moy 2				
BI	1854.63	4689.17	23-39	371.38	<0.0001	60.00

IV.3. Etude de la fiabilité de diagnostic :

D'après nos résultats, nous avons observé que l'utilisation de signes nécropsiques et cliniques pour diagnostiquer les trois maladies était adaptée à nos résultats sérologiques (Tableau 6), conduisant à une très grande spécificité (100%).

En d'autres termes, tous les élevages suspectés avoir la maladie, IB avaient des anticorps spécifiques. Cependant, les sensibilités étaient de 75,0 pour IB. Donc pour cette maladie, le diagnostic clinique et nécropsique ont été particulièrement fiables.

Tableau 5: Sensibilité (%) et spécificité (%), avec intervalle de confiance à 95% (IC) et prévalence réelle du test sur la base des signes cliniques et lésionnels pour la détection de IB

Pathologie	Sensitivité (%) (95%CI)	Specificité (%) (95%CI)	Prévalence (%) (95%CI)
BI	65.0	80.0	45.0

IV.4. Les facteurs influençant l'apparition la BI :

Les facteurs influençant la séropositivité de IB ont été représentés respectivement dans le tableau 7.

D'après nos résultats, lorsque les élevages ont été échantillonnés au printemps, la séropositivité a été inférieure de 55% (OR = 0,45, p = 0,03) par rapport à l'été. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les élevages échantillonnés en automne et au printemps.

Alors que les élevages ayant une densité supérieure à 10 sujets/m^2 sont significativement plus susceptibles d'être séropositif de 45% (OR = 1,45, p = 0,04) par rapport aux élevages qui ont une densité inferieure ou égale 10 sujets/m^2 sujets.

Par conséquent, les élevages ayant un âge supérieur à 30 jours est plus à être séropositif de 40% (OR = 1,40, p = 0,02) par rapport à ceux qui ont un âge de moins de 30 jours.

Cependant, il n'y a aucun effet significatif de la vaccination, le climat et la souche sur la séroconversion pour la bronchite infectieuse (Tableau 7).

Tableau 6: Effet de facteurs de risque pour IB.

Facteurs	Classe	Prévalence	Estimation	SE	0R	95%CI	P
Protocole de vaccination*	1	41.6	0.43	0.33	1.54	0.79-2.99	0.19
	2	41.6	0.14	0.24	1.15	0.71-1.88	0.55
	3	16.6	Réf				
Saison	Automne	8.33	-0.24	0.19	0.78	0.53-1.13	0.19
	Printemps	0.00	-0.49	0.23	0.45	0.38-0.96	**0.03**
	Eté	91.6	Réf				
Souche	Arbor acres	41.6	-0.03	0.18	0.96	0.67-1.37	0.85
	Cobb 500	25.0	-0.31	0.33	0.73	0.37-1.41	0.35
	ISA	33.3	Réf				
Climat	Sec	75.0	-0.09	0.22	0.91	0.58-1.42	0.67

	Humide	25.0	Réf				
Densité (sujet/m²)	>10	83.3	0.38	0.21	1.45	0.96-2.25	**0.04**
	≤10	16.7	Réf				
Age (jour)	>30	100.0	0.37	0.16	1.40	1.06-1.99	**0.02**
	≤30	0.00	Réf				
*protocole de vaccination, 1: primo-vaccination sans rappel;2: primo-vaccination avec un rappel; 3: primo-vaccination avec deux rappels.							

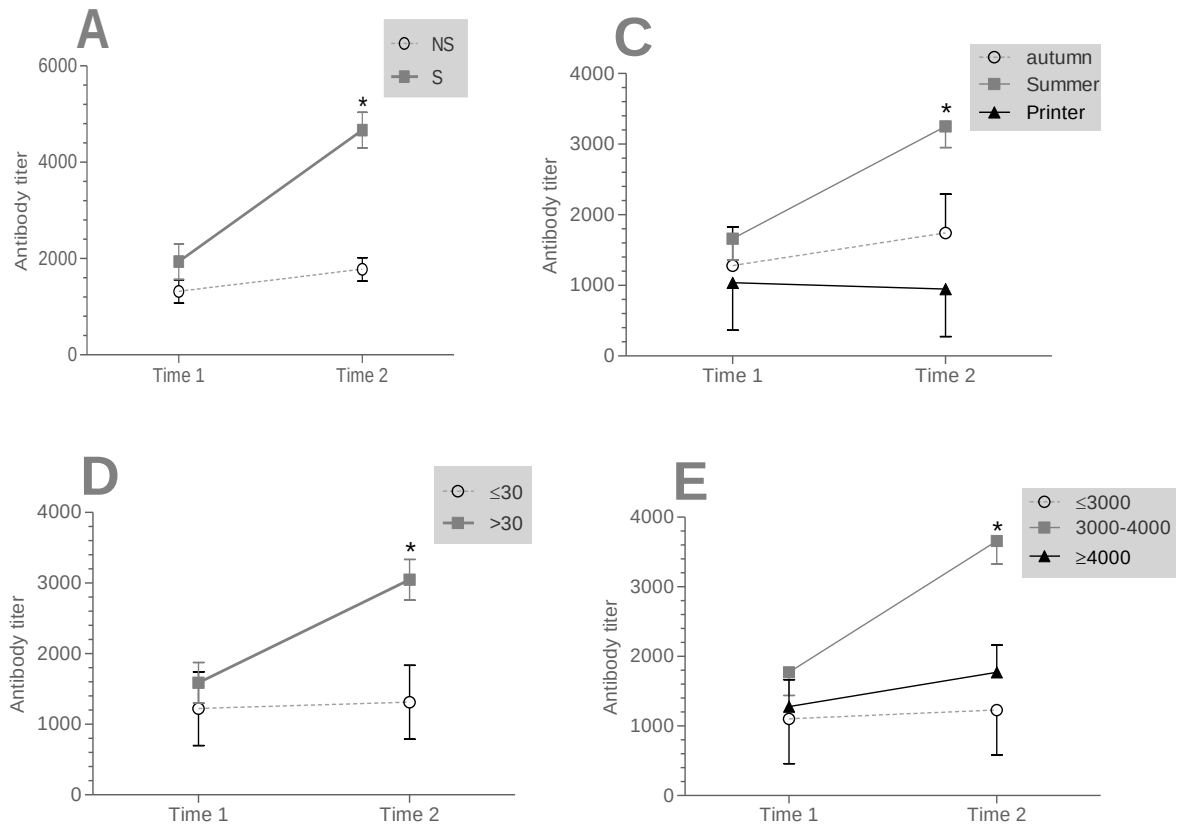


Figure17: Effet de facteurs de risqué pour IB (A. suspicion clinique, C. saison, D. âge, E. densité)

V.Discussion :

V.1. Etude sérologique :

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur une étude séro-épidémiologique des principales infections virales aviaires à travers une enquête et l'analyse des échantillons en laboratoire en utilisant la méthode ELISA pour un but d'évaluer le statut immunitaire en analysant la prévalence sérologique de IB en élevage de poulets de chair dans le Nord d'Algérie.

Les résultats de la présente étude ont largement confirmé nos prévisions. Les élevages échantillonnés sont suspectés d'être infectés par des maladies virales telles que BI, qui expriment des symptômes cliniques et des lésions typiques avec une morbidité et une mortalité élevées. La vaccination utilisée est un vaccin vivant pour tous les élevages. Nos résultats d'analyse sérologique montrent que les élevages échantillonnés présentent une séropositivité de 60% pour IB.

En effet, le statut immunitaire en réponse aux maladies virales est estimé en mesurant la réponse sérologique objectivée par la détection d'anticorps spécifiques produits soit en réponse à une infection, soit après la vaccination ***(Picault et al., 1993 ; Fournier et al., 1995 ; Brigitte et al., 1997).*** D'autre part, les bandes protégées doivent avoir une moyenne de titre supérieur que le seuil de protection pour toutes les dates de l'analyse, sans être très élevé par rapport à celles résultant de la vaccination ou en l'absence de toutes sortes de signes cliniques spécifiques ***(Gardin et al, 2002).***

En revanche, nos élevages échantillonnés étaient suspectés d'être infectés par l'une des maladies virales (IB), sur la base de signes cliniques et nécropsiques typiques, et présentaient une morbidité et une mortalité élevées avec un taux élevé de titres d'anticorps. En effet, des épidémies ou des flambées ont été signalées dans les populations vaccinées malgré le fait que la vaccination est largement appliquée ***(Alexander, 2003 ; van Boven et al, 2008).*** Ainsi, les manifestations cliniques et lésionnelles des sujets atteints peuvent aider à diagnostiquer une maladie virale, mais une analyse en laboratoire (diagnostic de laboratoire) est nécessaire pour la confirmer ***(Banda, 2002 ; Hasan et al, 2010).***

Bien que, le test ELISA ne permette pas la distinction entre les anticorps post-vicinaux et les anticorps post-infectieux en cas de vaccination avec le vaccin inactivé en tenir compte l'absence de signes cliniques, sachant que au cours de notre expérimentation tout les

élevages prélevés ont été vaccinés avec un vaccin vivant qui produit un taux bas des titres d'anticorps en le comparant avec un passage viral. Donc, l'absence ou la présence de signes cliniques et le type de vaccin utilisé doivent être pris en compte ***(van den Berg et al, 2000).***

Dans la présente étude, nous avons prélevé des échantillons appariés pour déterminer l'état sérologique d'une maladie virale tel que IB, le premier échantillon a été prélevé au début de l'infection (l'apparition des signes cliniques), le deuxième deux à trois semaines plus tard. En effet, l'apparition d'anticorps entre deux sérums successifs (généralement échantillonnés dans un intervalle de 10 à 21 jours) indique que le premier contact avec le virus a eu lieu vers la période où le premier prélèvement a été effectué ***(De Wit, 2000 ; Lopez, 2006).*** En effet, une concentration d'anticorps obtenue augmentant entre 02 sérums collectés, cela indique que nous avons eu une stimulation du système immunitaire qui pourrait être due à une infection récente ou à une réactivation virale symptomatique, en l'absence de vaccination, la présence d'anticorps spécifiques contre un virus indique que le virus a infecté le poulet à un moment donné ***(Alexander et al, 2004)..***

Cependant, l'interprétation des résultats de ces tests sérologiques est compliquée par le fait que les anticorps infectieux sont induits par les vaccins ne peuvent être différenciés et qu'il existe peu de données disponibles sur leur performance et les modalités d'interprétation des résultats ***(Auvigne et al, 2013).***

V.2. Etude clinique :

Sur le plan clinique, les signes cliniques les plus courants sont les suivants : râles, éternuements, toux, jetage nasale pour la forme respiratoire, Diarrhée aqueuse, déshydratation pour la forme néphro-pathogène étaient semblables aux résultats de Villat (2001), Pantin-Jackwood et al (2005), Guerin et al (2005) et Corrand (2008).

Les lésions post-mortem les plus fréquemment observées sont : trachéite (congestion de la muqueuse trachéale), dépôt de fibrine pour la forme respiratoire, néphrite hémorragique, dépôt d'acide urique au niveau rénale et viscères (goute viscérale), dépôt d'acide urique au niveau articulaire (goute articulaire) pour la forme néphro-pathogène. Ces résultats concordent avec ceux de Villat (2001), Pantin-Jackwood et al (2005), Guerin et al (2005) et Corrand (2008).

V.3. Les facteurs influençant l'apparition de la bronchite infectieuse (BI) :

Concernant les facteurs affectant la BI, les présents résultats ont mis en évidence un effet de la saison sur l'infection de IB, lorsque les élevages ont été échantillonnés au printemps, la séropositivité était inférieur de 40% par rapport à l'été. Cependant, il n'y avait pas de différence significative entre les élevages échantillonnés en automne et au printemps.

Les cycles saisonniers des maladies infectieuses ont été attribués de manière diverse aux changements des conditions environnementales, à la prévalence ou à la virulence du pathogène, ou au comportement de l'hôte ***(Dowell, 2001 ; Lopez, 2006).*** Ainsi, les maladies causées par les virus de la corona tels que l'IBV montrent une saisonnalité dont le froid semble avoir un effet sur ces pathologies ***(Raj et Jones 1997 ; Holmes 2003),*** bien que la saison printanière (printemps) en Algérie est considérée comme période froide.

En contradiction avec nos résultats, une forte prévalence de l'IBV avait été démontrée en Nouvelle-Zélande à partir d'échantillons prélevés pendant la période froide ***(Ramneek et al., 2005)*** et était probablement due à des facteurs environnementaux inefficaces tels que : une ventilation insuffisante en raison de la nécessité de conserver la chaleur ***(Javed et al., 1991 ; Ahmed et al, 2007).***

L'impact de la saison reste flou. Cela peut être dû à des changements environnementaux, à des modifications de la physiologie de l'hôte ou à des altérations du virus ***(Dowell, 2001; Lopez, 2006).***

Autrement, les élevages ayant une densité supérieure à 10 sujets / m2 étaient significativement plus séropositifs à IB de 47% par rapport ceux ayant une densité inférieure ou égale à 10 sujets / m2. En effet, la surpopulation semble être l'un des facteurs favorisant l'introduction et l'implantation du virus. Cependant, l'impact clinique de ces variantes sur IB semble largement dépendre des conditions de reproduction des oiseaux, c'est-à-dire de la densité et de la gestion technique et sanitaire (biosécurité) ***(Ban-Bo et al., 2013).***

Ainsi, les sujets âgés de plus de 30 jours étaient plus séropositifs de 45% par rapport les plus jeunes. La bronchite infectieuse est une maladie virale des voies respiratoires aiguës hautement contagieuse chez les poulets de tous âges ***(Cavanagh, 2007 ; Kumthekar et al, 2011 ; Abao et al, 2015).***

La mortalité peut survenir chez les poulets jeunes et âgés en raison de manifestations respiratoires ou rénales de l'infection, mais les signes cliniques sont plus graves chez les jeunes ***(Brugere -Picoux et al., 1992, Animas et al., 1994).***

Cependant, une mortalité peut se produire chez les poulets jeunes et âgés en raison de manifestations respiratoires ou rénales de l'infection ***(Cavanagh et Naqi, 1997 ; Bing et al, 2007).*** Bien que, la maladie est plus fréquente dans l'âge de 7 à 5 semaines ***(Javed et al., 1991, Ahmed et al, 2007).***

Conclusion

Conclusion :

L'enquête sérologique menée dans cette étude a fourni une importante portée sur les maladies virales dominantes chez les poulets de chair et a révélé que la séroprévalence de IB était 60%.

Les manifestations cliniques et les découvertes post mortem des oiseaux atteints peuvent aider à diagnostiquer une maladie, mais un diagnostic de laboratoire est nécessaire pour confirmer la maladie.

En outre, les résultats suggèrent également que les facteurs de risque liés à la biosécurité et aux pratiques agricoles semblent jouer un rôle important dans la gravité de la maladie observée dans les fermes touchées. Si ces facteurs sont atténués, la gravité des problèmes de la maladie la bronchite infectieuse dans les fermes sera grandement réduite.

L'enquête sérologique montre que la BI représente toujours un problème pour l'élevage avicole malgré la vaccination systématique, ce qui pourrait témoigner d'échecs vaccinaux sur le terrain. Nombreux sont les facteurs qui contribuent à l'aggravation des infections virales, toutefois, il serait possible de limiter ses dégâts en améliorant les conditions d'élevage.

L'usage des vaccins inactivés pourrait aussi renforcer la capacité de défense des organismes sensibles. Pour éviter que les élevages avicoles ne subissent en permanence des effets de nombreuses maladies virales, des efforts dans la surveillance épidémiologique devraient être entrepris.

En fin, l'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage sommaires, constituant le lit des infections, ceci, est à l'origine de la faible productivité. Un meilleur contrôle et une meilleure conduite de cet élevage permet une optimisation de ce secteur d'activité.

Recommandations :

En tenant compte des résultats obtenus dans ce travail, certaines recommandations sont émises envers les autorités en charge de l'élevage, aux praticiens vétérinaires et aux éleveurs.

- **Aux autorités de l'élevage :**

- Renforcer la surveillance épidémiologique au niveau des exploitations villageoises, des marchés de volailles, des frontières;
- Accroître les efforts d'amélioration et de soutien accordés au secteur de l'aviculture traditionnelle;
- Élargir l'étude de la séroprévalence des pathologies virales aviaires les plus rencontrées.

- **Aux praticiens vétérinaires :**

- La nécessité de mener des analyses sérologiques pour tout vétérinaire souhaitant vérifier la validité de son protocole face au contexte épidémiologique particulier de chaque élevage. En effet, vacciner sans contrôler revient, selon l'expression suivante " conduire un véhicule avec des yeux bandés" ;
- Il souligne également la nécessité de l'utilisation de vaccins plus efficaces contre les virus sauvages hyper virulents fortement suspectés sur le terrain et aussi par le renforcement de la protection par l'ajout d'un rappel vaccinal ;
- Sensibiliser, encadrer, et former les petits aviculteurs ;
- Promouvoir l'application effective des mesures de biosécurité en aviculture traditionnelle.

- **Aux éleveurs :**

- Améliorer la conduite des élevages (l'habitat, l'alimentation, l'hygiène, et autres).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-Abao, E.S., Manalo, L. A., Barro, J. R. D., Gonato, R. P. L., Keith, C., Ybañez, S. A. P. (2015). Negative Sero-occurrence of Infectious Bursal Disease, Newcastle Disease and Infectious Bronchitis in Japanese Quail. International Research Journal of Interdisciplinary & Multidisciplinary Studies (IRJIMS), I-VIII, 13-18.

-Abdel-Moneim, A. S., Zlotowski, P., Veits, J., Günther, M., Keil, G. M., Teifke, J. P. (2009). Immunohistochemistry for detection of avian infectious bronchitis virus strain M41 in the proventriculus and nervous system of experimentally infected chicken embryos. Virology Journal, 6(1), 15.

-Ahmed, Z., Naeem, K., Hameed, A. (2007). Detection and Seroprevalence of Infectious Bronchitis Virus Strains in Commercial Poultry in Pakistan. Poultry Science, 86, 1329–1335.

-Alexander, 2003 Newcastle disease, other avian paramyxoviruses and pneumovirus infectious Disease of poultry, 11th ed. Iowa State University Press Ames, 63-99.

-Alexander,D. J., Bell, J. G., Alders, R. G. (2004). A technology review: Newcastle disease, with special emphasis on its effect on village chickens (No. 161). Food & Agriculture Org.

-Ambali A.G., Jones R.C., Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis virus, Avian Dis. (1990) 34:809–817.

-Amin, O. G., Valastro, V., Salviato, A., Drago, A., Cattoli, G., Monne, I. (2012). Circulation of QX-like infectious bronchitis virus in the Middle East. Veterinary Record, 171(21), 530.

-Animas, S. B., Otsuki, K., Tsubokura, M., Cook, J. K. (1994). Comparison of the susceptibility of chicks of different ages to infection with nephrosis/nephritis-causing strain of infectious bronchitis virus. Journal of Veterinary Medicine Sciences, 56, 449-53.

-Auvigne, V., Gibaud, S., Léger, L., Malher, X., Currie, R., Riggi, A. (2013). A longitudinal study of the incidence of Avian Infectious Bronchitis in France using strain-specific haemagglutination inhibition tests and cluster analysis. Revue Méd. Vét, 164, 8-9, 417-424.

-BALESTEROS M.L., SANCHEZ C.M., ENJUANES L. Two amino acid changes at the N-terminus of transmissible gastroenteritis coronavirus spike protein result in the loss of enteric tropism, Virology, 1997, 227:378-388.

-Ban-Bo, B. A., Kebkiba, B., Nadjilem, D. (2013). Factors favoring the emergence of Newcastle disease in Chad. Journal of Applied Biosciences, 70, 5591- 5598.

-Banda, A. (2002); Characterization of field strains of Infectious bursal disease virus (IBDV) using molecular techniques. Dissertation (Doctor of Pholosophy).

-Beaudette F and Hudson C, "Cultivation of the virus of infectious bronchitis,"

Bing, G., Liu, G., Pu, J., Liu, Q.,Wu, Q., Liu, J. (2007). Different genotypes of nephropathogenic infectious bronchitis viruses co-circulating in chicken population in China Virus Genes, 35, 333–337.

-Bochkov, Y. A., Batchenko, G. V., Shcherbakova, L. A., Borisov, A. V., Drygin, V. V. (2006). Molecular epizootiology of avian infectious bronchitis in Russia. Avian Pathology, 35, 379–393.

-Bowersock, 2002; Evolving importance of biologics and novel delivery systems in the face of microbial resistance . AAPS PharmSci, 4(4), 1-7.

-Brice ROBINEAU et Pierre-Yves MOALIC, une manifestation clinique de la bronchite infectieuse : les poules fausses pondeuses ; évolution en Fra++++++nce des coronavirus responsables. Bull. Acad. Vét. France — 2009 - Tome 162 - N°2 http://www.academie-veterinaire defrance.org, 155-160.

-Brigitte, A., Jean François, D. J., Nadia, M., Yalacé, K. (1997). Study of vaccine programs carried out in poultry farming in Senegal. Second Days of the Poultry Research, Tours April, 10, 1997.

-BRUDER, M. 1991. Le diagnostic sérologique de la bronchite infectieuse aviaire par la méthode d'inhibition de l'hémagglutination. Quelques exemples dans six élevages de poules pondeuses.Th. : Med. vet. : Lyon, 1991. 74.

-Brugére-Picoux Jeanne et Vaillancourt Jean pierre et Bouzouaia Moncef et Shivaprasad HL et Venne Daniel, 2015: Manuel de pathologie aviaire, P: 165-171.

-Brugere-Picoux, J., Silim, A. (1992). Manual of avian pathology. Editions National Veterinary School of Alfort, 379.

-Cavanagh D., Naqi S., Infectious bronchitis, in: Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R., Swayne D.E. (Eds.), Diseases of poultry, Iowa, 11th edition, Ames, Iowa State University Press, 2003, pp. 101–119.

-Cavanagh, D. (2007). Coronavirus avian infectious bronchitis virus. Respiratory viruses of domestic animals. Vet.Res, 38(2), 281-297.

-Cavanagh, D., Naqi, S. A. (1997). Infectious bronchitis In: Calnekb.W., Barnes, H. J., Beard, C. W., et al. Diseases of poultry, 10th edition, 511-526.

-COLLISSON E. W., PEI J., DZIELAWA J., SEO S.H.,Cytotoxic T .1 lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry, Dev. Comp. Immunol., 2000, 24:187-200

-Corrand, L.P.A. (2008). Evaluation de l'efficacité de souches vaccinales contre un variant de la bronchite infectieuse aviaire isole au Québec", thèse de Dr vétérinaire, Toulouse 3, 4098.

-Cumming, R. B. 1969. The control of avian infectious bronchitis/nephrosis in Australia. Aust Vet J. 45:200–203.D. Weinstock, M. Salem, R.J. Eckroade, and J.Jr. Gelb. 2002. Nephropathogenic infectious bronchitis in Pennsylvania chickens 1997–2000. Avian Dis. 46:847–58.

-Desingu, P. A, Singha, S. D, Dhamaa, K., VinodhKumarb, O. R, Singhc, R, Singh, R K. (2014). Development of slide ELISA (sELISA) for detection of four poultry viralpathogens by direct heat fixation of viruses on glass slides. Journal of Virological Methods, 209, 76–81.

-DeWit, J. J. (2000). Technical review, detection of infectious bronchitis virus. Avian Pathology, 29, 71-93.

-Dolz, R, Pujols, J., Ordóñez, G., Porta, R., Majó, N. (2008). Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus In Spain over a fourteen-year period Virology, 374:50–59.

-Dowell, S. F. (2001). Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. Emerging Infectious Diseases, 7, 369-74.

-E.kaleta.et T, Redmann al;1992. Manuel de pathologie aviaire. Nouvelle edition. Maison Alfort, p165.

-Fournier, D., Legros, F. X., Vanmarcke, J. (1995). International poultry production meetings , Nantes, 69-123.

-Gardin, Y., Soleil, S., Rippa, I. (2002). Use of serology for monitoring Epidemiology of poultry herds. Interprofessional meetings of pathology of avian diseases. Rennes.

-Guérin, J. L., Boissieu, C. (2008). Gumboro disease (or infectious bursitis). Avicampus.

-GuérinJ.L et Balloy, villate al., 2011 Maladies des vollailes (éd.3éme) (France agricol, éd.) paris

-Gupta et al, 2014 Toll-like receptor-based adjuvants: enhancing the immune response to vaccines against infectious diseases of chicken. Expert review of vaccines, 13(7), 909-925.

-Hasan, R. A. K. M., Ali, M. H., Siddique, M. P., Rahman, M., Islam, M. A. (2010). Clinical and laboratory diagnoses of newcastle and infectious bursal diseases of chickens . Bangl. J. Vet. Med, 8(2), 131 – 140.

-Holmes, K. V. (2003). SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy. The Journal of Clinical Investigation, 111, 1605-09.

-ICTV. (2011). Virus Taxonomy:ICTV, Release. (http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp).

-**Javed et al., 1991; Javed, T., Siddique, M., Hameed, A. (1991).** Persistence and morpho-pathological studies on infectious bronchitis in chickens in Pakistan. Assiut Vet. Med. J.,25, 216–228.

Journal of the American Veterinary Medical Association, vol. 90, pp. 51–60, 1937 - **Benyeda.L et al.,2010-**

-Khan, C. M., Dana, A. (2005). The Merck Veterinary Manual. 9th ed.; New Jersey, USA: Merck and Co.,Inc., 2255-2257.

-Klieve, A. V. and R. B. Cumming. 1988. Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines. Avian Pathol. 17:829–839.

-Klieve, A. V. and R. B. Cumming. 1988. Infectious bronchitis: Safety and protection in chickens with maternal antibody. Aust Vet J. 65:396–397.

-Kusters JG, Jager EJ, Niesters HG, van der Zeijst BA. Sequence evidence forRNA recombination in field isolates of avian coronavirus infectious bronchitis virus.Vaccine 1990; 8:605-8.

-Lillehoj et al, 2003 Enhancing intestinal immunity to coccidiosis. World Poult, 19, 18-21.

-Lopez, J. C. (2006). The effect of environmental stressors on the immune response to avian infectious bronchitis virus (Doctoral dissertation, Lincoln University).

-Martin, P. A. J. (1992). The epidemiology of Newcastle disease in village chickens. Spradbrow P B (Ed.). Newcastle Disease in Village Chickens, Control with Thermostable Oral Vaccines. Proceedings, International Workshop held in Kuala Lumpur, Malaysia, 6-10 October 1991, Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Canberra,; pp. 40-45.

-Mohan, C. M., Dey, S., Rai, A., Kataria, J. M. (2006). Recombinant haemagglutinin neuraminidase antigen-based single serum dilution ELISA for rapid serological profiling of Newcastle disease virus. J Virol Methods, 138(1), 117-22.

-Ntirandekura, J. B (2011). Séroprévalence de la bronchite infectieuse En aviculture traditionnelle au Sénégal. Thèse doc vét. Sénégal.

-OTSUKI K., NAKAMURA T., KUBOTA N., KAWAOKA Y., TSUBOKURA M., 1987. Comparison of two strains of avian infectious bronchitis virus for their interferon induction.

-Pantin-Jackwood M. J., Brown T. P., Huff G. R., (2005). Reproduction of proventriculitis in commercial and specific-pathogen-free broiler chickens. Avian Diseases, 49:352-360.

-Picault, J. P., Lecoq, H., Guittet, M., Bennejean, G. (1993). Poultry technical science, 4, 374 9.

-Pradhan, S. K., Kamblea, N. M., Pillaia, A. S., Gaikwada, S. S., Khulapea, S. K., Reddyc, M. R., Mohana, C. M., Katariab, J. M. (2014). Recombinant nucleocapsid protein based single serum dilution ELISA for the detection of antibodies to infectious bronchitis virus in poultry. Journal of Virological Methods, 209, 1–6.

-Raj, G. D., Jones, R. C. (1997). Effect of T-cell suppression by cyclosporin on primary and persistent infections of infectious bronchitis virus in chickens. Avian Pathology, 26(2), 257-276.

-Ramneek, Mitchell, N. L., Mcfarlane, R. G. (2005). Rapid detection and characterisation of infectious bronchitis virus (IBV) from New Zealand using RT-PCR and sequence analysis. New Zealand veterinary journal, 53(6), 457-461.

-*ReguigB*., Aissou Y., Hamidi., CH 2020; mémoire enquete epidemiologique sur la bronchite infectieuse chez la poule pondeuse p 03.

-RIDDELL C., Infectious Bronchitis., In: Avian histopathology, Second Edition (2001)., American Association of Avian Pathology.

-Schalk et Hawn rapportent en 1931 dans le Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)

-Seger, W., Langeroudi, A. G., Karimi, V., Madadgar, O., Marandi, M. V., Hashemzadeh, M. (2016). Genotyping of infectious bronchitis viruses from broiler farms in Iraq during 2014-20 Arch. Virol, 161, 1229–1237.

-Smati R., Silim A., Cuertin C., Henrichon M., Marandi M., Arella M., Merzouki A. molecular charactirization of three new avian infectious bronchitis virus (IBV) strains isolated in Quebec. Virus Genes, 2002, 25:1 85-93

-Stadler K, Masignani V, Eickmann M, Becker S, Abrignani S, Klenk HD, Rappuoli R: SARS--beginning to understand a new virus. Nat Rev Microbiol 2003, 1:209- 218.

-Van Boven, M., Bouma, A., Fabri, T. H. F., Katsma, E., Hartog, L., Koch, G. (2008). Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. Avian Pathology, 37(1), 1-5.

-Van den Berg, T. P., Eterradossi, N., Toquin, D., Meulemans, G. (2000). Infectious bursal disease (Gumborodisease) Revue Scientifique Technique, 19, 509-543.

Venne et Silim, 1992, Bronchite infectieuse (125-128): Manuel de pathologie aviaire. Maison Alfort, France, Ecole Nationale Vétirinaire, 379p.

-Villarreal, L. Y., P. E. Brandão, J. L. Chacón, A. B. Saidenberg, M. S. Assayag Jr.,

-Villat 2001; anatomie des oiseaux , maladie et affection divers les maladies des vollailes, edi, INRA (Shivaprasad,2015) p32

-WINTER C., SCHEGMANN-WESSELS C., CAVANAGH D., NEUMAN U.,HERRLER G., Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian infectious bronchitis virus, J. Gen. Virol., 2006, 87:1209-1216.