MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE Dr .YAHIA FARES MÉDÉA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**

Spécialité : Immunologie et maladies Infectieuses

Thème

ÉTUDE SÉROLOGIQUE SUR LA MALADIE IMMUNODÉPRESSIVE AVIAIRE

Réalisé par :

Belmahdi Faiza **&** ***Ramdani Djamila***

Membres du jury :

Examinateur: MESSAI C R	MCA	Univ Borj Bouaririj
Examinateur: RAHAL M	MCA	Univ Médéa
Promoteur : Salhi O	MCA	Univ Blida 1
Co promoteur :KAABOUB E	MCB	Univ Medea

Promotion : 2021-2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promoteur**Dr SALHI OMAR**, de nous avoir encadrés avec sa cordialité franche et coutumière, on le remercié pour sa patience et sa gentillesse, pour ces conseils et ces orientations clairvoyantes qui nous guidés dans la réalisation de ce travail. Chaleureux remerciement.*

Nous remercions :

- *Dr MESSAI C R De nous avoir fait l'honneur de présider notre travail.*

- *Dr RAHAL M D'avoir accepté d'évalué et d'examiné notre projet.*

Nous saisirons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de l'institut des sciences biologiques.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de prés ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A celle qui je ne pourrais jamais assez remercier pour tous les sacrifices qu'elle a fait ; a celle qui m'a donné magnifique modèle de labeur et de persévérance, à ma précieuse mère qui a veillé sur moi et continue de la faire, elle qui a toujours su me remonter le moral chaque fois que j'en avais besoin, merci MAMAN. « AIDA KASSAD»

Amon Papa « Taher »Allah yarhmo

A mes très chers sœur :Widad ,Sara, Noura

A mes très chers frère : Mohamed, Sid Ali

A tous les membres de ma grande famille.

A mes proches amis(e)s : Amina .Khadija, khawla ,Alaa

A Dr. Mohamed Ramdani : Mon respect et mon appréciation vont á ton cœur bienveillant et á ton âme pure. Ton action est belle et ton travail est bon .Merci pour ce que tu m'as donné, mon cher frère

A tous ceux qui m'ont soutenu avec une lettre, une position ou une prière

A toute la promotion M2 Immunologie 2021/2022.

…. Je dédie ce modeste travail

Faiza



Dédicaces

A celle qui je ne pourrais jamais assez remercier pour tous les sacrifices qu'elle a fait ; a celle qui m'a donné magnifique modèle de labeur et de persévérance, à ma précieuse mère qui a veillé sur moi et continue de la faire, elle qui a toujours su me remonter le moral chaque fois que j'en avais besoin, merci MAMAN.

Amon guide, qui n'a jamais cessé de me conseiller quand j'en avais le plus besoin, à toi mon éternel guide, mon Papa « GANDOUYE»

Que dieu vous protège

A mes très chers sœur : FATIHA et SAMIRA

A mes très chers frère : AHMED, MOSTAFA et RADWANE

A tous les membres de ma grande famille .

A mes proches amis(e)s : KHAOULA, KHAIRA, SAIDA, SARA, ZINEB, FAIZA et a tous mes amis sans exception

A toute la promotion M2 Immunologie 2021/2022.

…. Je dédie ce modeste travail



Djamila

Résumé

La présente étude a été menée dans le but d'évaluer l'état sérologique et épidémiologique de la maladie de Gumboro (IBD) chez les poulets de chair dans la région de Médéa (30 élevages / 1200 sérums) en utilisant la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à cette maladie.

Nos résultats sérologiques montrent qu'un total de 30 élevages (1200 sérums), 16,66% des élevages ont été une séro-convertis pour IBD. En ce qui concerne la séroconversion pour IBD, lorsque le protocole de vaccination a été appliqué, les élevages étaient significativement plus susceptibles de se convertir en sero de 48% (OR = 1.48, p = 0.047) et lorsque les élevages ont été échantillonnés au printemps, le risque de séroconversion était plus élevé de 45% (OR = 1.447, p = 0.048).

En outre, les élevages ayant une bonne hygiène étaient plus susceptibles de se convertir en 65% (OR = 1,65, p = 0,004) et les élevages ayant un sujet supérieur à 30 jours étaient moins séquestrés de 30% (OR = 0,69, p = 0,009).

Enfin, l'enquête sérologique menée dans le cadre de cette étude a fourni un cadre important sur la maladie de Gumboro qui est une pathologie dominante en élevage de poulet de chair ainsi de nombreux facteurs sont responsables de l'apparition de cette maladie.

Mots clés : Sérologique ; Gumboro ; ELISA ; poulets de chair, Médéa ;Enquête

Summary

The present study was conducted to evaluate the serological and epidemiological status of Gumboro disease (IBD) in broilers in the Médéa region (30 farms / 1200 sera) using the ELISA method and evaluate the influence of certain risk factors associated with this disease.

Our serological results show that a total of 30 farms (1200 sera), 16.66% of the farms were a sero-converted for IBD. With regard to seroconversion for IBD, when the vaccination protocol was applied, the farms were significantly more likely to convert sero 48% (OR = 1.48, p = 0.047) and when the farms were sampled in the spring , The risk of seroconversion was 45% higher (OR = 1.447, p = 0.048). In addition, farms with good hygiene were more likely to convert to 65% (OR = 1.65, p = 0.004) and farms with a subject greater than 30 days were less sequestered by 30% (OR = 0, 69, p = 0.009).

Finally, the serological survey conducted as part of this study provided an important framework for Gumboro disease which is a dominant pathology in broiler farming so many factors are responsible for the occurrence of this disease.

Keywords: Serological; Gumboro; ELISA; broilers, Médéa ; Inquiry,

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم الحالة المصلية والوبائية لمرض Gumboro (IBD) في دجاج التسمين في منطقة المدية (30مزرعة/1200ميلة)، باستخدام طريقة المناعي (ELISA).وتقييم تأثير بعض عوامل الخطر المرتبطة بهذا المرض

تظهر نتائجنا المصلية أن ما مجموعه 30 مزارع (1200 الأمصال)، 16.66٪ من المزارع تم تحويل المصلية ل IBD. وفيما يتعلق الانقلاب المصلي ل IBD عندما تم تطبيق بروتوكول التطعيم، وكانت المزارع أكثر احتمالا كبيرا لتحويلها إلى المصلية 48٪ (OR = 1.48، ع = 0.047) وعندما تم أخذ عينات من المزارع في فصل الربيع ، كان خطر الانقلاب المصلي أعلى بنسبة 45٪ (OR = 1.447، ع = 0.048).

وبالإضافة إلى ذلك، كانت أسراب جود النظافة الجيدة أكثر عرضة لتصبح 65٪ (OR = 1.65، ع = 0.004) والمزارع مع أكثر من حوالي 30 يوما ومعزولا يقل عن 30٪ (= 0OR، 69، ص = 0.009).

وأخيرا وفرت الدراسة المسحية كجزء من هذه اطارا مهما لمرض الغومبورو والذي يعد من الامراض سائدة في زراعة دجاج الشواء ،فهناك العديد من العوامل المسؤولة عن هذا المرض .

كلمات البحث: المسح، المصلية، IBD، اللاحم، المدية.

Sommaire

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I: Généralité sur la maladie de Gumboro

I.1.Définition 3
I.2.Historique 3
I.3.Distribution 4
I.4.Importance de la maladie 4
I.5.Etiologie 5
I.5.1. Caractéristique du virus 6
I.5.1.1.Acide nucléique 6
I.5.1.2.morphologie et structure 7
I.5.1.3.Propriétés physico- chimiques 8
I.5.1.4.Propriétés biologiques 9
I.5.2.Le Cycle Virale (IBDV) 10
I.6.Pathologie 11
I.7.Conséquences physiopathologiques 14
I.8.Immunodépression 15
I.9.Symptômes 16
I.9.1.Une forme immunosuppressive 16
I.9.2.Forme classique ou subclinique 16
I.9.3.Forme aigue ou clinique 17
I.10.Lésions 18

I.10.1.Lésions macroscopiques 18
I.10.1.1.Lésions non spécifiques 18
I.10.1.2.Lésions spécifiques 19
I.10.2.Lésions microscopiques 19
I.10.2.1.Au microscope optique 19
I.10.2.2.Au microscope électronique 20
I.11.Epidimologie 20
I.11.1.Espèces 20
I.11.2.L'Âge 21
I.11.3.Milieu 21
I.11.4.Transmission du virus de la maladie de Gumboro 21
I.12.Diagnostic 21
I.12.1.Diagnostic épidémio-clinique 21
I.12.2.Diagnostic différentiel 22
I.12.2.1. Maladies à symptômes apparentés 22
I.12.2.2. Maladies à lésions semblables 22
I.12.3. Diagnostic expérimental 22
I.12.3.1. Virologie 22
I.12.3.2 .Diagnostic sérologique 23
I.12.3.3 .Diagnostic Histologie 25

Chapitre II : Immunité et méthode de lutte

II.1.Généralités 27
II.2.Les organes lymphoïdes 28
II.2.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux 28
II.2.1.1. Thymus 28
II.2.1.2.La Bourse de Fabricius 29
II.2.2. Organes et tissus lymphoïdes secondaires ou périphériques 31
II.2.2.1. Rate 31
II.2.2.2. Moelle osseuse 31
II.2.2.3. Les nodules lymphatiques 32
II.2.2.4. Le GALT (Gut Associated Lymphoïde Tissue) 32
II.2.2.5. Le HALT (Head Associated Lymphoid Tissue) 32

II.3.Les grands types de réponses immunitaires 33
II.3.1.Immunité naturel (non spécifique) 33
II.3.2.L'immunité active 34
II.3.2.1.L'immunité cellulaire 34
II.3.2.2.L'immunité humorale 35
II.3.3.l'immunité d'origine maternelle (Immunité passive) 38
II.4.Immunité collective 38
II.5.Méthode de lutte contre la maladie de Gumboro 38
II.5.1. MesuresSanitaires 38
II.5.1.1. Mesures offensives 38
II.5.1.2.Mesures défensives 39
II.5.2.Mesures médicales 39
II.5.2.1.Traitement 39
II.5.2.2. vaccination 39
II.6.Mode de vaccination 43
II.6.1.La vaccination individuelle 43
II.6.1.1.Pour un vaccin vivant atténué 43
II.6.1.2.Pour les vaccins inactivés 43
II.6.2.La vaccination de masse 44
II.6.3. Cas de la vaccination in ovo 45
II.7.Choix de la date de vaccination 45

Partie Expérimentale

I. Problématique 48
II. Objectif 48
III.Matériels et méthodes 49
III.1. Région et durée d'étude 49
III.2. La conduite expérimentale 49
III.3. Animal 51
III.4. Echantillonnage (Prélèvements) 52
III.5.Méthode de laboratoire (Sérologie) 55
III.6. Facteurs de risque 61
III.7. Analyses statistiques 63

IV.Résultats 64
IV.1. Etude sérologique 64
IV.1.1. La maladie de Gumboro (IBD) 64
IV.2. Etude de la fiabilité de diagnostic 66
IV.3. Les facteurs influençant l'apparition de IBD 66
IV.3.1. La maladie de Gumboro (IBD) 66
Conclusion 76
Références bibliographique 49

Liste des figures

&

Liste des tableaux

Liste des figures

Partie Bibliographique

Figure 1:photo extraite du belletin technique avicole nobilis 1976**(Daillo.1987)** 3
Figure 2: Distribution géographique des variants antigéniques et pathotypiques**(Amine.2015**)..... 4
Figure 3:Taxonomie des Birnavirida**(Amine.2015)** 5
Figure 4: Représentation schématique des relations génétiques des souches de l'IBDV. 6
Figure 5: Organisation schématique du génome de l'IBDV **(Fauquet et al., 2005)**..... 7
Figure 6: Organisation schématique de la Structurede l'IBDV**(Alamy)** 8
Figure 7: Représentation schématique du mécanisme de la réplication de l'IBDV..... 11
Figure 8:Mécanisme pathologique de l'IBDV faisant intervenir les cellules T et les Macrophage.**(Sanjiv Kumar)**..... 13
Figure 9: Pathogénie de l'immunosuppression IBDV-induite(**Amine 2015)**..... 15
Figure 10: hémorragie musculaire Au niveau de cuise (Isable et al) **Figure 11**: Enflure de la bourse de Fabricius chez l'animal récemment atteint**(Saville.1999)** 17
Figure 12: Courbe caractéristique de mortalité de la forme aiguë de la maladie de Gumboro (% morts/pertes totales**).(Etienne.2002)** 18
Figure 13: Photo de la Bourse de Fabricius normale (gauche) el 3 jours après l'infection. 19
Figure 14:photo extraite du belleti technique avicole nobilis 1976**(Guérin et al 2011)** 19
Figure 15:bourse très congestionnée et atrophiée**.(AVIA.2013)** 20
Figure 16:Principe de l'ELISA pour la détection de l'anticorps anti-IBDV**(Mamitiana.2011)** 25
Figure 17: Coupe histologique d'une bourse de Fabricius normale d'un jeune poulet**(Guérin et al2011)**
Figure 18:Coupe histologique de la bourse de Fabricius d'un poulet en phase aiguë de la maladie de Gumboro **(Guérin et al 2011)** 26
Figure 19: Distribution anatomique des organes lymphoïdes (**Pastoret P et al .1990)** 28
Figure 20: Structure histologique de thymus. x 12,5 **(Bacha et Bacha, 2000).** 29
Figure 21 : Structure histologique de la bourse de Fabricius. X 12,5 **(Bacha et Bacha,2000).** 30
Figure 22: Structure histologique de la rate (H & E x 400) **(Khenenou, 2008).** 31
Figure 23: Coupe histologique des nodules lymphatique **(Mclelland, 1990)**..... 32
Figure 24: La glande de Harder. (khenenou, 2012) GH: glande de Harder, S: sclérotique. NO: nerf optique**.** 33
Figure 25: L'aspect histologique de la glande de Harder chez le poulet de chaire (H&E x 100) **(Tolunay, 2010).**..... 33
Figure 26: Classifications des Immunoglobulines**(Alamy)** 35

Figure 27:Schéma de la réponse humorale et cellulaire du système immunitaire des vertébrés. 37
Figure 28: Principe du vaccin recombinant anti-IBD et anti-NDV**...** 42

Partie Expérimentale

Figure 29: Localisation des régions d'étude (la ville de Médéa). 49
Figure 30: Les types des bâtiments d'élevages. 51
Figure 31: Diagramme schématique des protocoles de vaccination utilisés dans les élevages prélevés (d : jour de vaccination). 52
Figure 32: Technique de prélèvement 54
Figure 33: rechargement le sérum dans des tubes Eppendorf identifiés 54
Figure 34:Kit ELISA utilisé 55
Figure 35:Lecteur ELISA et lavage manuel 56
Figure 36: Contrôle positif et Contrôle négatif 57
Figure 37: Les déférentes solutions 58
Figure 38:Matériel nécessaire 59
Figure 39: Effet de facteurs de risqué pour IBD 68

Liste des tableaux

Partie Bibliographique

Tableau 1: Comparaison entre les vaccins atténués et les vaccins inertes utilisés en aviculture **(Thinhinane L.2015)** 41
Tableau 2: Avantage, Inconvénient et indication des différentes voies d'administration des vaccins **.(Thinhinane L.2015)** 44

Partie Expérimentale

Tableau 3: Les vaccins utilisés (souche vaccinale, type de vaccin et mode d'administration). 52
Tableau 4: Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur ELISA. 61
Tableau 5: Caractéristiques des élevages étudiés 62
Tableau 6: Etude sérologique 64
Tableau 7: Etude sérologique d'IBD. 65
Tableau 8: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 IBD 66
Tableau 9:Effet de facteurs de risque pour IBD. 67

Liste des abréviations

Liste des abréviations

%: pour cent.

°C: Degré Celsius

µg : microgramme.

µl : microlitre.

A°: angstrom.

AC : Anti corps

ACM : Anti Corp Maternelle

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : Acide désoxyribonucléique Complémentaire

AOM : Anti Corp d'origine Maternelle

ARN :Acide Ribonucléique.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

BALT :Branchial-associated Lymphoid Tissue

BF : Bourse de Fabricius

C:Capsule

C° : degré Celsius.

CD4:Cluster de Différenciation4

CD8:Cluster de Différenciation8

CEF: chicken embryo fibroblast (fibroblast d'embryon de poulet)

CG:Centre Germinatif

CIVD : coagulation intravasculaire disséminée.

CV : coefficient de variation.

DO:Densité Optique

DOCN : densité optique des contrôles négative

DOCP : densité optique des contrôles positifs

E I S M V:Inter-etats des sciences et medicine vétérinaire

ELISA:Enzyme Linked Immonosordent Assay

g : gramme.

GALT :Tissu Lymphide de tube digestif des oiseaux(Gut Associated Lymphoid Tissue)

GH : Glande de Harder

H : heure.

HALT : Head-associated Lymphoid Tissue

IB : La bronchite infectieuse.

IBD : Infection Bursal Disease

IBDV : Infection bursal disease virus (virus de la bursite infectieuse).

IC :Intervaille de Confiance

IDG : immunodiffusion sur gélose

IgA :Immunoglobuline A

IgD :Immunoglobuline D

IgG :Immunoglobuline G

IgM :Immunoglobuline M

IgY : Immunoglobuline Y

IL2 ;Interleukine2

IL3:Interleukine3

IL4:Interleukine4

IL5:Interleukine5

IPNV :Infection Pancreatic Necrosis Virus

KDa: kilodelton.

LB :Lymphocyte B

LBRA : Biotechnologies liées à la Reproduction Animale.

Log : logarithme

M: mètre.

Min: minute.

Ml : millilitre.

MPO :Myéloperoxidase

MVA :Virus recombinant Vaccin

ND : La maladie de Newcastle.

NDV :Virus de la maladie de Newcastle

Nm : nanon métre

NO :Nerf Otique

NP :Protéine nucleocapsidique

ORF: open Reading frame (cadre de lecture ouverte).

P :Phosphoprotéine

PB:Puple Blanche

PH : potentiel hydrogéne.

PMN:Leucocyte Polymorphonucléaire

PR:Puple Rouge

RT-PCR:Reverse Transcription-Polymerase Chaine reaction

SN:Seroneutralisation Viral

SPF: specific pathogen free.

T° : température

TNF: Tumor Necrosis Factorvirulent)

VP : protéine de la capside virale.

vvIBDV : very virulent infection bursal disease virus (virus de la bursite infectieuse hyper

Introduction

Introduction

L’immunodépression est une pathologie particulière traduisant un affaiblissement du système immunitaire (système de défense de l’organisme) et constituant un facteur d’exposition á la fois d’une maladie et un facteur de risque .on parle également de déficit immunitaire **(Kevin, 2015).**

Parmi les maladies immunodépressive avarie figure La bursite infectieuse ou la maladie de Gumboro (IBD) est une maladie virale aiguë très contagieuse chez les jeunes poulets (âgés de 3 à 6 semaines), qui entraîne une mortalité ou une immunosuppression suite à l'endommagement de la bourse de Fabricius et en altérant la croissance des jeunes poulets causant des pertes économiques énormes dans les élevages aviaires. L'agent causal d’IBD est le virus de la bursite infectieuse (IBDV), appartenant à la famille des Birnaviridae . Les souches IBDV ont été classées en deux sérotypes distincts : pathogènes et non pathogènes **(Nadir ,Sacia , 2020).**

La présente étude a donc été menée dans le cadre d'une enquête séro-épidémiologique sur la maladie de Gumroro (IBD) qui sont fréquentes dans le terrain algérien en utilisant la méthode ELISA, ainsi pour évaluer les facteurs de risque liés à la maladie.

Notre travail comporte deux parties :

La première qui est bibliographique, s’articule autour de deux chapitres. Le premier présente la maladie de Gumboro , le second Immunité et méthode de lutte.

La seconde partie est consacrée à une étude expérimentale sur la maladie immunodépressive que nous avons recherchée à travers une enquête. Cette étude aborde successivement le matériel et les méthodes utilisées, les résultats obtenus et enfin la discussion

Partie Bibliographique

Chapitre I:

Généralité sur la maladie de Gumboro

Chapitre I: Généralité sur la maladie de Gumboro

I.1.Définition :

La maladie de Gumboro est une affection virale contagieuse due à la multiplication chez les oiseaux de l'espèce Gallus quasi exclusivement, d'un Birnavirus dans différents organes et surtout les organes lymphoïdes primaires, spécialement la bourse de Fabricius. La maladie de Gumboro existe classiquement sous deux formes :

Une forme aiguë (clinique), où la morbidité, la mortalité et les lésions macroscopiques sont dues à l'action directe du virus.

Une forme subclinique responsable d'une immunodépression que l'on rattache aux lésions induites par le virus sur la bourse de Fabricius.

Elle est aussi appelée Infectious Bursal Disease (IBD) ou Bursite Infectieuse **(sellam , 2001).**

I.2.Historique :

Découverte pour la première fois par Cosgrove (1962) dans l'État de Delaware aux États-Unis (village de Gumboro), la maladie de Gumboro a été décrite comme le syndrome néphrite-néphrose jusqu'au moment où l'agent étiologique de cette dernière a été identifié comme étant le virus de la bronchite infectieuse (IBV) **(Winterfield et Hitchner, 1962)**.

La maladie a été par la suite nommée «bursite infectieuse» ou encore «Maladie de Gumboro» en analogie aux atteintes de la bourse de Fabricius (BF) et du district où la maladie a été découverte pour la première fois **(Lasheret Davis, 1997).**



Figure 1:photo extraite du belletin technique avicole nobilis 1976 **(Daillo, 1987).**

I.3.Distribution

Le virus est largement répandu à travers le monde, mais on pensait qu'il était absent de la majorité des îles du Pacifique. Cependant, il a été signalé à Fidji, en Polynésie française, en Nouvelle-Calédonie, en Nouvelle-Zélande et à Vanuatu. Il a été isolé en Europe, en Amérique, en Asie et en Australie, pratiquant l'élevage avicole intensif.

Une souche extrêmement virulente, que l'on trouve en Asie du Sud-Est et qui est en train de se propager, inquiète tout particulièrement les éleveurs **(Saville, 1999).**

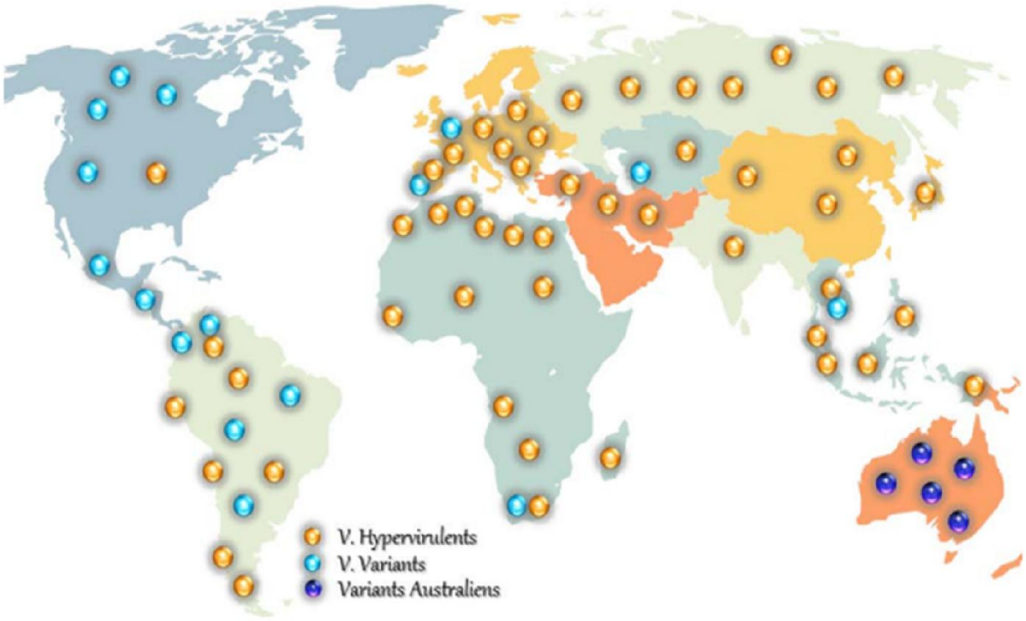


Figure 2: Distribution géographique des variants antigéniques et pathotypiques**(Amine, 2015**)

I.4.Importance de la maladie

La maladie de Gumboro a une importance à la fois économique et médicale.

-Au plan économique, les pertes proviennent des mauvaises performances enregistrées sur les bandes infectées mais aussi de la mortalité qui prend de plus en plus d'importance de nos jours (Jusqu'au 60%). Elle est même signalée comme l'une des maladies ayant le plus de répercussions économiques sur l'élevage de poules dans le monde **(L.S.I.: K.P.L, 1994)**.

-Au plan médical, il s'agit d'une maladie virale immunosuppressive: Elle est responsable de nombreux échecs vaccinaux et de l'apparition des maladies opportunistes **(Stewart-Brown *et al,* 1993).**

I.5.Etiologie

La bursite infectieuse est causée par un virus qui a été classifié dans la famille Diplornaviridae **(Harkness et al,1975).**

Certains auteurs l'ont classé dans la famille Reoviridae à cause de sa propriété cythopathique en culture cellulaire **(Lukert et al, 1974).**

Finalement grâce à une caractérisation génomique le virus a été identifié comme un virus appartenant à la famille Birnaviridae et au genre birnavirus **(Dobosp et al, 1979).** L'IBDV a été par la suite classé dans le genre Avibirnavirus **(pringle et al, 1999).**

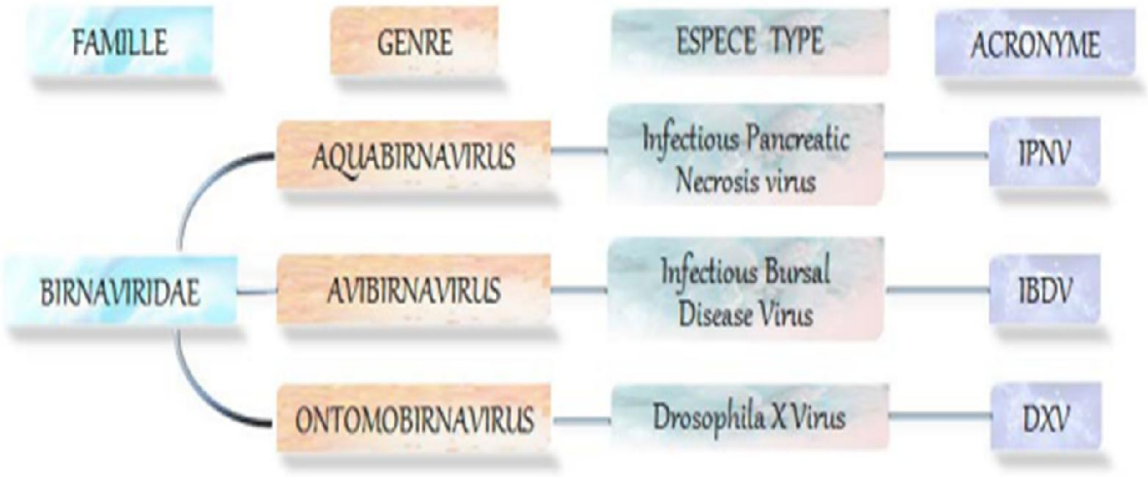


Figure 3:Taxonomie des Birnavirida**(Amine, 2015).**

L'IBDV est classifié en 2 sérotypes : le sérotype 1 et 2. Le poulet est réceptif et sensible au sérotype 1. Comme la dinde, il est seulement réceptif mais n'est pas sensible au sérotype 2 **(Ismail etal, 1988).**

Le sérotype 1 peut être divisé en 4 souches selon la virulence du virus ; une souche atténuée, une souche classique, une variante antigénique et une souche très virulente (vvIBDV) **(Wei et al, 2006).**

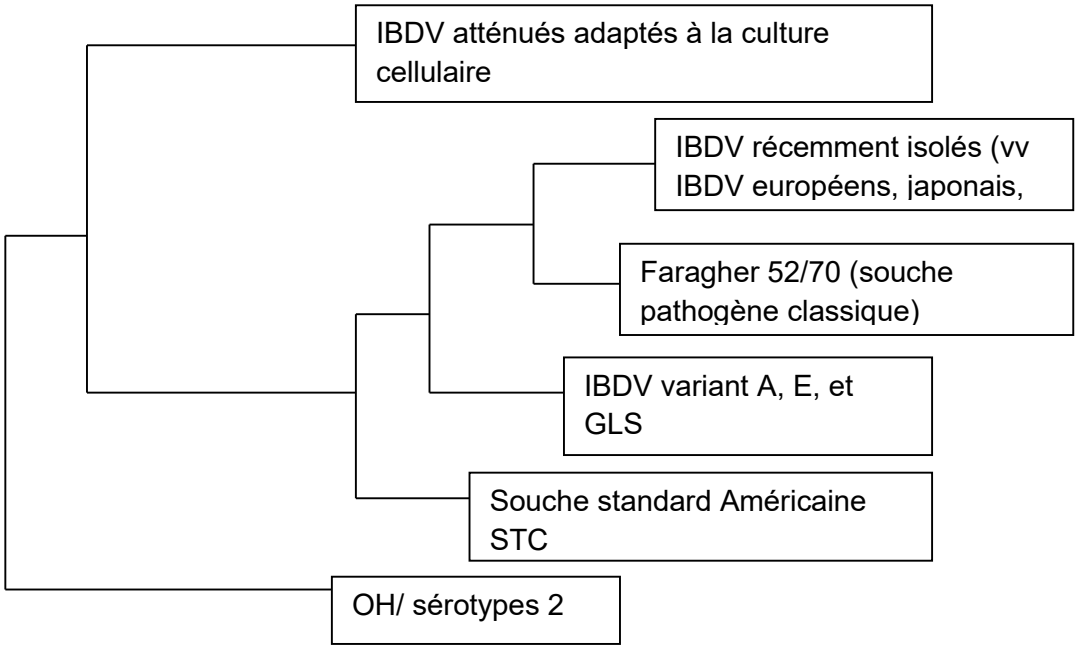


Figure 4: Représentation schématique des relations génétiques des souches de l'IBDV.

(Au sein du sérotype 1, l 'analyse phylogénétique basée sur le domaine variable de VP2 montre que les]BD V récemment isolés en Europe et au Japon, parmi lesquels certaines souches sont des wIBDV caractérisés par leur pouvoir pathogène, sont plus proches du virus pathogène classique 52/70 que ne le sont les virus américains. Les variants américains A. E et GLS constituent 11n gro11pe génétiq11e distinct, de même q11e les virus atténués adaptés à la culture cellulaire **(Etienne, 2002).**

On rencontre aussi une variation du pouvoir pathogène :

- ✓ les souches non virulentes se multiplient dans les zones inter folliculaires de la bourse de Fabricius ;
- ✓ Les souches virulentes se multiplient dans les follicules **(Guérin et al, 2011).**

I.5.1. Caractéristique du virus

I.5.1.1.Acide nucléique

IBDV est un virus à ARN double brin bisegmenté **(Müller et al, 1979 ; Hudson et al,1986).** C'est un virus non-enveloppé à capside avec une symétrie icosaédrique possédant un diamètre de 58 à 60 nm **(Dobos et al, 1979).** Le génome de l'IBDV comporte 2 segments ; le segment A d'une taille de 3300 pb et le segment B d'une taille de 2900 pb **(Kibenge et al,**

1988). Sur le segment A, existe 2 cadres de lecture ouvertes ou ORFs (Open Reading Frames) d'une taille de 3039 pb et de 438 pb **(Rudd et al, 2002).**

Le premier ORF code pour une protéine d'une taille de 17 KDa. Cette protéine s'appelle VP5 et elle est responsable de la pathogénicité du virus (**Mundt et al, 1995).** L'autre ORF code pour une protéine d'une taille de 109 kDa. Cette protéine est par la suite clivée par autocatalyse de la protéase VP4 en VPX, VP3 et VP4. Par la suite VPX est clivée en VP2 **(Dobos et al, 1979 ; Müller et Becht, 1982**). Les protéines VP2 et VP3 forment les protéines structurales de la capside de l'IBDV. L'une des régions de VP2 est aussi responsable de l'induction de la neutralisation du virus par les anticorps ainsi que de la spécificité des sérotypes, tandis que VP4 est responsable de la maturation protéolytique des polyprotéines **(Hudson et al,1986).**

Le segment B quant à lui comporte un troisième ORF qui code pour la protéine VP1 d'une taille de 95 kDa. Cette protéine a une activité enzymatique dépendante de l'ARN polymérase. La protéine VP1 est responsable de la réplication du génome ainsi que de la synthèse de l'ARNm (**Bruenn, 1991).**

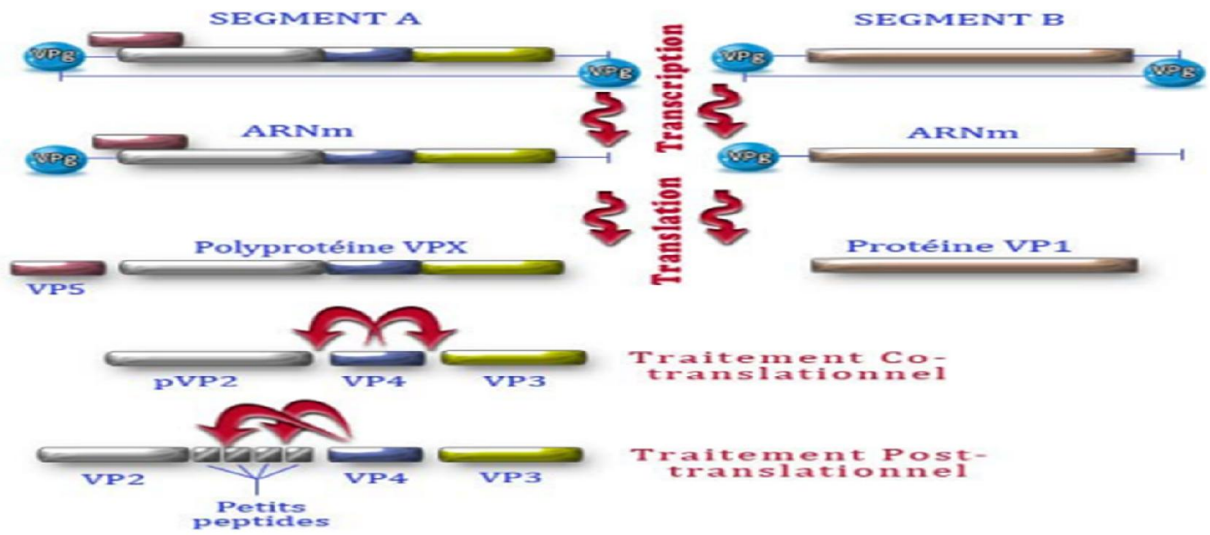


Figure 5: Organisation schématique du génome de l'IBDV **(Fauquet et al, 2005).**

I.5.1.2.morphologie et structure

Il a été démontré que les particules virales du virus de la maladie de Gumboro, formées par des protéines VP2 et VP3, présentent une symétrie icosaédrique de triangulation T=13, avec un diamètre d'environ 700A°. Cette structure du virus est déterminée par cristallographie à 7A° de résolution (**Uiversite cheikh anta diop de dakar : ecole inter-etats des sciences et medecine veterinaires (E.I.S.M.V.)**.

Le phénotype de virulence accrue est déterminé par la protéine majeure de capside VP2. Cette protéine constitue d'une part le moteur de la morphogenèse par ses capacités d'auto-assemblage et d'autre par un déterminant du tropisme du virus par son interaction avec des récepteurs cellulaires.

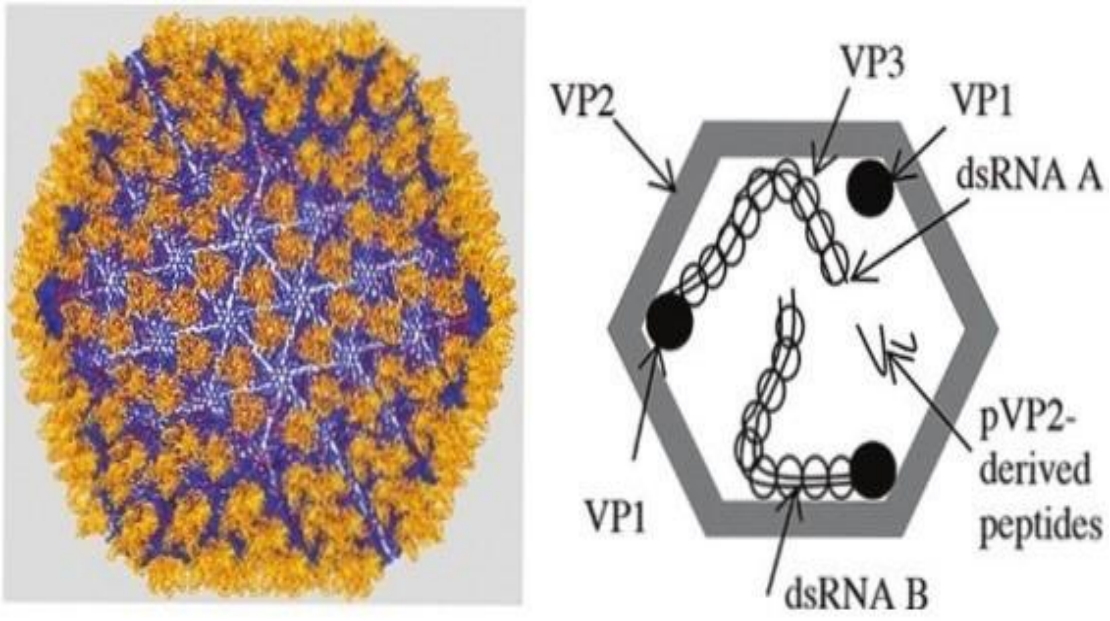


Figure 6: Organisation schématique de la Structurede l'IBDV**(Alamy).**

I.5.1.3.Propriétés physico- chimiques

A- action des agents physiques et chimiques

Le virus de la bursite infectieuse est très résistant (3 et 4) aux agents chimiques et physiques (il persiste au moins 4 mois dans l'environnement).

- ✓ Résistance aux agents physiques :

Il résiste à un pH compris entre 2 et 12 et à une température de 56°C pendant 5 heures. Il est tué à 70°C en 30 min

- ✓ Résistance aux agents chimiques :

Il résiste à beaucoup de désinfectants usuels. Un temps de contact de 60 min est nécessaire pour assurer une inactivation correcte avec les différents désinfectants. Par exemple, le Formol est actif à 20°C en l'absence de matière organique mais à 4°C son activité est fortement diminuée **(sellam, 2001).**

B-Action des enzymes

La trypsine ne modifie pas le titre viral pendant 30 minutes à 37 c° **(Meulemans et al, 1974).**

I.5.1.4.Propriétés biologiques

A.culture

- ✓ **Animaux de laboratoire**

La culture de virus IBD est impossible sur les animaux habituels de laboratoire (souris, lapin).

Les poulets inoculés avec le virus IBD présentent les lésions spécifiques 3 jours après inoculation **(OIE manuel, 2008).**

- ✓ **Œufs embryonnées**

L'inoculation se fait sur la membrane chorion-allantoïdienne d'embryon de poulet de 9 à 11 jours, cette inoculation provoque la mort des embryons.Chez les embryons morts 48h après inoculation, la maladie de gumboro provoque des œdèmes sous cutanés, des congestions et hémorragies, les foies des embryons sont hypertrophiés et congestionnés un aspect moucheté **(OIE manuel, 2008).**

Chez les embryons morts plus beaucoup plus tar, les foies peuvent être gonflés et verdâtres avec des zones de nécrose, les rates sont hypertrophiés et congestionnés avec un aspect moucheté **(OIE manuel , 2008).**

- ✓ **Culture cellulaire**

Le virus a été adapté à se multiplier et à produire un effet cytopathogene en culture cellulaire primaire de cellules lymphoïde de bourses de poulets, de reins d'embryons de poulets et sur cellules de fibroblastes d'embryons de poulets (CEF) **.**

Ce virus adapté aux cultures cellulaires, se développe également sur plusieurs lignées cellulaires continues de mammifères telles que les cellules RK-13 **(Lukert et al, 1974).**

B.Effet cytopathogene

L'inoculation de virus IBD sur les cellules de fibroblaste d'embryon de poulet, provoque l'apparition d'un effet cytopathogene que se traduit par petites cellules rondes réfrigérantes disséminés sur toute la culture cellulaire **(Meulemans et al, 1974).**

Cet effet cytopathogene est généralement observé 3 à 6 jours et ceci en fonction du titre initial de l'inoculum.

- ✓ **Espèce atteintes**

Seule l'espèce poule (Gallus gailus) développe la bursite infectieuse après infection par les virus de sérotypes 1. la dinde (meleagris gallopavo) héberge de façon asymptomatique le sérotype 2 et parfois des virus de sérotype1 au pouvoir pathogène mal caractérisé pour les dindes. Le canard pékin (cairina moschata) héberge de façon asymptomatique des virus de sérotype I.

Des anticorps anti-IBDV ont été détectés chez la pintade (numida meleagris), le faisan de Colchide (phasianus colchicus) et l'autruche (struthio camelus), qui héberge des virus de sérotype II **(Van den et al, 2000).**

I.5.2.Le Cycle Virale (IBDV)

Les informations concernant la réplication des virus à ARN double brin sont applicables aux birnavirus. Par ailleurs, la plus part des informations disponibles concernent la réplication de l'IPNV, le plus représentatif des birnavirus. Trois formes d'ARN viral ont été décrites durant le cycle de réplication de ce virus: Les intermédiaires de réplication, produits à une étapeprécoce du cycle viral, l'ARN simple brin (ssRNA: simple stranded RNA), supposé être l'ARN messager et enfin, l'ARN double brin (dsRNA: double stranded RNA) que l'on ne peut distinguer de l'ARN du virion par centrifugation ni par électrophorèse **(Amine, 2015).**

Le cycle de multiplication du virus débute par l'attachement à la cellule cible, viennent ensuite les étapes de pénétration et de réplication du génome viral et sa transcription en ARNm(ARN messager), eux-mêmes traduits en protéines virales. L'assemblage des copies du génome et des protéines virales donne enfin naissance aux virions qui finissent par quitter la cellule pour aller infecter d'autres cellules et débuter un autre cycle de vie. Le cycle de

multiplication de l'IDBV est un cycle productif qui se solde par la mort de la cellule infectée (cycle lytique)

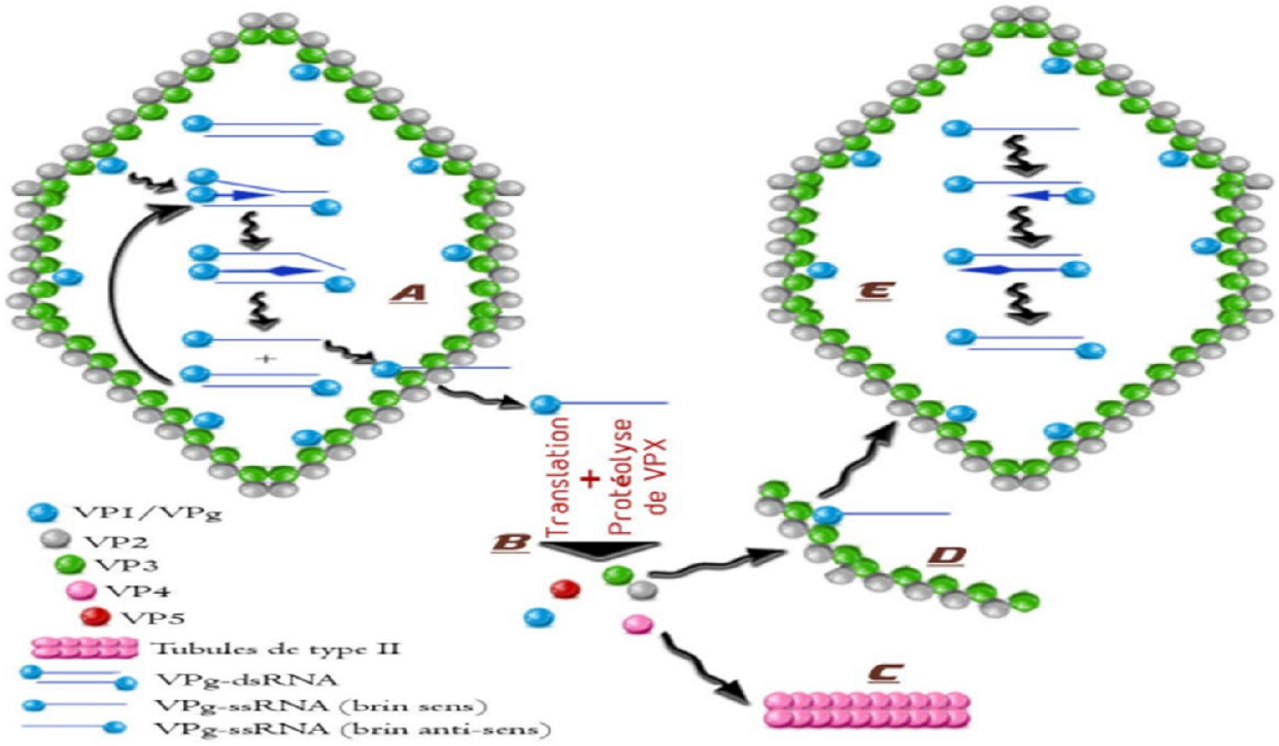


Figure 7: Représentation schématique du mécanisme de la réplication de l'IBDV

.A) Sans décapsidation, VP1 amorce la synthèse du brin anti-sens grâce à une réplication semi-conservative par déplacement de brins**. B)** Translation des ARNms et protéolyse de la polyprotéine.**C)** Formation des tubules de type II (VP4).**D)** Assemblage des protéines de la capside et maturation virale**.E)** A l'intérieur de la capside néoformée, l'ARN simple brin (VPg-ssRNA) sert de modèle pour lasynthèse de l'ARN double brins (VPg-dsRNA) **(Amine, 2015).**

I.6.Pathologie

L'IBDV peut atteindre la BF très rapidement après infection. Aussitôt après sa pénétration dans l'organisme hôte, l'IBDV doit traverser la barrière muqueuse pour aller se distribuer aux différents sites de réplication primaire, notamment le tissu lymphoïde associé au tube digestif (GALT: Gut Associated Lympoïde Tissue)

Dans le cas d'une infection orale, les antigènes viraux sont retrouvés, 4 heures après, dans les macrophages et les lymphocytes du caecum et 5 heures après, dans les cellules lymphoïdes du duodénum et du jéjunum. Les macrophages associés au tube digestif transportent le virus dans la circulation sanguine occasionnant une virémie primaire qui permet au virus d'atteindre

le foie, les reins et la BF où l'essentielle de la réplication virale a lieu. Il s'en suit alors une seconde et massive virémie qui permet au virus de se distribuer aux autres tissus et organes lymphoïdes dont le thymus, la rate, les glandes caecales et la moelle osseuse. **(Amine, 2015).**

Chez les poussins SPF expérimentalement inoculés, le virus persiste dans la BF jusqu'à 3 semaines. La présence d'AOM (Ac d'Origine Maternelle) écourte le séjour du virus dans la BF **.** L'IBDV se multiplie de manière productive et lytique dans les cellules B IgM+ en pleine division et différentiation sans qu'il y ait une baisse du niveau des Ac circulants . Il se multiplie aussi, mais de manière productive et persistante dans la lignée monocytes_macrophages. Il a été suggéré que ces cellules pourraient jouer un rôle dans la dissémination du virus **.** L'incapacité des virus du sérotype 2 à utiliser cette lignée de cellules ,pour sa distribution dans l'organisme du poulet, explique en partie leur caractère apathogène **(Amine, 2015).**

Le mécanisme pathologique conduisant à la mort des poulets infectés n'est pas encore clair, mais ne semble pas en rapport avec la sévérité des lésions de la BF. Les macrophages pourraient participer à l'exacerbation de l'infection en libérant des cytokines à activité inflammatoire tels que le TNF (Tumor Necrosis Factor) et l'interleukine 6, occasionnant ainsi un choc septique qui pourrait expliquer les épisodes cliniques de la maladie chez la poulette au-delà de l'âge de 12-14 semaines au moment où la BF est complétement involuée **(Amine, 2015).**

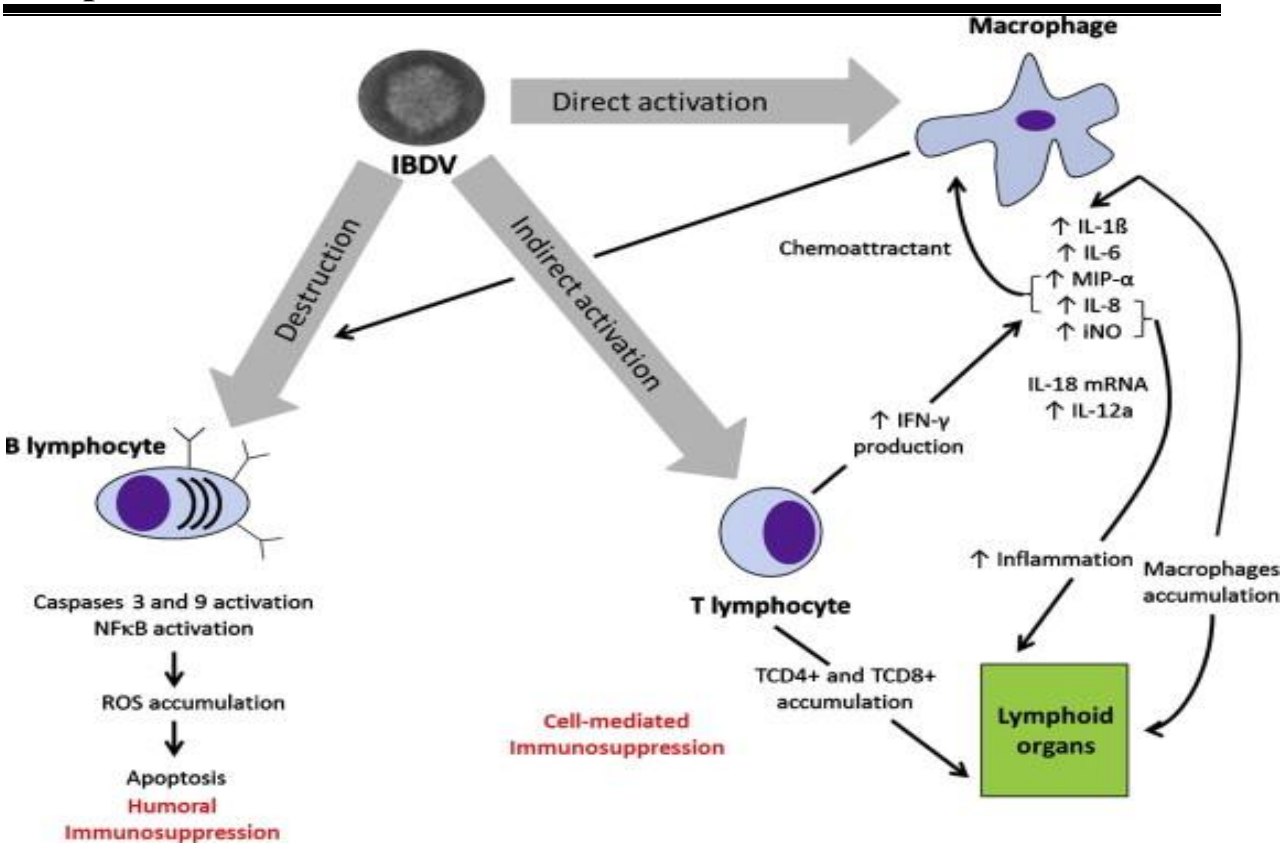


Figure 8:Mécanisme pathologique de l'IBDV faisant intervenir les cellules T et les Macrophage.L'activation directe (infection persistante par l'IBDV) ou indirecte (par l'IFN gamma issu des cellules T viro-induites) des macrophages aboutit à la sécrétion des médiateurs apoptotiques (TNF ou NO) **(Sanjiv Kumar, 2020).**

Les cellules CD4 et CD8 pourraient aussi participer au mécanisme pathologique en synthétisant l'interféron qui stimule l'activité des macrophages . De plus, les cellules infectées, exprimant à leur surface les antigènes viraux, constituentune cible potentielle pour l'action cytotoxique des cellules T8. On pense également que les cellules T viro-induits stimulent, probablement par l'intermédiaire des cytokines, la synthèse par les macrophages de l'oxyde nitrique qui peut alors promouvoir la destruction cellulaire **(Amine, 2015).**

Les lésions qui résultent de la multiplication intensive du virus dans les cellules cibles, sont le résultat d'un effet pathogène direct mais aussi la conséquence du dépôt de complexes immuns notamment dans les glomérules rénaux . Les lésions histologiques au niveau de la BF ressemblent à une réaction d'Arthus, où les complexes Antigène Ac-Complément induisent des facteurs chémotactiques à l'origine d'hémorragie et d'infiltration leucocytaire **.**

L'augmentation des niveaux du complément au cours de l'âge est associée à une plus grande sévérité des lésions chez les poussins plus âgés . Certains auteurs incriminent un plus faible taux de certains facteurs de coagulation dans les hémorragies constatées au niveau de la BF et dans certains tissus musculaires **(Amine, 2015).**

La BF dont les cellules B en différentiation constituent la première cible du virus, n'est pas indispensable pour l'établissement de l'infection mais semble l'être pour la manifestation clinique de la maladie . La pathogénicité des souches d'IBDV semble bien corréler avec la distribution des antigènes viraux au niveau des structures lymphoïdes "non-bursales" . C'est ainsi que les lésions causées par les virus hypervirulents au niveau du thymus, la rate et les glandes caecales sont plus sévères que celles causées par les virus virulents classiques ,alors que les lésions causées par les 2 pathotypes au niveau de la BF restent similaires **(Amine, 2015).**

Quant aux lésions causées par les virus variants, elles sont moins sévères avec un minimum d'inflammation et une rapide atrophie de la BF **.** Cette différence dans la pathogénicité des virus variants par rapport à ceux des virus classiques s'expliquerait par le fait que l'effet cytopathologique induit par les virus variants est obtenu essentiellement par un mécanisme d'apoptose **(Amine, 2015).**

Les phénomènes de nécrose et d'apoptose expliquent l'essentiel de la déplétion des follicules lymphoïdes dans la BF. Ces deux phénomènes ne devraient pas être confondus du moment que chacun représente une série d'événements totalement indépendants quoiqu'avec certains chevauchements. La nécrose résulte de dommages physiques, elle n'est d'aucune façon génétiquement contrôlée et est caractérisée par une destruction des organelles cytoplasmiques et une perte de l'intégrité de la membrane plasmique. L'apoptose est quant à elle une réponse cellulaire, génétiquement prédéterminée, à un environnement de stimuli spécifiques. Elle est associée à une condensation de la chromatine, à des fractures de l'ADN et se distingue de la nécrose par l'absence de phénomène inflammatoire **(Amine, 2015).**

I.7.Conséquences physiopathologiques

Les conséquences physiopathologiques de l'infection sont nombreuses. Il s'agit entre autres de :

- ✓ la diarrhée entraînant des déshydratations,
- ✓ la libération de thromboplastine (coagulation intra vasculaire disséminée),

- ✓ les dépôts d'immuns- complexes au niveau de la paroi vasculaire,
- ✓ les hémorragies musculaires et les lésions rénales **(Moustapha, 2004).**

I.8.Immunodépression

La bourse de Fabricius est l'organe cible de l'IBDV. Le virus détruit les lymphocytes B qui se développent dans la bourse de Fabricius ce qui entraîne la diminution du pool de lymphocyte B circula**.**

Cela se traduit par une suppression de la réponse immunitaire de type humorale. Cette diminution de l'immunité humorale a 2 conséquences :

- ✓ Une mauvaise prise vaccinale
- ✓ Une plus grande sensibilité des troupeaux à de nombreuses affections telles que la coccidiose, la colibacillose, salmonellose ou la Bronchite Infectieuse **(Sellam, 2001).**

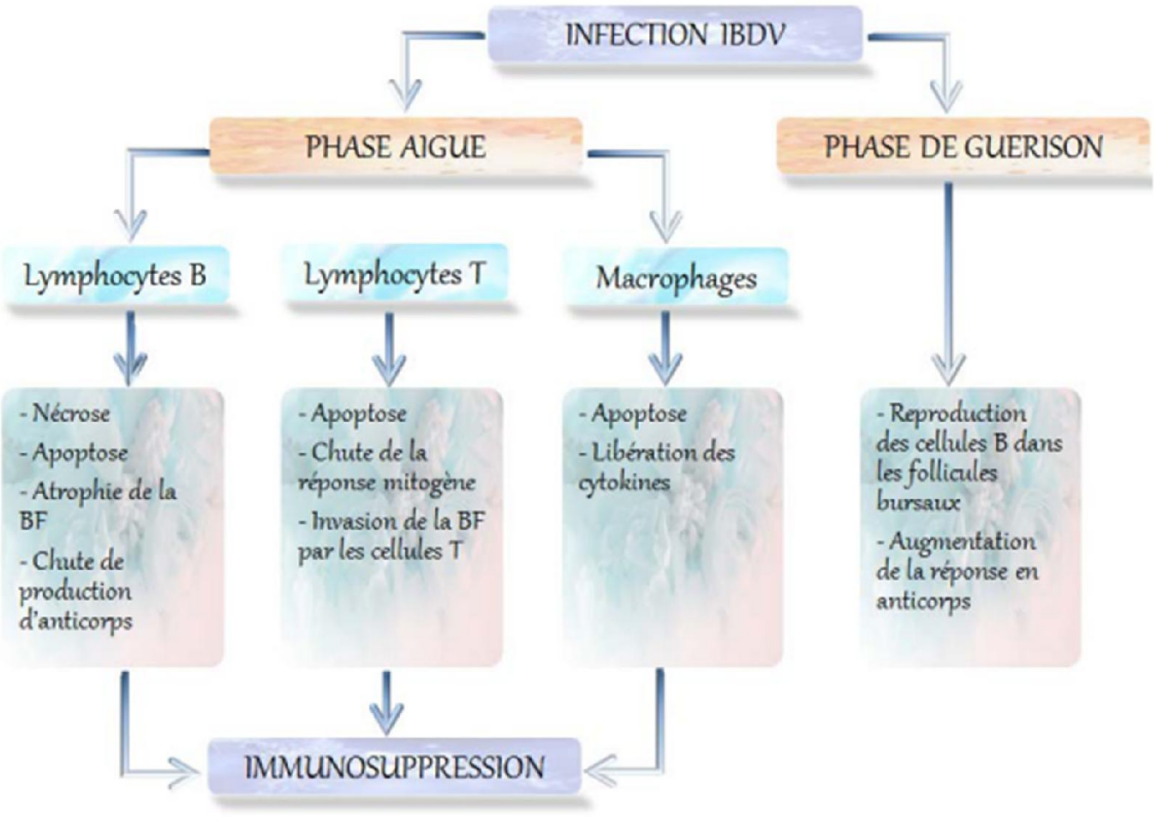


Figure 9: Pathogénie de l'immunosuppression IBDV-induite (**Amine, 2015).**

I.9.Symptômes

On distingue classiquement 3 expressions de la maladie :

I.9.1.Une forme immunosuppressive

Essentiellement décrite aux Etats-Unis d'Amérique,elle concerne les poussins de moins de 3 semaines, peu ou pas protégés par les anticorps d'origine maternelle. Cette forme de ne se traduit pas par une mortalité aiguë, mais fait le lit de surinfections souvent ravageuses. Cette forme n'existe quasiment pas dans les pays industrialisés, du fait de la vaccination systématique des reproducteurs **(Guérin et al, 2008)** et se traduit par :

- ✓ Retard de croissance
- ✓ Immunosuppression
- ✓ Echecs vaccinaux
- ✓ Atrophie de la bourse
- ✓ Prédisposition à d'autres infections animales **(Guérin et al, 2008)**.

I.9.2.Forme classique ou subclinique

Décrite depuis les années 1960 et observée surtout chez les animaux de plus de 6 semaines d'âge. La mortalité spécifique est relativement faible et la maladie est surtout subclinique après la chute des anticorps passifs.

Une infection en jeune âge entraîne une immunodépression sans les signes caractéristiques de la forme clinique : suivi plus tard d'infections secondaires diverses **(Guérin et al, 2008).** Cette forme apparaît après l'épuisement des anticorps maternels (AcM) provoquée par un virus moins virulent. Elle se caractérise par :

- ✓ Une déshydratation
- ✓ Une Hémorragie (surtout au niveau des muscles pectoraux et des membres).
- ✓ Une Hypertrophie puis atrophie de la bourse de Fabricius remplie d'une contenue caséeuse en fin de phase de la maladie.



Figure 10: hémorragie musculaire Au niveau de cuise **(Isable et al**,)(adroit)

Figure 11: Enflure de la bourse de Fabricius chez l'animal récemment atteint**(Saville, 1999)** (gauche).

I.9.3.Forme aigue ou clinique

Cette forme a été d'abord décrite en Europe puis en Asie, elle est due aux souches hypervirulentes et observée surtout chez les animaux âgés entre 3 et 6 semaines. Elle se traduit premièrement par une mortalité élevée dans les élevages atteint, accompagné par la suite par :

- ✓ un abattement et une prostration généralisée,
- ✓ une anorexie (la consommation d'aliment est divisée par 2)
- ✓ une diarrhée blanchâtre aqueuse ou avec du mucus.
- ✓ Une litière très collante au niveau des plumes de l'anus souillées associé à des

Fientes diarrhéiques aqueuses.

- ✓ Des caillots de sang peuvent être parfois présents dans les excréments.
- ✓ Une mortalité élevée (50 à 100%), cloaque souillé et irrité accompagné d'une soif intense Avec une démarche chancelante et la tête baissée.

La mortalité débute aux 3èmes jours de l'infection, atteint un pic, puis diminue rapidement et les poulets survivants retrouvent un bon état général après cinq à sept jours **(lukert et al, 1974).**

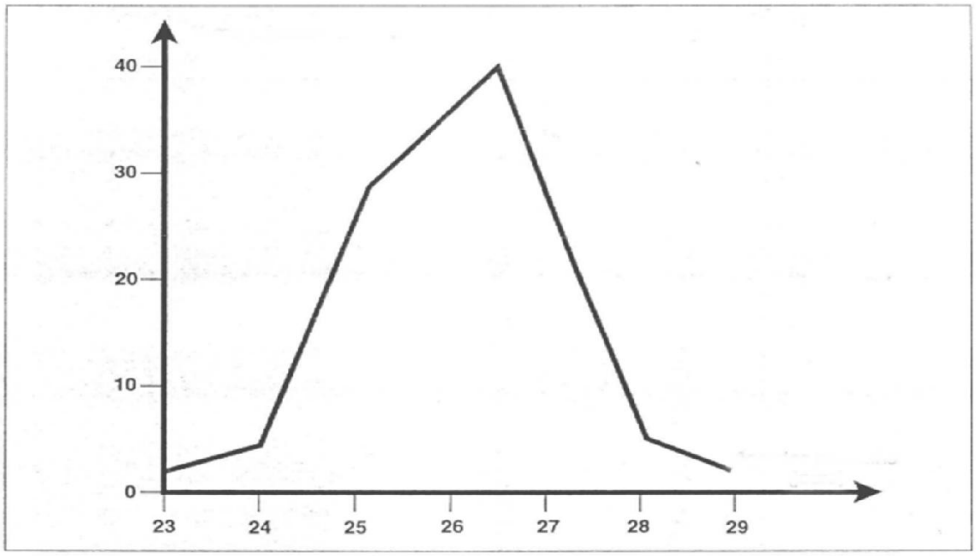


Figure 12: Courbe caractéristique de mortalité de la forme aiguë de la maladie de Gumboro (% morts/pertes totales**) (Etienne, 2002).**

Il faut noter aussi qu'une primo infection peut aussi être muette au niveau des exploitations si la souche virale est peu pathogène ou lors d'infection en présence d'AcM.

I.10.Lésions

I.10.1.Lésions macroscopiques

I.10.1.1.Lésions non spécifiques :

- ✓ les animaux morts sont déshydratés et leur carcasse de coloration très foncée avec parfois des tâches hémorragiques au milieu des masses musculaires (bréchet et face interne de la cuisse) ;
- ✓ le jabot toujours vide en absence de la prise alimentaire ;
- ✓ les plages hémorragiques à la jonction pro ventricule-gésier ;
- ✓ une hémorragie à la base du cœur
- ✓ les reins souvent hypertrophiés avec des tubules en saillie sont gris pâles à bruns.
- ✓ des lésions bénignes et transitoires au niveau du thymus et de la rate. **(Vindevogel, 1992).**

I.10.1.2.Lésions spécifiques : Elles sont localisées dans la bourse de Fabricius et la rate ; ces lésion Sont pathognomoniques :



- ✓ une hypertrophie d'abord puis atrophie ou

Bien atrophie directement de la bourse de Fabricius.

Figure 13: Photo de la Bourse de Fabricius normale (gauche) el 3 jours après l'infection. **(Thinhinane L, 2015) .**



Figure 14:photo extraite du belleti technique avicole nobilis 1976**(Guérin et al, 2011).**

- ✓ la rate est hypertrophiée, avec des tâches rouges ou parfois atrophiée.
- ✓ à la coupe, les feuil1ets internes sont congestionnés, parfois hémorragiques ou recouverts par une substance gélatineuse ou caséeuse **(Vindevogel, 1992).**

I.10.2.Lésions microscopiques

I.10.2.1.Au microscope optique :

Forme grave :

- ✓ la rate est congestionnée

- ✓la zone centra-folliculaire du tissu lymphoïde est infiltrée par des hétérophiles et une substance amorphe ;
- ✓les reins présentent un œdème interstitiel, une atrophie glomérulaire et une fragmentation ou une desquamation épithéliale des tubules ;
- ✓la bourse de Fabricius présente une nécrose des lobules lymphoïdes ;
- ✓ une inflammation aiguë exsudative de l'intestin.

En cas d'atteinte partielle, il y'a un repeuplement des LB à partir du 6èrnc jour.

- ✓un appauvrissement de la glande Harder en plasmocytes **(Vindevogel, 1992).**

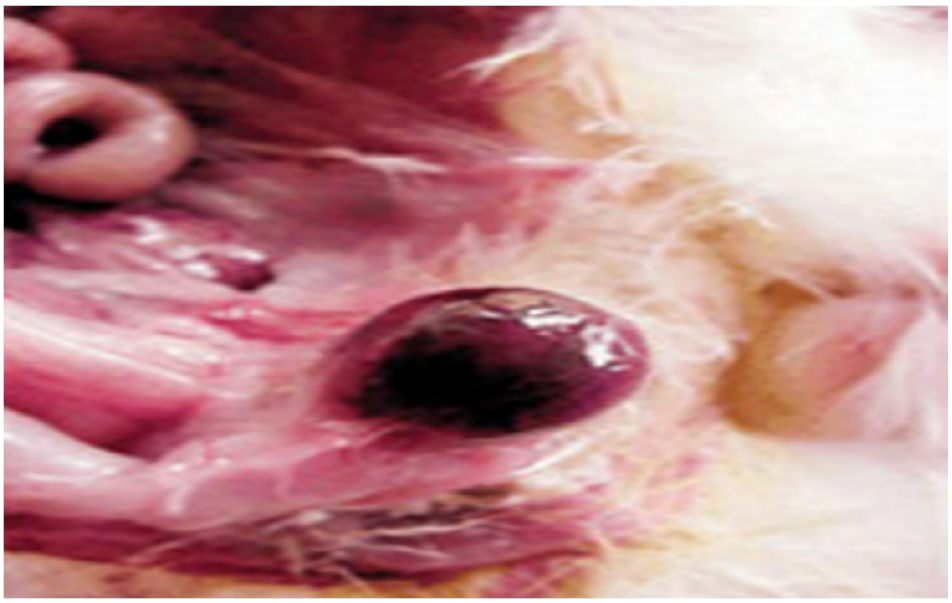


Figure 15:bourse très congestionnée et atrophiée**(AVIA, 2013).**

I.10.2.2.Au microscope électronique : On observe des particules virales disposées en position para cristalline et entourées par une membrane dans le cytoplasme des cellules infectées et des débris cellulaire **(Vindevogel, 1992).**

I.11.Epidimologie

I.11.1.Espèces

La maladie se rencontre surtout dans le genre Gallus. On l'a décrite chez lefaisan. Lecanard et le dindon développent des infection (des formes subclinique) inapparentes et peuvent être considérés comme porteurs sains du virus. Leur importance épidémiologique réelle est cependant très mal connue **(Guérin et al, 2011).**

I.11.2.L'Âge

La maladie de Gumboro est dite «maladie aux deux visages »,car d'expressionclinique différente selon l'âge auquel survient l'infection :

durant les deux premières semaines de vie, l'infection précoce provoque une immunosuppression sévère ;de 3 à 6 semaines, âge de la plus grande sensibilité au virus, apparaissent les formes cliniques de la bursite infectieuse.

Les variations de sensibilité individuelle sont liées aux résidus d'immunité passive (persistance des anticorps maternels) **(Guérin et al, 2011).**

I.11.3.Milieu

Tout ce qui favorise la dissémination et la pérennité du virus accroît le risque ainsi que tous les facteurs de stress. Vouloir les éviter revient à imposer une prophylaxie sanitaire rigoureuse, difficile et souvent illusoire **(Guérin et al, 2011).**

I.11.4.Transmission du virus de la maladie de Gumboro

La contamination se fait par voie orale, de façon :

- ✓ directe (d'animal à animal) ;
- ✓ ou indirecte, par tous les vecteurs passifs possibles contaminés par les fientes

l'excrétion virale persiste 2 semaines après la contamination et tous les animaux peuvent être porteurs. On a retrouvé le virus chez les moustiques...

IL n'y a pas de transmission par l'œuf **(Guérin et al , 2011).**

I.12.Diagnostic

I.12.1.Diagnostic épidémio-clinique

Le diagnostic clinique est basé surl'évolution de la maladie (mortalité en pic puis guérison clinique après 5 a 7 jours) et les lésions caractéristique de la BF lors de l'autopsie des poussins. L'infection de poussin porteur d'anticorps maternels est souvent subclinique. Le diagnostic peut alors être posé sur base de l'atrophie de la BF et la présence de lésions histologiques dans cet organe **(Ahmad et Said , 2017).**

I.12.2.Diagnostic différentiel

I.12.2.1. Maladies à symptômes apparentés

Il faut en effet distinguer la maladie de Gumboro des symptômes toxiques qui certes apparaissent brutalement mais peuvent entrainer jusqu'à 100% de mortalité et dans tous les cas, ils ne provoquent pas de lésions caractéristiques.

Ainsi il faut faire la différence avec la coccidiose qui est responsable de la diarrhée et de mortalité brutale mais n'entraine jamais de lésions de bourse de Fabricius **(Ahmad et Said , 2017).**

I.12.2.2. Maladies à lésions semblables :

L'une des affections à ne pas confondre avec la maladie de Gumboro est la maladie de Newcastle. Elle provoque des lésions hémorragiques et affecte tous les animaux quel que soit leur âge et persiste plus longtemps dans l'élevage avec des mortalités élevées (jusqu'à 100%). Elle provoque en outre, des signes nerveux et respiratoires qui n'apparaissent pas dans la maladie de Gumboro. Les hémorragies au niveau du proventricule sont situées sur les papilles sous forme de taches.

Du fait de l'atteinte rénale, il faut aussi écarter le syndrome néphrite néphrose qui s'accompagne de signes respiratoires et qui n'entraine aucune lésion de la bourse de Fabricius.

Cependant il y'a des affections comme l'avitaminose A, la leucose lymphoïde et la maladie de Marek qui peuvent entrainer des lésions de la bourse de Fabricius mais a l'histologie on s'aperçoit que dans l'avitaminose A, il s'agit d'une métaplasie épithéliale et dans la maladie de Marek et les leucoses, il s'agit de processus tumoraux. Si le doute persiste encore malgré toutes les investigations, on fait appel au diagnostic de l'laboratoire **(Ahmad et Said, 2017).**

I.12.3. Diagnostic expérimental

I.12.3.1. Virologie

L'isolement viral peut se faire par inoculation du virus sur œuf embryonné de 9 à 11 jours via la membrane chorioallantoïdienne ou sur culture cellulaire de fibroblaste, de rein ou de foie d'embryon de poulet **.** Pour l'isolement sur œuf embryonné, la mort de l'embryon survient 3 à 5 jours post-inoculation. Pour les cultures cellulaires, les effets cytopathogènes du virus sur les cellules peuvent être observés 5 jours après l'ensemencement et l'incubation du

virus à 37°C. Toutefois, des passages répétés du virus sur les cultures cellulaires sont nécessaires pour son adaptation afin de pouvoir observé des effets cytopathogènes sur les cellules **(Mamitiana, 2011).**

La confirmation de l'isolement et l'identification du virus peuvent se faire par utilisation de la technique d'immunofluorescence ou par lecture sur microscope électronique .
l'identification de l'IBDV peut se faire avec des techniques de biologie moléculaire, telle que la RT-PCR . Cette technique consiste à copier une région de l'ADN délimitée par des amorces à l'aide d'une enzyme (polymérase). L'ADN utilisé est préalablement transcrits à partir de l'ARN de IBDV grâce à une autre enzyme ; la transcriptase inverse. La phase de dénaturation survient et les 2 brins d'ADN sont dénaturés. Les amorces s'hybrident au niveau de la partie de l'ADN qui leur est complémentaire lors de la phase d'hybridation. La réaction en chaine se fait ensuite avec la présence d'une enzyme polymérase à la phase d'élongation. Chaque phase se fait en présence de différentes conditions de température **(Mamitiana, 2011).**

L'ensemble de ces 3 phases constitue un cycle. Cette technique peut comporter jusqu'à une trentaine à quarantaine de cycle et elle permet la détection et l'amplification de l'ARN de l'IBDV. Cette technique est la technique de référence pour le diagnostic de l'IBD car elle détecte IBDV au niveau génomique **(Mamitiana, 2011).**

I.12.3.2 .Diagnostic sérologique :

Les anticorps spécifiques anti IBDV peuvent être mis en évidence et titrés par :

A.Immunodiffusion en gélose (précipitation en milieu gélifie (IDG))

L'immunodiffusion en gélose est la technique la plus simple, mais la moins sensible. Les résultats sont obtenus après une incubation de 48 heures. La variabilité des résultats de cette technique peut être liée au manipulateur, ainsi qu'à la souche virale utilisée comme antigène (**Etienne, 2002)**

B.Séroneutralisation (SN)

La séroneutralisation présente l'inconvénient de nécessiter des installations lourdes et un délai de cinq jours pour l'incubation. Par contre, elle est beaucoup plus sensible que l'immunodiffusion en gélose et mieux corrélée au niveau de protection des sujets testés . Elle permet, de plus, de discerner les variations antigéniques entre les isolats. Les résultats varient

ainsi selon le virus de référence (notons que pour un sérotype donné, il y a plusieurs sous-types antigéniques).Les sérums du terrain présentent souvent des niveaux élevés d'anticorps neutralisants, résultant de la combinaison de l'exposition de terrain, l'exposition vaccinale, et les phénomènes de réactivité croisée à hauts titres d'anticorps **(Etienne, 2002).**

C.ELISA (immuno-enzymatique) .

L'ELISA sandwich ou ELISA par capture d'antigène peut être utilisée sur une suspension de broyat de BF (Cardoso et al., 1998). Cette technique utilise 2 anticorps avec une conjugaison à la peroxydase pour le deuxième anticorps. Cette technique a comme principe de piéger l'antigène à détecter entre 2 anticorps. La plaque à utiliser va être sensibilisée avec le premier anticorps. Puis l'échantillon contenant l'antigène est ajouté dans les cupules **(Mamitiana, 2011).**

Après un temps d'incubation et 3 à 4 lavages successifs de la plaque, le deuxième anticorps conjugué à 13 l'enzyme est ajouté. A la fin, le substrat contenant du peroxyde, de l'orthophenyldiamine (OPD) est ajouté. En présence d'antigène, la peroxydase de ce deuxième anticorps va être activée et va dégrader le peroxyde contenu au niveau du substrat. Cette réaction de dégradation conduit au changement de couleur de la solution contenant l'échantillon. La réaction est ensuite arrêtée avec du HCl. La densité optique (DO) de la couleur va par la suite être mesurée par spectrophotométrie. Le seuil moyen de la DO des échantillons contrôles vont déterminer la positivité des échantillons à tester. Cependant la plus couramment utilisée est l'ELISA indirect ou ELISA par capture d'anticorps (Howie et Thorsen, 1981) **(Mamitiana, 2011).**

Cette technique sert à détecter l'anticorps anti-IBDV au niveau du sérum et/ou du jaune d'œuf. Elle consiste à utiliser une plaque sensibilisée avec de l'IBDV. L'échantillon à tester est ajouté sur les cupules de la plaque. Puis un anticorps de chèvre ou de lapin anti-anticorps de poulet, conjugué avec de la peroxydase est ajouté suivi de l'ajout du substrat. La même réaction de dégradation du peroxyde se présente et la lecture de la DO se fera. Par la suite, cette DO sera convertie par un logiciel au niveau du lecteur de plaque pour donner le titre en anticorps équivalent **(Mamitiana, 2011).**

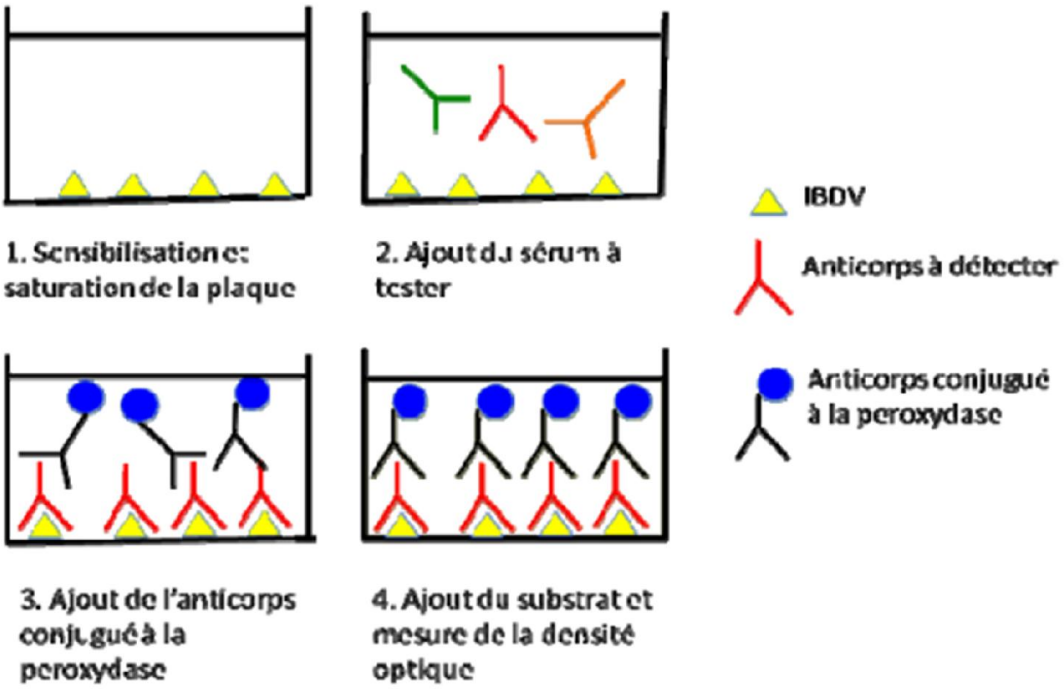


Figure 16:Principe de l'ELISA pour la détection de l'anticorps anti-IBDV**(Mamitiana, 2011).**

I.12.3.3 .Diagnostic Histologie

L'examen histologique de la bourse de Fabricius est un excellent moyen de diagnostic : un anatomopathologiste pourra assez facilement identifier les lésions spécifiques de déplétion lymphocytaire (photo17 et 18) **(Guérin et al, 2011).**

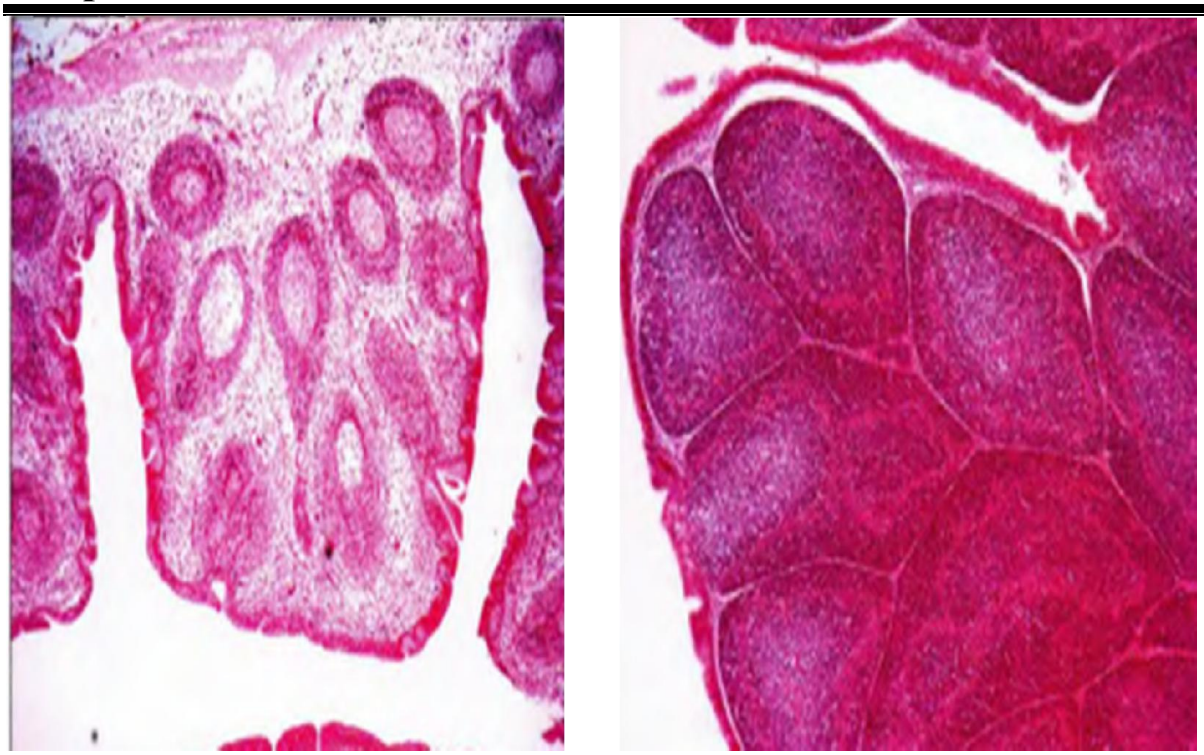


Figure 17: Coupe histologique d'une bourse de Fabricius normale d'un jeune poulet: les follicules bursiques sont uniformément peuplés de cellules lymphoïdes (majoritairement des lymphocytes)(A droit) **(Guérin et al, 2011).Figure 18**:Coupe histologique de la bourse de Fabricius d'un poulet en phase aiguë de la maladie de Gumboro :les follicules bursiques sont largement dépiétés en lymphocytes (pycnose lymphocytaire massive) et sont parfois kystiques ou atrophiés. La bursite est ici accompagnée d'un œdème diffus sévère (phase aiguë de l'infection)(A gauche) **(Guérin et al, 2011).**

Chapitre II :

Immunité et méthode de lutte

Immunité et méthode de lutte

II.1.Généralités :

L’ immunité peut être défini comme l'ensemble des mécanismes biologiques permettant à un organisme pluricellulaire de maintenir la cohérence de ses cellules et tissus et d'assurer son intégrité en éliminant ses propres constituants altérés et les substances étrangères auxquelles il est exposé.

La réponse immunitaire fait intervenir deux types de mécanismes qui sont d'apparitions successives au cours de l'évolution des espèces et sont intimement connectés chez les organismes supérieurs :

- ✓ l'immunité naturelle (ou immunité innée), qui repose sur une reconnaissance du soi et du non-soi. Elle est immédiate et non spécifique.
- ✓ l'immunité acquise, qui est adaptative et spécifique de l’antigène, qu’elle garde en mémoire. Ses mécanismes effecteurs se répartissent entre une réponse humorale et une réponse cellulaire. Le système immunitaire regroupe l’ensemble des moyens de défense de l’organisme contre les agressions extérieures. C’est un système diffus, complexe, qui n'a pas d'individualité anatomique stricte.

La fonction du système immunitaire est de protéger l'individu ou l'animal contre des organismes et des substances étrangères. Chez les espèces aviaires, le poulet fut amplement utilisé comme modèle d'étude pour le système immunitaire des oiseaux. Comme l'humain, ces animaux possèdent une immunité non spécifique représentée principalement par deux types de réponses soit la phagocytose et les réactions inflammatoires, ainsi que l'immunité spécifique qui comprend l'immunité cellulaire et humorale.

Plusieurs organes interagissent dans la réponse immunitaire chez les espèces aviaires. Nous retrouvons entre autres le thymus, la bourse de Fabricus, la rate, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse. Toutefois, les deux organes centraux de ce système sont la bourse de Fabricus et le thymus. Ceux-ci possèdent des organisations similaires. Les cellules germinales se différencient donc en cellules matures à l'intérieur de l'organe pour ensuite entrer dans la circulation et se retrouver dans les tissus lymphoïdes et dans l'ensemble du corps de l'animal.

Pour assurer la défense de l’organisme contre les infections ; le systèmeimmunitaire fait intervenir les trois caractères de la réponse immunitaire : lareconnaissance des antigènes comme corps étrangers, sa spécificité et sa facultéde mémorisation.

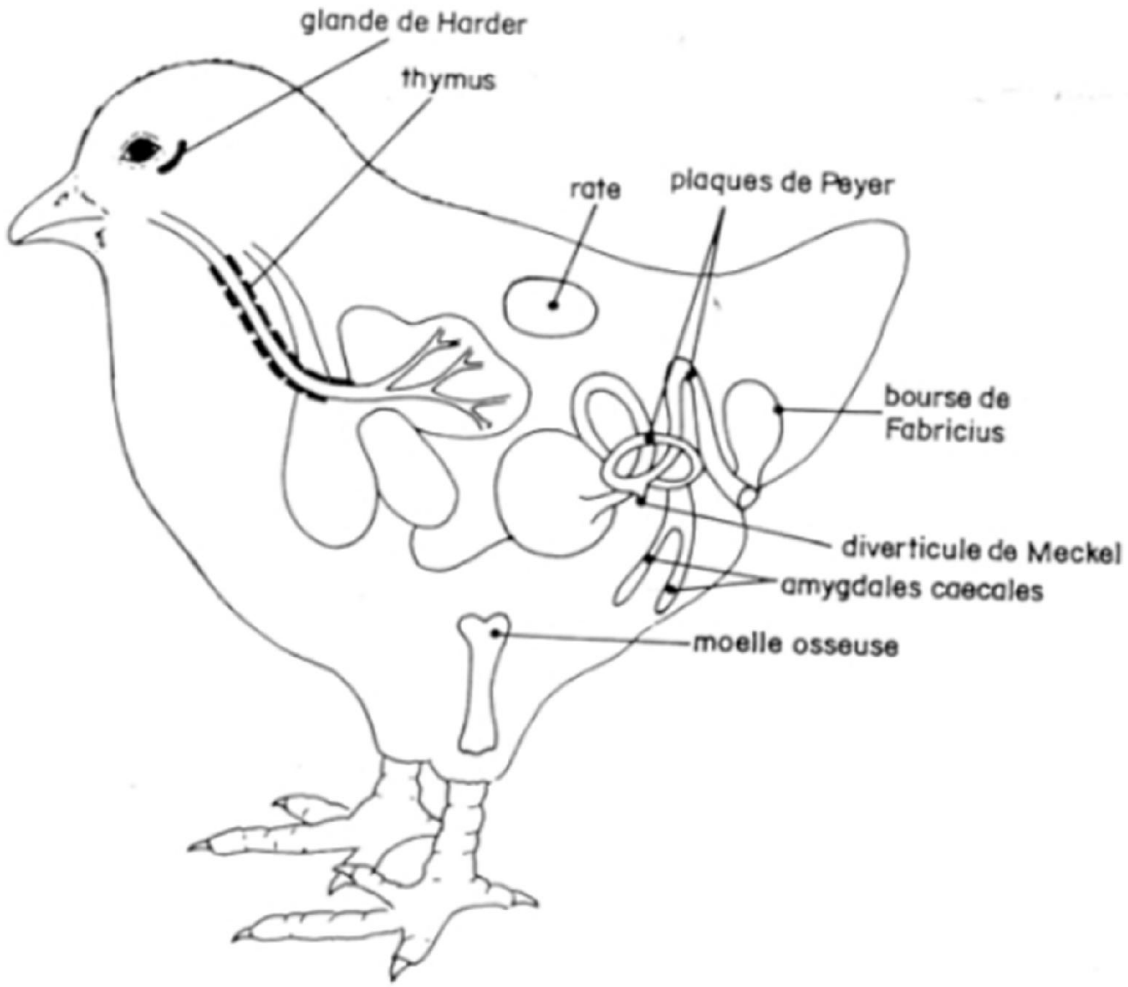


Figure 19: Distribution anatomique des organes lymphoïdes (**Pastoret P et al .1990).**

II.2.Les organes lymphoïdes

II.2.1. Les organes lymphoïdes primaires ou centraux : (thymus et bourse de FabriciusChez les mammifères, l'équivalent de la bourse de Fabricius est la moelle osseuse.))

Les organes lymphoïdes primaires participent à la formation initiale des lymphocytes pendant la vie embryonnaire et essentiellement à leurs différenciations en cellules T et B.

II.2.1.1. Thymus

Le thymus est le site de production des LT, responsables de l'immunité à médiation cellulaire. Il présent une structure allongée, d'une forme multi-lobulaire située le long des deux côtés de la trachée avec 8 lobes, chez les poulets, s'étendant jusqu'à la cavité de thorax . Chaque lobe est encapsulé dans un tissu conjonctif et divisé en lobules multiples. Chaque lobule est constitué d'un cortex où les lymphocytes sont très denses et une zone

médullaire avec moins de lymphocytes. Les cellules T qui arrivent dans le cortex sont doublement négative ($CD4^-CD8^-$) et quand elles migrent vers la jonction cortico-médullaire du thymus elles deviennent ainsi doublements positifs (**Amer, 2012)**.

Une fois qu'elles entrent dans la zone médullaire elles deviennent des cellules CD4 ou CD8.A l'éclosion, le thymus est essentiellement rempli de LT qui possèdent des récepteurs spécifiques d'antigènes nommés TCR (pour T-cell receptor). Quelle que cellules dendritiques et des macrophages sont également présentes, ainsi que certains LB qui migrent vers le thymus après l'éclosion (**Amer, 2012).**

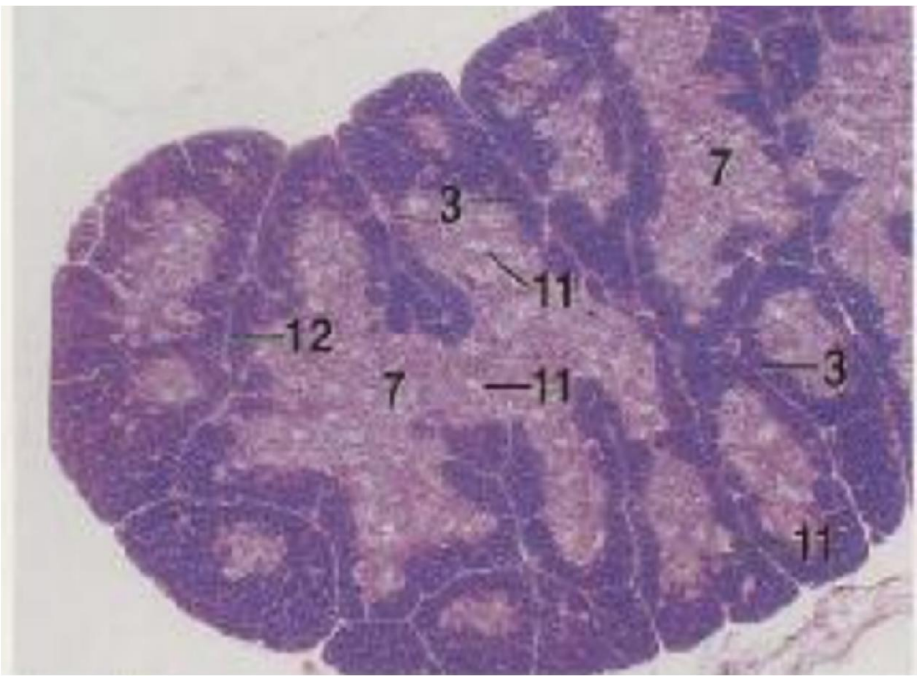


Figure 20: Structure histologique de thymus. x 12,5 **(Bacha et Bacha, 2000).**

3:Cortex, 7 : La médullaire .11 : Structure réticulaire 12 : Septum.

II.2.1.2.La Bourse de Fabricius

Chez les oiseaux, les LB se différencient et se développent dans la bourse de Fabricius (BF), d'où le terme de LB, alors que chez les mammifères ces cellules se développent dans la moelle osseuse. La bourse est une extension modifiée semblable au sac de la paroi dorsal du cloaque, formant un diverticule de couleur crème .Chez le poulet, la bourse est détectable autour du 5e jours d'incubation et devient fonctionnelle autour de 10e aux 12e jours d'incubation. Comme pour le thymus, les lymphocytes de la BF proviennent du sac vitellin et migrent par les vaisseaux sanguins (**Amer, 2012).**

La structure de la BF est composée de plis semblables aux villosités ou plicae, qui sont dirigés vers la lumière centrale.L'épithélium de l'intestin couvre la lumière de la bourse, mais il est pauvre en cellules muqueuses. Chaque bourse peut avoir entre 8000-12000 follicules lymphoïdes, qui sont intégrées dans le tissu conjonctif et entouré par les vaisseaux lymphatiques. Comme le thymus, les follicules de la bourse sont organisées en un cortex et une médullaire (**Amer, 2012).**

Chaque follicule est rempli avec des LB, et comme dans le thymus, les LB sont disposés dans le cortex périphérique et la medulla centrale. Outre les LB, la BF contient aussi des LT, des plasmocytes, des macrophages, des cellules dendritiques et des réticulocytes. La présence de LT et des plasmocytes montre bien que la bourse est un organe lymphoïde primaire qui peut aussi prendre au piège l'antigène et entreprendre une production limitée d'anticorps, probablement comme une mesure d'autodéfense(**Amer, 2012).**

La bourse produit quelques hormones dont la plus importante c'est la bursine, une tripeptide qui a un rôle régulateur dans le développement et la différenciation des LB. Chez le poulet, la bourse est bien développé à la naissance et atteint sa taille maximale autour de 4-12 semaines d'âge à partir duquel elle commence l'involution, cette dernière s'achève à la maturation sexuelle. Une bursectomie avant les 17 émé jours d'incubation induit une absence totale d'immunoglobulines (agammaglobulinémie), avec l'absence de centres germinatifs et des plasmocytes dans les organes lymphoïdes périphériques (**Amer, 2012).**



Figure 21 : Structure histologique de la bourse de Fabricius. X 12,5 **(Bacha et Bacha, 2000).**

1 : lumière de la BF. 5 : lobule bursique .8 : la musculeuse 10 : épithélium pseudostratifié.

II.2.2. Organes et tissus lymphoïdes secondaires ou périphériques

Les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques se forment à partir du mésoderme de l'embryon et persistent pendant toute la vie de l'animal. Ils comprennent la rate, les nodules lymphatiques, la moelle osseuse, et les tissus lymphoïdes diffus tels que le GALT (gutassociated lymphoid tissue), le BALT (branchial-associated lymphoid tissue et le HALT (head-associated lymphoid tissue).

II.2.2.1. Rate

La rate est un organe lymphoïde situé sur le trajet de la circulation sanguine à la face médiale du ventricule succenturié. La granulopoièse et l'érythropoïèse constituent les deux fonctions essentielles de la rate durant la vie embryonnaire, période au cours de laquelle l'organe est colonisé par les cellules lymphoïdes ayant achevées leur éducation au niveau des organes lymphoïdes primaires. Après l'éclosion la rate est complètement développée **(Tarek H, 2013).**

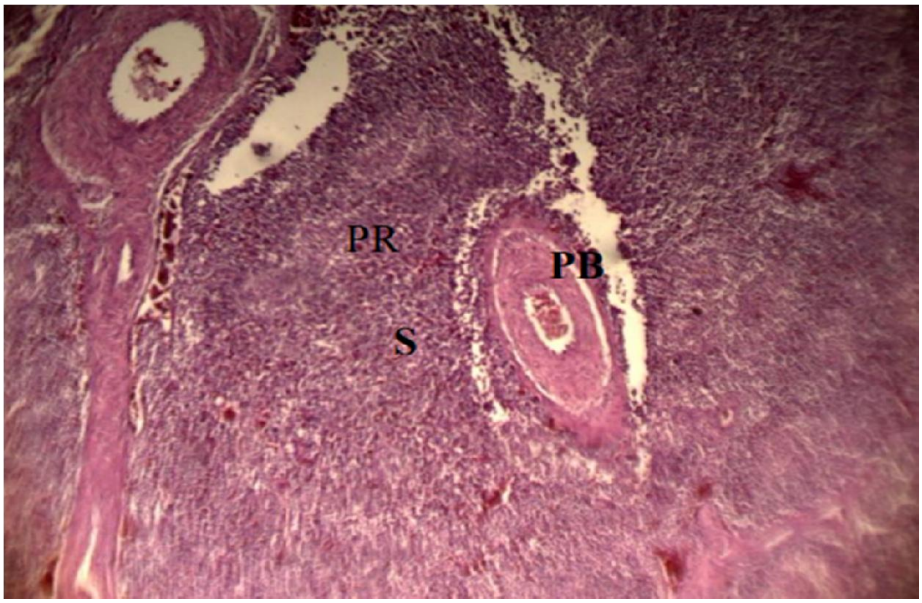


Figure 22: Structure histologique de la rate (H & E x 400) **(Khenenou, 2008).**

PB: pulpe blanche; PR : pulpe rouge ; S : Sinusoïde

II.2.2.2. Moelle osseuse

Le système immunitaire (lymphoïde) des jeunes oiseaux se distingue principalement de celui des mammifères par la présence d'une bourse (équivalent de la moelle osseuse chez les mammifères) et par l'absence de moelle osseuse, remplacée par de l'air, ces os pneumatisés étant en relation avec le système respiratoire. Bien que dispersée à travers tout le corps, la

moelle osseuse est le tissu lymphoïde secondaire le plus important en volume et en production d'anticorps **(Tarek H, 2013).**

II.2.2.3. Les nodules lymphatiques

Les oiseaux ne possèdent pas de ganglions lymphatiques anatomiquement organisés mais ils sont munis d'une multitude d'amas ou nodules lymphatiques : les nodules lymphoïdes pariétaux et viscéraux .Ils apparaissent dès le début de la vie embryonnaire et se développent en réponse à une stimulation antigénique locale **(Tarek H, 2013)**

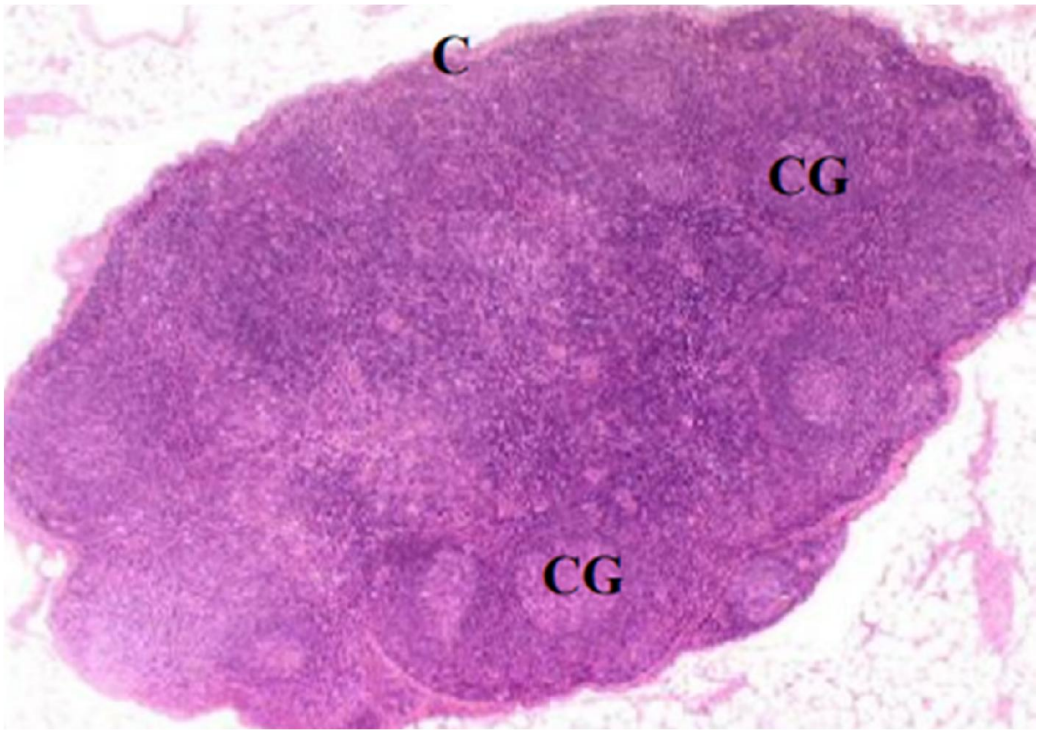


Figure 23: Coupe histologique des nodules lymphatique **(Mclelland, 1990)**

. CG: centre germinatif, C: capsule.

II.2.2.4. Le GALT (Gut Associated Lymphoïde Tissue)

Le tissu lymphoïde du tube digestif des oiseaux appelé GALT est bien développé . Il se compose des amygdales caecales, du diverticule de Meckel , des plaques de Peyer ,des nodules pariétaux et viscéraux de l'intestin et de la bourse de Fabricius . . **(Tarek H, 2013).**

II.2.2.5. Le HALT (Head Associated Lymphoid Tissue)

Le tissu lymphoïde de la tête appelé HALT (Head associated Lymphoid Tissue) situé dans les régions paranasales et paraoculaires. La glande de Harder située ventralement et postéromédialement par rapport au globe oculaire, est la plus importante Elle est infiltrée dès

le 17ème ou le 18ème jour d'incubation par des cellules lymphoïdes provenant de la muqueuse oculaire et des sinus **.**

Les lymphocytes B sont les principales cellules retrouvées dans la glande de Harder. Les cellules T sont beaucoup moins nombreuses mais indispensables pour la synthèse d'anticorps. L'intercommunication entre le sac conjonctival, le sinus infraorbitaire et les narines, permet un balayage antigénique précoce et maximal avec réponse immunitaire locale adaptée. C'est la voie de vaccination choisie lors d'instillation oculonasale. **(Tarek H, 2013)**

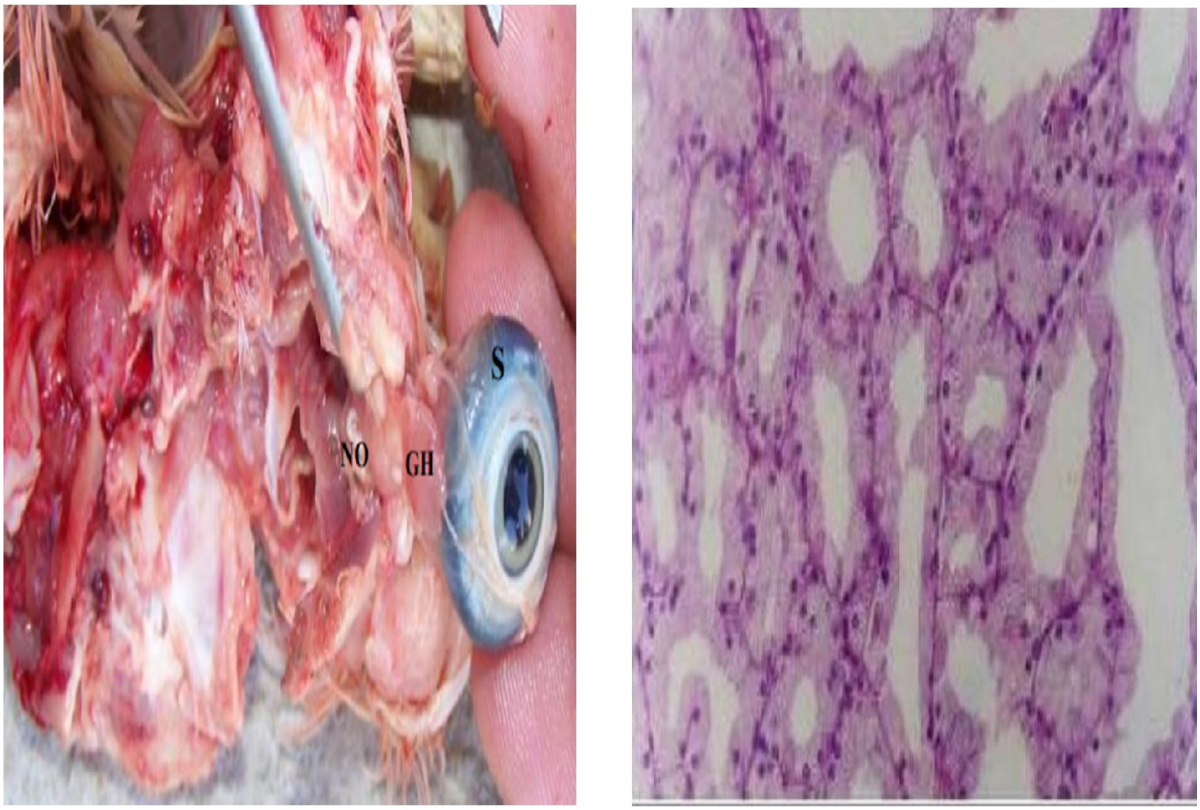


Figure 24: La glande de Harder **(khenenou, 2012**) GH: glande de Harder, S: sclérotique. NO: nerf optique.*(*A droite)

Figure 25: L'aspect histologique de la glande de Harder chez le poulet de chaire (H&E x 100) **(Tolunay, 2010**).(A gauche)

II.3.Les grands types de réponses immunitaires :

II.3.1.Immunité naturel (non spécifique) :

C'est la faculté de l'organisme de se défendre de façon générale contre des agresseurs particuliers, et ce par différents moyens naturels. Telle que :

La peau, muqueuses, cils vibratiles et les mucus. Protègent normalement contre l'intrusion de la plupart des agents infectieux. Le risque d'infection survient quand ces barrières sont lésées **(Guérin et al , 2011).**

II.3.2.L'immunité active:

II.3.2.1.L'immunité cellulaire:

L'immunité à médiation cellulaire est assurée par des cellules spécifiquementsensibilisées, venant au contact de l'antigène et y agissant par cytotoxicité directe oulibération de médiateurs non spécifiques de l'antigène. Elle est aisémenttransmissible par des transferts cellulaires mais non par des transfères de sérum etsupprimée par la thyméctomie néonatale, non par la bursectomie

Le polymorphisme des réactions immunitaires avait depuis longtemps frappé lesimmunologistes et les cliniciens, on sait maintenant qu'il existe, à l'origine de cepolymorphisme, de multiples types de cellules donnant naissance à des réponses trèsvariées faisant à la fois intervenir des anticorps, des médiateurs aux fonctions trèsdiverses et plusieurs catégories de cellules douées de propriétés cytotoxiques **(Nadir et Sacia , 2020).**

Plusieurs types cellulaires participent au développement des réactions immunitaires spécifiques :

A-Les lymphocytes (cellules immunocompétentes) : Les différentes populations de lymphocytes T Lymphocyte T-4 ;Lymphocytes T-S ;Lymphocytes T.C ; Lymphocytes T.dh ;Lymphocytes T mémoire

B-Les cellules présentatrices d'antigène, (CPA) et les cellules auxiliaires de l'immunité:

Les macrophages ; (Les granulocytes: Les hétérophiles ; Les éosinophiles ; Les basophiles)

Les mastocytes ;Cellules NK ;Cellules K ;Les thrombocytes ; Les cellules dendritiques ; Les cellules endothéliales ;Les cellules épithéliales

Le sang de la poule contient environ 3 à 4 millions d'érythrocytes par mm3 , alors que le nombre de leucocytes dépasse rarement 30.000 par mm3 de sang, chez le poulet adulte, les leucocytes comprennent 59% de lymphocytes, 10, 2 % de monocytes, 27,2 % de polynucléaires hétérophiles, 2 % d'éosinophiles et 1,7 %de basophiles **(Nadir et Sacia , 2020)**

II.3.2.2.L'immunité humorale:

L'immunité humorale est assurée par des molécules spécifiques de l'antigène, les anticorps, produits à distance de leur site d'action, des globulines (principalementgamma globuline) libérées dans le plasma, ce sont les anticorps circulants, ils sontdésignés par le terme général d'immunoglobulines. Les anticorps réagissentspécifiquement avec l'antigène qui leur a donné naissance, l'immunisation ainsiobtenue est dite active **(Nadir et Sacia, 2020).**

Les anticorps des oiseaux sont regroupés en 3 classes, IgM, IgA et IgY(IgG)

1. IgY: présentes dans le sang et le vitellus. Elles sont les homologues aviaires des IgG et IgE des mammifères, sauf que chez les oiseaux la chaine de molécule H est plus longue que chez les mammifères.

2. IgA: responsables de l'immunité locale, sont présentes dans les muqueuses et le lait de jabot.

3. IgM: sont structurellement et/ou fonctionnellement homologues chez l'oiseau et ne diffèrent pas par rapport à leur homologue des mammifères. Invariablement, les IgM apparaissent rapidement dans le sérum sanguin juste après l'infection ou la vaccination et disparaissent aussi rapidement **(Julien G, 2015)**

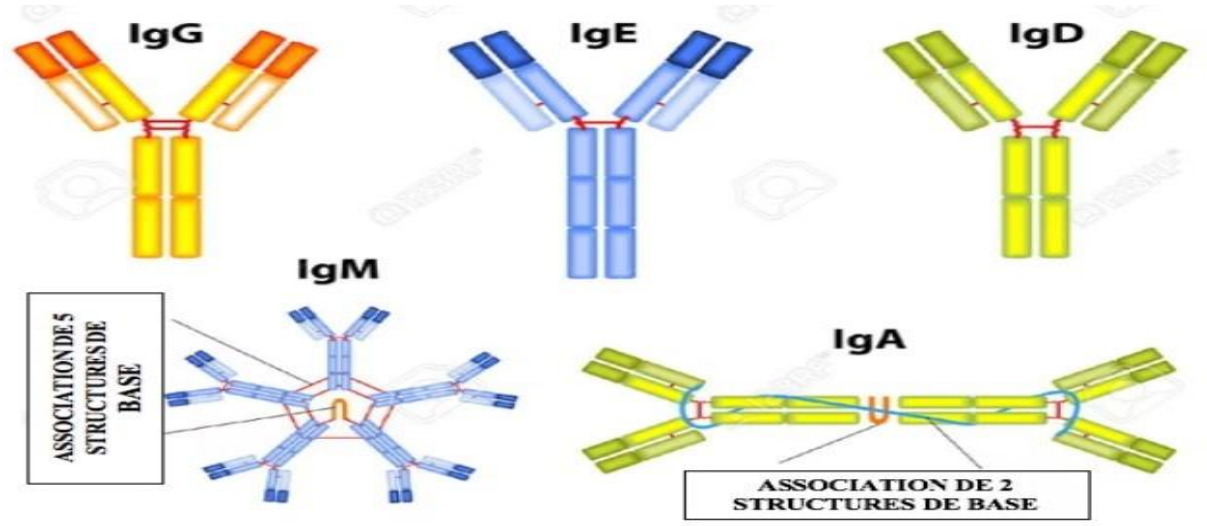


Figure 26: Classifications des Immunoglobulines**(Alamy)**

L'immunité humorale est aisément transmissible par le sérum plus difficilementpar les cellules lymphoïdes: c'est le principe de la sérothérapie, l'immunisation ainsiobtenue est (passive). Un autre exemple d'immunisation passive concerne le transfertd'anticorps entre la

mère et le fœtus, cette transmission est réalisée de façon différenteselon les espèces, ainsi chez les oiseaux, les anticorps sont stockés dans le jauned'œuf, ils gagnent ensuite le système circulatoire de l'embryon. L'immunité humorale est complètement supprimée par bursectomie in ovo chezles oiseaux et peu influencée par la thyméctomie néonatale **(Nadir et Sacia ,2020)**

Les caractéristiques fondamentaux caractérisent l'immunité acquise etl'individualisent au sein des moyens de défense de l'organisme : la spécificité, lamémoire et la reconnaissance du Non –soi :

- ✓ En raison de la spécificité, l'immunité établie contre un agent étranger ne s'exerce qu'envers cet agent étranger et jamais contre un autre.
- ✓ Du fait de la mémoire, un organisme immunisé contre un antigène est capable, lors du deuxième contact avec le même antigène, de le rejeter beaucoup plus rapidement et d'empêcher ainsi par exemple, une infection de se développer.
- ✓ Grâce à la possibilité de reconnaissance du non–soi l'organisme ne s'immunise qu'envers des constituants étrangers et il est tolérant pour ses propres constituants, c'est l'altération de ce pouvoir de discrimination qui est à l'origine d'une hérésie immunologique c'est à dire duDéveloppement de réaction immunitaire contre soi-même, l'auto-immunité **(Nadir et Sacia , 2020).**

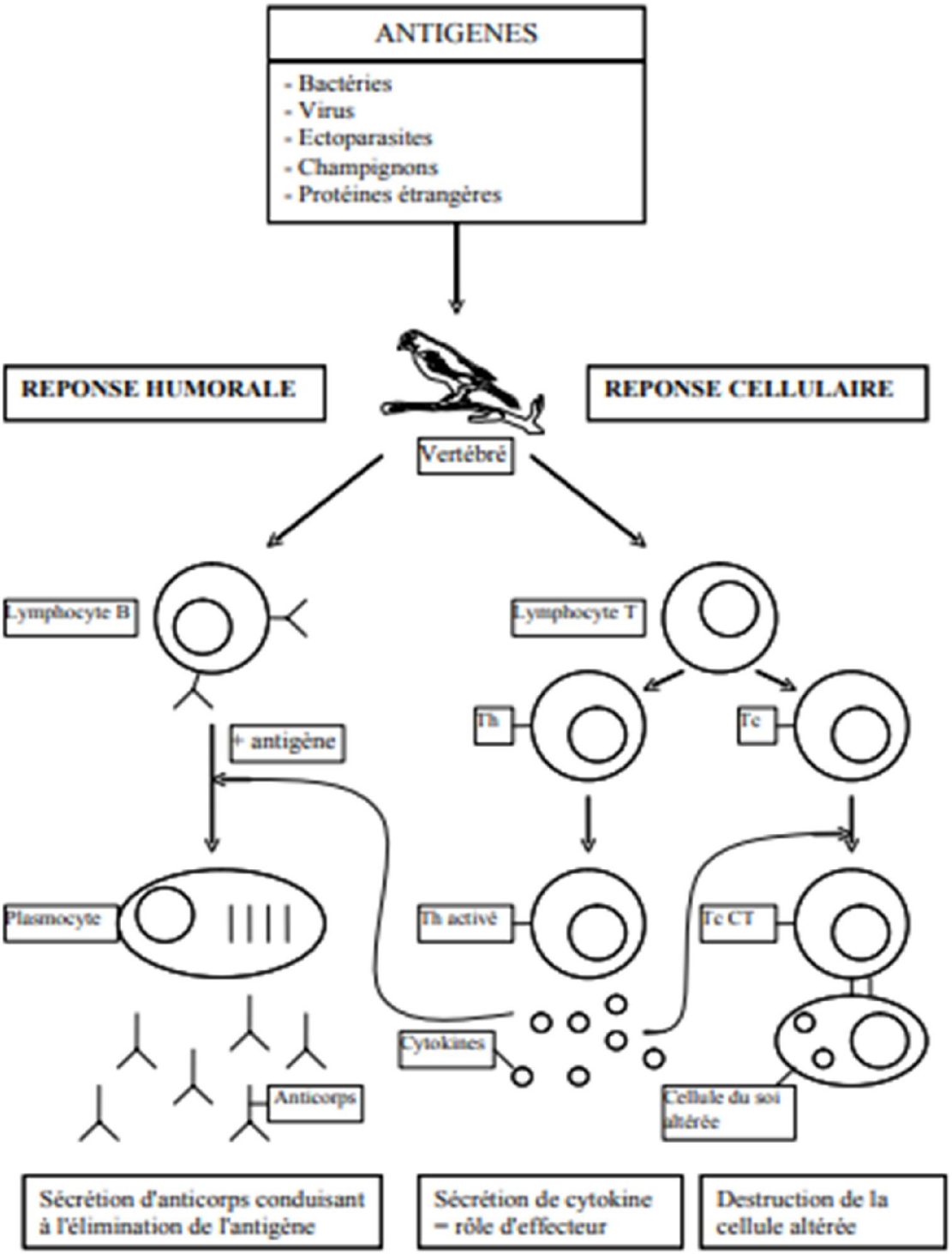


Figure 27:Schéma de la réponse humorale et cellulaire du système immunitaire des vertébrés.

Tc CT correspond aux lymphocytes Tc devenus cytotoxiques. Les flèches partant des cytokines indiquent dans quels processus les cytokines jouent un rôle d'effecteur.

(Julien G, 2015)

II.3.3.l'immunité d'origine maternelle (Immunité passive)

Elle correspond aux anticorps transmis par la mère à l'œuf puis au poussin Le poussin nait avec un système immunitaire immature. La poule lui transmet par contre des anticorps par l'intermédiaire de son œuf, à la manière de ce qui est observé chez les mammifères avec le colostrum, il s'agit pour l'essentiel de l'immunité materno-fœtale ou bien par l'administration de serum hyper immune. La pluparts des anticorps protégeant le poussin dès l'éclosion, sont les IgG. On retrouve aussi des anticorps locaux hérités du passage du l'œuf dans l'oviducte, ce sont les IgM et IgA que l'on retrouve aussi dans le liquide amniotique **(Thinhinane L, 2015)**

II.4.Immunité collective

Le premier résultat attendu de l'administration d'un vaccin, c'est que les oiseaux développent une immunité contre un pathogène, donc, par conséquent, réduisent sa sensibilité à un agent infectieux.

La protection contre la forme clinique de la maladie est efficace à un titre individuel, tandis que la réduction à la fois de la susceptibilité et infectiosité profite aussi à l'ensemble de la population de volaille dans le troupeau vacciné/région .

L'effet positif sur une population vaccinée connu sous le nom immunité troupeau peut être défini comme la probabilité réduite d'une infection individuelle à chaque fois qu'il fait partie d'une population vaccinée **(Thinhinane L, 2015)**

II.5.Méthode de lutte contre la maladie de Gumboro

II.5.1. MesuresSanitaires :

II.5.1.1. Mesures offensives :

Elles consistent à maintenir une biosécurité interne ou bio-confinement. Il s'agit d'un ensemble de mesures destinées à minimiser le risque de transmission et de propagation d'un agent infectieux à l'extérieur des exploitations individuelles infectées ; ces mesures sont envisagées et mises en oeuvre lorsqu'une partie d'animaux du troupeau ou un troupeau est attaqué au sein d'une même exploitation. Les mesures suivantes doivent être appliquées**.(OIE, 2008).**

Les locaux infectés doivent être mis en quarantaine et décontaminé Nettoyage/Désinfection). Il en est de même pour le matériel d'élevage.

II.5.1.2.Mesures défensives : la biosécurité externe

C'est un ensemble de mesures destinées à minimiser le risque d'introduction d'un agent infectieux dans les unités de production individuelles.

- ✓ Il est important de souligner qu'une des failles les plus courantes de la biosécurité consiste dans l'entrée de personnes apportant du matériel contaminé (vêtements, chaussures, mains souillées, etc.) dans les endroits où se trouvent les oiseaux sensibles.
- ✓ La réutilisation d'équipements (comme les barquettes à oeufs) et l'achat d'équipements de seconde main (comme les distributeurs d'aliments) comportent des risques élevés.
- ✓ La méthode la plus courante d'introduction de la maladie consiste à apporter des animaux en cours d'incubation dans l'exploitation et de les mêler à des animaux sensibles et sains.
- ✓ L'avifaune sauvage, surtout les oies sauvages, peut jouer un rôle important dans l'introduction de la MNC dans les élevages.
- ✓ La ségrégation ou la bioexclusion est la base des mesures défensives. Elle consiste à l'érection des barrières réelles ou virtuelles visant à limiter les possibilités d'introduction d'animaux infectés ou d'objets contaminés dans une zone ou dans une exploitation, autrement dit dans un nouvel environnement.

- ✓ Les mesures de biosécurité doivent pouvoir empêcher l'accès des chiens et chats, ainsi que de la faune sauvage dans les élevages **(OIE, 2008).**

II.5.2.Mesures médicales :

II.5.2.1.Traitement :

Il n'y a pas de traitement spécifique **(Guérin et al, 2008).**

II.5.2.2. vaccination

A-La vaccination des reproductrices

La vaccination des reproducteurs, pour transmettre des anticorps maternels au poussin : elle se fait à l'aide d'un rappel à vaccin inactivé et adjuvé avant l'entrée en ponte **(Guérin et al , 2008).**

B. La vaccination des jeunes poulets

La protection conférée par les anticorps maternels ne suffit pas à protéger les poulets à long terme contre la maladie de Gumboro. L'immunisation active des poulets est donc nécessaire pour éviter un risque d'infection. Différents types de vaccins sont disponibles pour cette immunisation. Les plus utilisés sont

- ✓ **les vaccins vivants** (Les plus utilisés)

Pour les adultes: Certains laboratoires fabricants proposent deux vaccinations à virus atténué aux reproducteurs avec, parait-il, une bonne transmission immunitaire aux poussins.

Pour les poussins: Les vaccins vivants à virus à pouvoir pathogène atténué sont en principe réservés aux jeunes oiseaux, les grandes difficultés de mise en œuvre efficace de la vaccination collective des poussins sont la persistance des anticorps maternels et l'ignorance de leur statut immunitaire. Encore que des contrôles par la technique ELISA des anticorps vitellins existants **(Nadir et Sacia , 2020)**

- ✓ **Vaccins inactivés.**

(virus tué + adjuvant de l'immunité) Ce sont des vaccins injectables réservés aux reproducteurs car ils assurent une bonne protection immunitaire passive chez les poussins. Le protocole vaccinal habituel, pour les troupeaux reproducteurs avant l'entrée en ponte est: primovaccination à virus vivant; rappel avec le virus inactivé. Il permet une transmission d'anticorps maternels efficace pendant toute la durée de la ponte et persistant jusqu'à 4 ou 5 semaines chez le poussin **(Guérin et al , 2011).**

Tableau 1: Comparaison entre les vaccins atténués et les vaccins inertes utilisés en aviculture **(Thinhinane L, 2015).**

	Vaccins vivants atténués	Vaccins inactivés
Avantages	- Peu onéreux - Permettent la vaccination de masse, par voie mucosale. -Grand nombre de dose dans volume faible - Immunité d'apparition rapide - Immunité locale précoce possible	-Inoffensifs - Pas de réactions vaccinales (sauf adjuvants) - Pas de diffusion de souches vaccinales. - Protection élevée - Durée d'immunité longue - Association de valences possible
Inconvénients	- Risque de réactions vaccinales. - Diffusion de certaines souches . - Durée d'immunité courte. - Interférence avec anticorps maternels. - Interférence entre virus à même tropisme. provoque une immunodépression passagère	-Prix plus élevé. -Manipulation individuelle obligatoire. - Volume important de stockage - Immunité d'apparition plus lente
Indications	-Vaccinations économiques appliquées en masse - Vaccination précoce pour obtenir une immunité locale et générale rapide - Primo-vaccination des futurs reproducteurs et pour la vaccination des poulets de chair	-Essentiellement vaccinations de rappel chez les oiseaux de valeur économique importante (reproducteurs, poules pondeuses).

- ✓ **Vaccin recombinant**

l'autre avantage de ce vaccin est son efficacité à surmonter les anticorps maternels et à protéger les oiseaux contre un challenge avec des virus de souche virulente

Ces vaccins ont un taux de protection de 83% **.** Avec le progrès de la génétique, des vaccins recombinants utilisant souvent le gène de la protéine structurale VP2 couplée ou non à ceux des autres protéines structurales VP3, VP4 ont été créés. Le gène de cette protéine est

inséré dans l'ADNc d'une souche vaccinale d'un autre virus agent d'une maladie aviaire **.** Cet autre virus va exprimer le caractère immunogène de VP2 et pourra être utilisé contre IBD.

Deviendrait un vaccin bivalent qui peut conférer une protection contre la maladie de Gumboro et contre l'autre maladie aviaire **.** L'avantage de l'utilisation de ce type de vaccin est sa capacité à surmonter les anticorps maternels par contre le taux de protection qu'il confère est très variable, allant de 79 à 90% **(Mamitiana, 2011)**

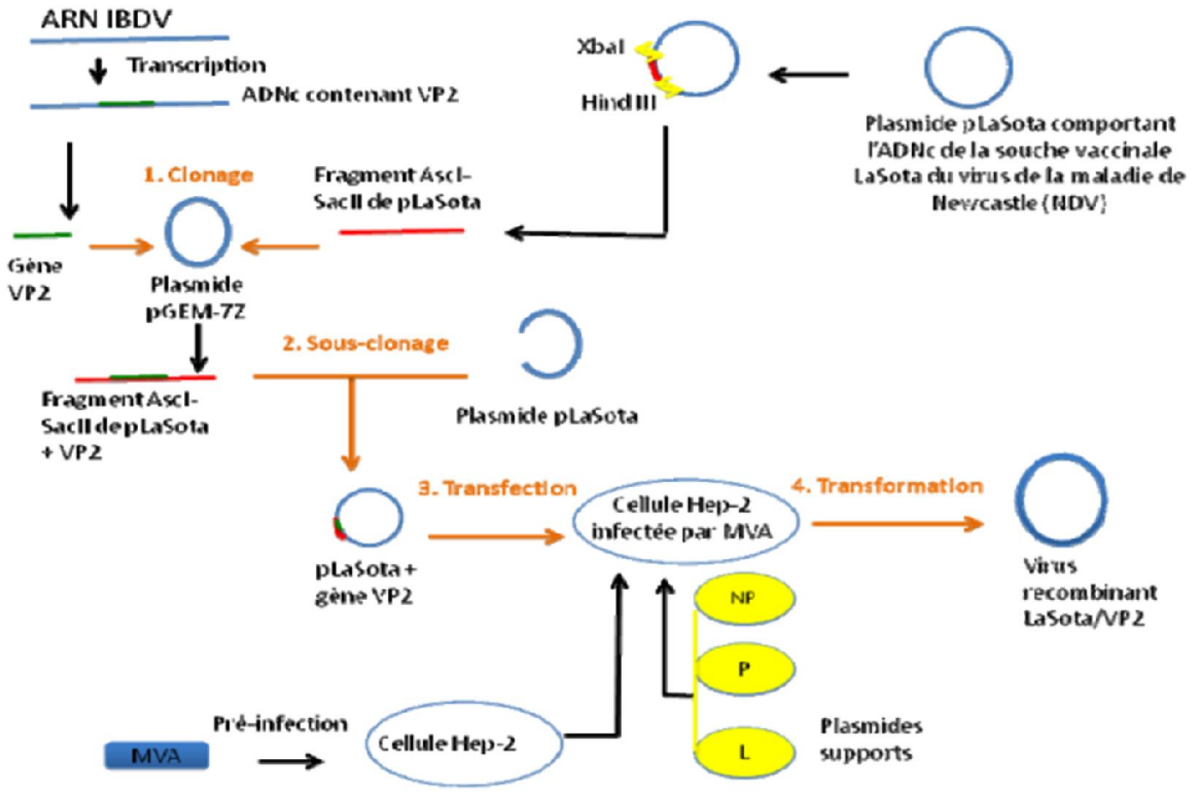


Figure 28: Principe du vaccin recombinant anti-IBD et anti-NDV.1. Clonage du segment AscI-SacII, qui est excisé du plasmide pLaSota comportant l'ADNc de la souche vaccinale LaSota du virus de la maladie de Newcastle (NDV) par les enzymes de restriction XbaI et HindIII, avec le gène de VP2 de l'ARN de l'IBDV; 2. Sous-clonage du segment AscI-SacII et le gène de VP2 dans un plasmide pLaSota; 3. Transfection de la plasmide pLaSota comportant le gène de VP2 avec les plasmides supports comportant une protéine nucléocapsidique (NP), une phosphoprotéine (P) et une large protéine polymérase (L) dans une cellule épidermique cancéreuse humaine Hep-2 préalablement infectée par le virus recombinant vaccinia MVA ; 4. Transformation du virus recombinant LaSota/VP2**..**

(Mamitiana, 2011).

II.6.Mode de vaccination

Pour réaliser un schéma de vaccination, plusieurs techniques existent afin de s'adapter à la fois aux exigences intrinsèques du vaccin, au type d'élevage et au confort de travail de l'éleveur.

II.6.1.La vaccination individuelle

Cette pratique consiste en un traitement de tous les animaux un par un .Elle s'effectue elle-aussi de différentes manières, qui dépendent quasi- exclusivement du type de vaccin employé :

II.6.1.1.Pour un vaccin vivant atténué

On utilise des techniques d'instillation oculaire, de trempage de bec, et éventuellement d'injection parentérale 38 pour assurer l'infection et provoquer en premier lieu une réaction locale et mucosale .

L'instillation nasale et le trempage de bec (voie nasale) sont encore très utilisés dans certains pays, En effet, pour cette maladie où une immunité locale et systémique est importante, il s'agit d'une voie permettant la stimulation de l'ensemble du système immunitaire, humorale et cellulaire, aussi bien au niveau local qu'au niveau systémique Enfin l'instillation oculaire ou goutte dans l'œil (voie oculaire) est une méthode de choix en matière d'intervention individuelle. Grâce à la présence de la glande de Harder, elle permet de développer une immunité à la fois locale et systémique. **(Thinhinane L, 2015)**

II.6.1.2.Pour les vaccins inactivés

Seule l'administration par injection, par voie sous- cutanéeou intra-musculaire, permet à ce jour de garantir une efficacité suffisante. En effet ces vaccins ne possèdent pas la capacité d'infection des vaccins atténués et ne peuvent franchir les muqueuses. D'autre part leur efficacité repose sur une réaction maximale de l'immunité à médiation humorale et seule la voie parentérale assure un contact antigène système immunitaire optimal pour stimuler la production d'anticorps neutralisants **(Thinhinane L , 2015)**

L'injection intramusculaire (voie intramusculaire) est réalisée dans les muscles de part et d'autres du bréchet et est utilisée principalement chez les reproducteurs et les poules pondeuses, chez qui la réaction fibreuse locale n'entraîne pas de dépréciation. Cette voie est la meilleure pour induire une réponse humorale et cellulaire systémique, mais l'immunité locale, qu'elle provoque est moindre que celle obtenue par la voie nasale.

Chez les volailles de chair, l'injection sous-cutanée (voie sous-cutanée) est préconisée, car elle ne provoque pas de réaction locale. De plus, effectuée à la base du cou, elle présente une simplicité et une rapidité d'exécution indispensables pour la vaccination de plusieurs centaines d'animaux **(Thinhinane L, 2015).**

II.6.2.La vaccination de masse

Elle consiste à mettre en contact l'ensemble de l'effectif avec une source unique de vaccin, contenant la totalité des doses nécessaires pour traiter tous les individus. Elle regroupe trois techniques distinctes : la vaccination via l'eau de boisson, la vaccination par spray et la vaccination par aérosol .

Ces trois modalités ne peuvent s'appliquer qu'aux vaccins vivants atténués ; elles reposent en effet sur la capacité de ce type de vaccin à infecter l'animal par les voies d'entrées naturelles d'un virus, à savoir les muqueuses digestive, respiratoire et oculaire.

Tableau 2: Avantage, Inconvénient et indication des différentes voies d'administration des vaccins **.(Thinhinane L.2015)**

	Vaccination individuelle	Vaccination de masse
Avantage	-garantir la fiabilité et la régularité de la prise vaccinale -permet la stimulation de l'ensemble du système immunitaire, humorale et cellulaire (au niveau local systémique)	-rapidité et facilité d'utilisation, - vacciner qu'une seule fois. -s'utilisent dès le premier jour de vie
Inconvénients	nécessite beaucoup de temps, de main d'œuvre, d'argent et de savoir-faire.	d'hétérogénéité de prise vaccinale
Indication	Animaux à valeur économique	élevages de volailles de chair à très gros effectif

II.6.3. Cas de la vaccination in ovo :

La vaccination in ovo est la dernière technique de vaccination développée, à mi-chemin entre la vaccination individuelle et la vaccination de masse. Elle est de plus en plus utilisée car elle bénéficie des avantages de la vaccination individuelle (principalement le fait que tous les œufs sont inoculés) et de certains avantages de la vaccination de masse (les œufs sont vaccinés par lots de plusieurs dizaines de milliers, ce qui permet un gain de temps considérable) .

Cette technique est bénéfique pour les animaux, car elle permet d'induire une immunité plus précoce et de réduire le stress des oiseaux, mais elle l'est aussi pour le manipulateur, car le coût de la vaccination est réduit, les injections sont précises et uniformes et les contaminations sont réduites **(Thinhinane L, 2015) .**

II.7.Choix de la date de vaccination

Deux écoles s'affrontent en matière de prophylaxie vaccinale : vaccination systématique à 1 jour avec des souches intermédiaire ou calcul de la décroissance des anticorps maternels, pour déterminer l'âge de la vaccination. Dans la première méthode, uneprimo-vaccination est réalisé le plutôt possible chez un maximum de poussins qui le permettent, c'est-à-dire ayant peu d'anticorps maternels. Le but est d'empêcher une diffusion et une multiplication de virus sauvage avant immunisation active par des vaccinations plus tardive.

Dans la deuxième méthode, il faut choisir une date de vaccination et donc déterminer 2 paramètres. La protection passive diminue au fur et à mesure que le poussin vieillit et élimine les anticorps maternels. La durer de la protection passive dépend donc à la fois de la quantité initiale d'anticorps transmise et de la vitesse à laquelle le poussin élimine les anticorps reçus.

- ✓ La quantité initiale d'anticorps maternels transmis est mesurée par des sérologies ELISA effectuées sur 20 poussins prélevés le jour de la mise en place.
- ✓ L'estimation de la cinétique de décroissance des anticorps maternels : le temps de demi-vie plasmatique des anticorps maternels est d'environ 3 jours à croissance rapide et de 5 jours chez les souches à croissance lente.
- ✓ Taux t'anticorps maternels résiduel susceptible d'interféré avec la prise vaccinale. Les titres neutralisant dépendent du vaccin : 1/100 pour les vaccins très atténué, 1/250 pour les vaccins intermédiaire et 1/500 pour les vaccins invasifs **(Sellam, 2001**).

SELLAM, 2001) a décrit une formule permettant de calculer la date de vaccination (D) :

$$D = \frac{D\,(\text{m titre ELISA mesurés}) - 22{,}36 + 1}{2.82}$$

- ✓ D ; racines carrées pour rendre la courbe des titres d'anticorps normale
- ✓ 22,36= la racine de 500, et 500 est le titre ELISA seul interférant avec la prise vaccinale des vaccins « hots », ce seuil est donc fonction du vaccin.
- ✓ 2,82= 1 /2 de vie de la racine titre ELISA pour les poulets industriels + 1 car prise de sang sur poussins d'un jour

Partie Expérimentale

Partie Expérimentale

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 Les maladies immunodépressives (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 :Les maladies immunodépressives(bursite infectieuse IBD), 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 des principales pathologies virales en élevage de poulet de chair.

- ✓ La recherche d'une éventuelle circulation des virus deLes maladies immunodépressives(la bursite infectieuse (IBD) à travers la mise en évidence d'anticorps dans le sérum de poules (enquête sérologique) en utilisant la méthode ELISA**.**

- ✓ Etude des co-infections

- ✓ 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 au centre(Médéa), (Figure 29).

L'étude s'étend sur une période, de Mars jusqu'à Juin 2022.

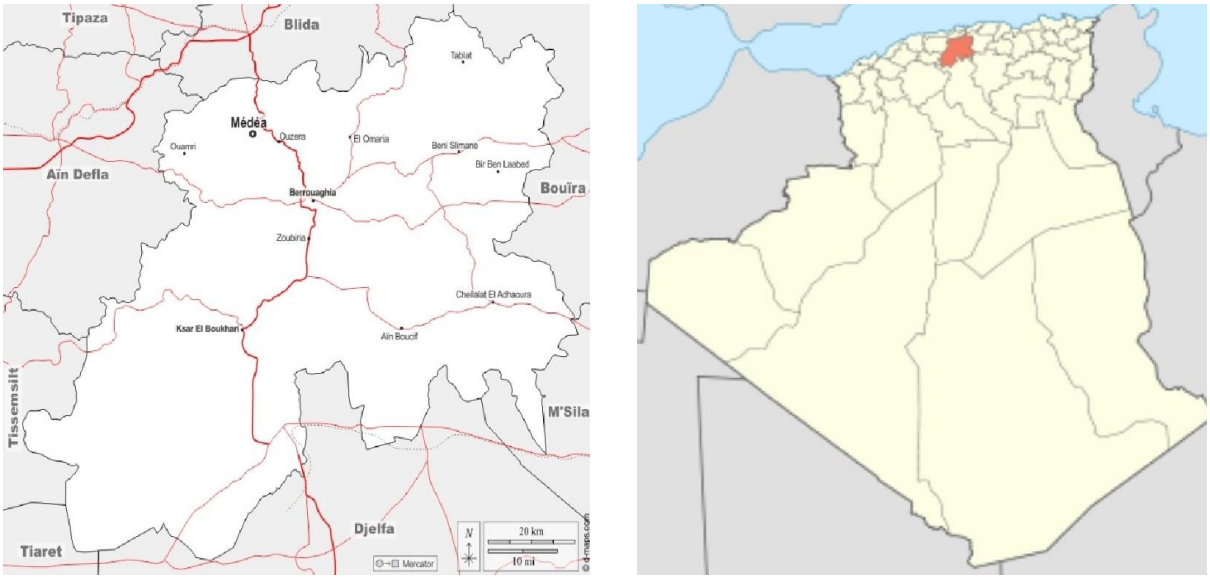
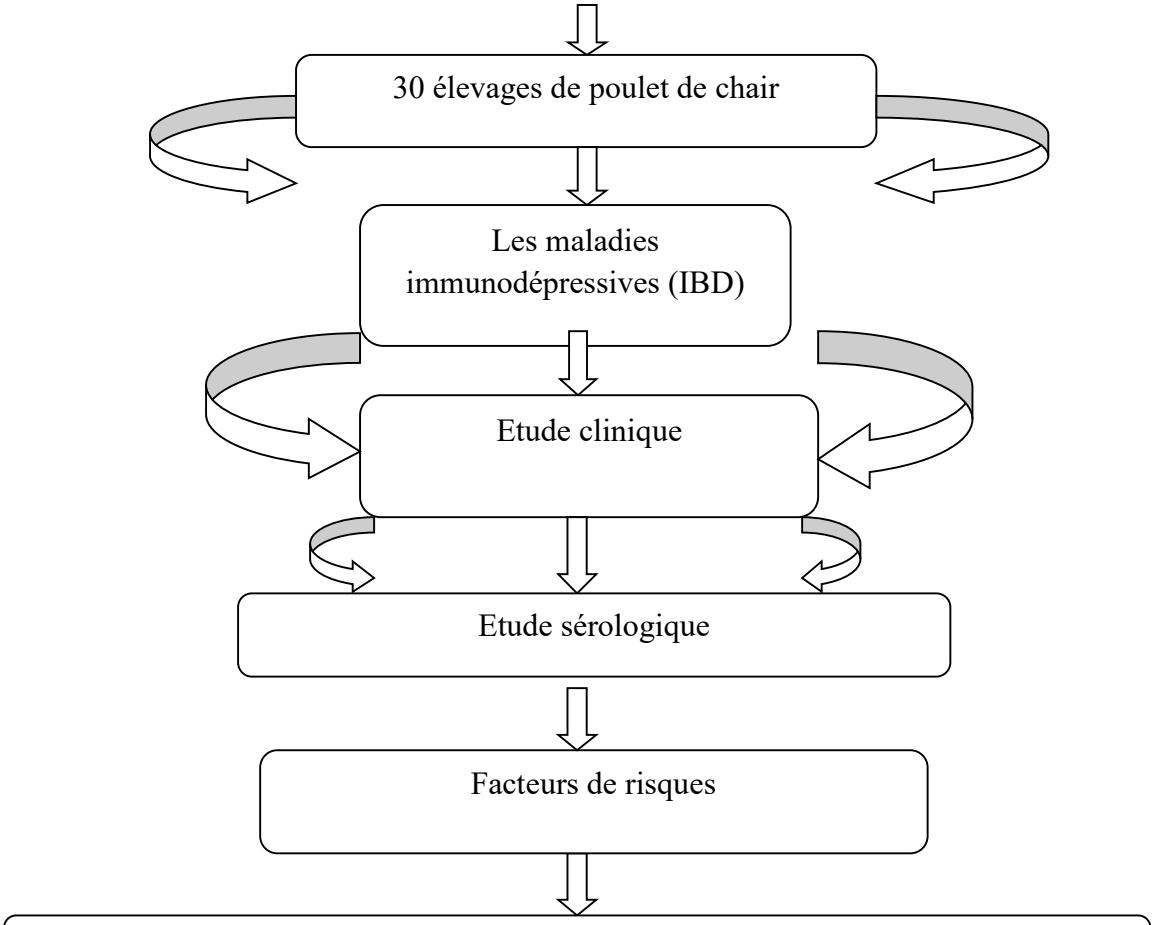


Figure 29: Localisation des régions d'étude (la ville de Médéa).

III.2. La conduite expérimentale :

Les différentes étapes de l'expérimentation ont été regroupées sur le schéma suivant :

Schéma expérimental



- ✓ Une enquête épidémiologique de terrain effectuée sur les élevages analysés.
- ✓ Une étude clinique des principales pathologies virales rencontrées en élevages de poulet de chair.
- ✓ La recherche d'une éventuelle circulation des virus de IBD à travers la mise en évidence d'anticorps dans le sérum de poules en utilisant la méthode ELISA**.**
- ✓ Etude des co-infections
- ✓ Evaluation des facteurs de risque liés à chaque maladie virale.

III.3. Animal :

Les sujets sont prélevés dans trente (30) élevages avicoles de type poulet de chair. Les sujets sont originaires des centres de production privés (couvoirs privés).

Ces élevages de poulets de chair sont de différentes souches (Arbor acres, Cobb 500, Hubbard F15) âgés de quatre (4) à sept (7) semaines et contenant de 2 000 à 7 000 sujets/élevage (Figure 30).



Figure 30: Les types des bâtiments d'élevages.

Les élevages étudiés ont été initialement vaccinés contre Les maladies immunodépressives (la bursite infectieuse IBD) avec des vaccins vivants selon différents protocoles (Tableau 3, Figure 31).

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

Tableau 3: Les vaccins utilisés (souche vaccinale, type de vaccin et mode d'administration)

Pathologie	Souche vaccinale	Type de vaccin	Mode d'administration
Les maladies immunodépressives (IBD)	D78 IBDL 228 E	Vaccins vivants	Eau de boisson

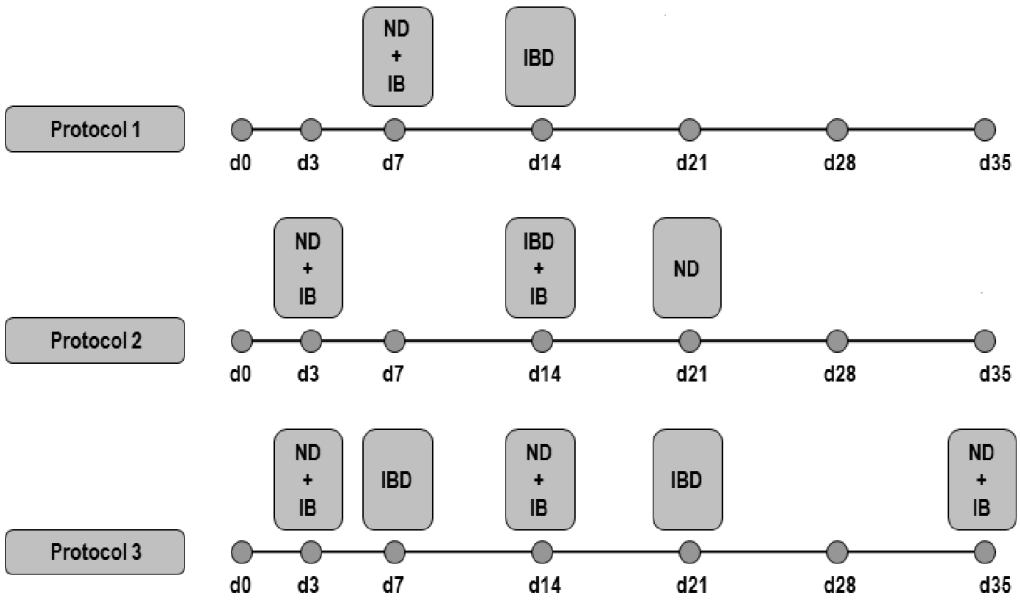


Figure 31: Diagramme schématique des protocoles de vaccination utilisés dans les élevages prélevés *(d : jour de vaccination).*

III.3. Echantillonnage (Prélèvements) :

Les échantillons ont été prélevés à partir des poulets de chair suspectés cliniquement affectés d'une des maladies virales tel que : la maladie de Gumboro (IBD) etmontrant des lésions caractéristiques à l'examen nécropsique (autopsie).

Un total de 1200 échantillons a été soumis auxanalyses sérologiques au sein du laboratoire de recherche de Biotechnologies liées à la Reproduction Animale(LBRA) situé à l'Institut des Sciences Vétérinaires / Université de Blida.

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 N°32), afin de garantir la représentativité des échantillons, les prélèvements de sang ont été réalisés 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 N°33).

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



Figure 32: Technique de prélèvement **(Photo personnelle, 2022).**





Figure 33: rechargement le sérum dans des tubes Eppendorf identifiés**(Photo personnelle, 2022).**

III.5.Méthode de laboratoire (Sérologie) :

Une technique Elisa indirecte a été effectuée en utilisant des kitsde la société ID.vet Innovative Diagnostics (Montpellier, France): ID Screen® Indirect IBDV (pour la maladie de Gumboro) (Figure N°34).

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 35).

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 34:Kit ELISA utilisé **(Photo personnelle, 2022).**

.



Figure 35:Lecteur ELISA et lavage manuel **(Photo personnelle, 2022).**

✓ **Information générale :**

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

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 ND purifié.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques des virus, IBD, 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- IBD, 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 IBD 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).

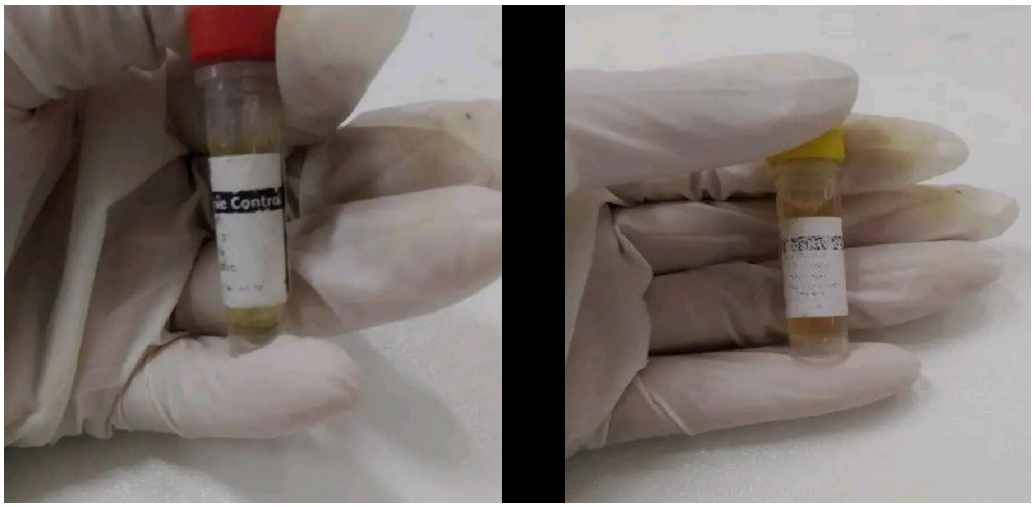


Figure 36*:* Contrôle positif et Contrôle négatif ***(*Photo personnelle, 2022).**

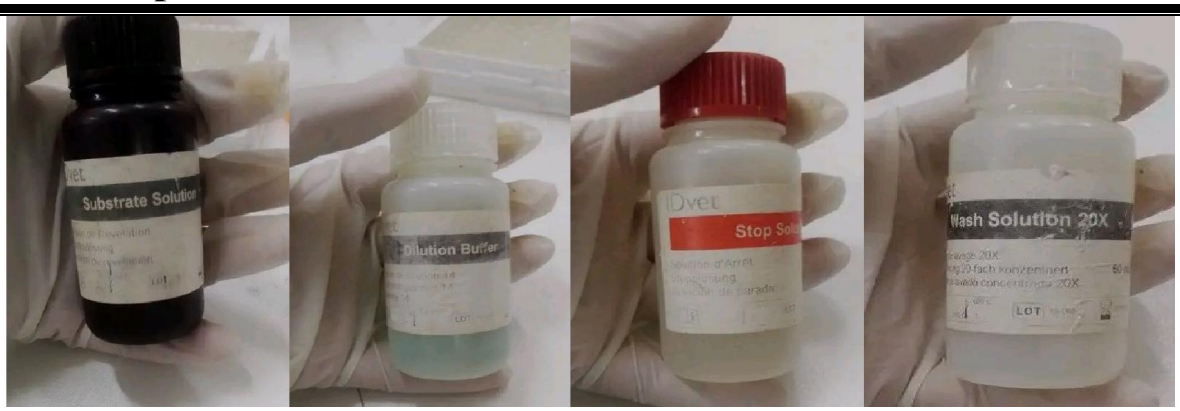


Figure 37: Les déférentes solutions **(Photo personnelle, 2022).**

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.



Figure 38:Matériel nécessaire**(Photo personnelle, 2022).**

- **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 ;

<u>1-Calcul du rapport S/P</u>

$S/P = DO_{échantillon} - DO_{CN}$

$DO_{CP} - DO_{CN}$

2- Calcul du titre en anticorps

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

- **Les résultats sont interprétés de la façon suivante (Tableau 3):**

Tableau 4: Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur ELISA.

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire IBDV
S/P $\leq$0.3	TITRE$\leq$875	Négatif
S/P >0.3	TITRE > 875	Positif

III.6. Facteurs de risque :

A chaque prélèvements, les données zootechniques et sanitaires sontrelevées, soit en interrogeant l'éleveur, soit le vétérinaire chargé du suivid'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 5).

Tableau 5: Caractéristiques des élevages étudiés

Paramètres	Classe	Nombre d'élevage	Pourcentage (%)
Région	Centre	9	30.0
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 parl'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 sérologique :

Le tableau 4 présente les résultats des titres en anticorps pour IBD.

IV.1.1. La maladie de Gumboro (IBD) :

Parmi les 30 élevages, 07 (16,66%)ont été testés positifs à la maladie de Gumboro; 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, 2062.20 vs 4168,00 ± 313,03, CV (33-45%), et qui présentent des signes spécifiques (cliniques et lésionnels) et un taux de mortalité variable (8-25%)(Tableau 6, 7).

Nos résultats d'analyse sérologique montrent que la maladie de Gumboro dans les élevages objet de l'étude (Médéa) 16,66%.

Tableau 6: Etude sérologique

Pathologie	Titres d'anti-corps		CV (%)	SE	P	Seropositivité (%)
	Moy 1	Moy 2				
IBD	2062.20	4168.00	33-45	313.03	<0.0001	16.66

Tableau 7: Etude sérologique d'IBD.

Elevage	Moy 1	SD1	CV1	Moy 2	SD2	CV2	P
1	1160,667	98,644	61	4259,400	130,644	51	**0,027**
2	1301,800	771,577	59	1090,200	687,383	63	0,434
3	936,467	384,220	41	954,467	304,190	32	0,888
4	1129,400	320,600	28	1134,400	304,368	27	0,965
5	1096,667	444,439	40	1449,800	612,069	42	0,081
6	1175,667	306,033	26	1161,733	470,443	40	0,924
7	1102,867	781,688	71	1461,133	680,797	47	0,191
8	2047,733	672,924	30	3996,000	942,936	28	**0,001**
9	1380,533	770,164	56	1130,000	644,736	57	0,342
10	1900,333	662,466	35	4400,800	837,020	19	**< 0,0001**
11	2098,200	633,925	43	3848,133	561,527	42	**0,001**
12	775,333	606,479	78	640,600	306,205	48	0,449
13	998,800	339,686	125	256,533	157,748	61	**< 0,0001**
14	998,800	339,686	34	1154,600	426,364	37	0,278
15	2438,667	927,769	38	3250,000	692,957	21	**0,011**
16	1071,133	563,435	53	1096,667	481,411	44	0,895
17	773,867	545,032	70	722,533	396,893	55	0,770
18	1413,733	533,857	38	1347,067	647,407	48	0,761
19	1215,267	498,374	41	1300,533	666,725	51	0,695
20	202,933	301,374	148	380,267	474,356	125	0,232
21	2311,667	1032,807	45	3049,200	908,336	30	0,047
22	2936,200	979,251	33	3437,133	1087,279	31	0,196
23	908,400	472,518	52	1064,667	444,694	42	0,359
24	1080,533	290,243	27	1029,000	394,061	38	0,687
25	235,867	322,905	137	300,800	289,450	96	0,567
26	1086,667	259,419	24	1183,933	289,252	24	0,341
27	1181,667	403,448	34	1198,867	403,074	34	0,908
28	1318,667	385,610	29	1398,000	384,967	28	0,577
29	1062,067	646,912	61	956,867	514,963	54	0,626
30	2158,533	725,751	34	4379,267	963,051	22	**< 0,0001**

IV.2. 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 8), conduisant à une très grande spécificité (100%).

En d'autres termes, tous les élevages suspectés avoir le maladie IBD avaient des anticorps spécifiques. Cependant, les sensibilités étaient de 71,4% pour IBD.
Donc, le diagnostic clinique et nécropsique ont été particulièrement fiables.

Tableau 8: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 IBD

Pathologie	Sensitivité (%) (95%CI)	Specificité (%) (95%CI)	Prévalence (%) (95%CI)
IBD	71.4 (38.0,104.9)	100.0 (100.0, 100.0)	23.3(8.2, 38.5)

IV.3. Les facteurs influençant l'apparition de IBD :

Les facteurs influençant la séropositivité de IBD ont été représentés dans le tableau 9.

IV.3.1. La maladie de Gumboro (IBD) :

Notre étude montre que, lorsque le protocole 2 a été appliqué, les élevages étaient significativement plus séropositifs de 48% (OR = 1,48, p = 0,047) par rapport au protocole 3. Alors que lorsque les élevages ont été échantillonnés au printemps, la séropositivité était plus élevée de 45% (OR = 1,447, p = 0,048) par rapport à l'été.

En outre, les élevages ayant une mauvaise hygiène ont été plus séropositifs de 65% (OR = 1,65, p = 0,004) par rapport à ceux qui ayant une mauvaise hygiène.

Alors que les élevages ayant un âge supérieur à 30 jours ont été moins séropositifs de 30% (OR = 0,69, P = 0,009) par rapport aux sujets plus jeunes à savoir âgés de moins de

30 jours. Cependant, nous n'avons observé aucun effet significatif de la souche, du climat et de la densité sur la sérologie pour IBD (Tableau 09).

Tableau 9:Effet de facteurs de risque pour IBD.

Facteurs	Classe	Prévalence	Estimation	SE	0R	95%CI	P
protocol de vaccination*	1	28.5	-0.08	0.29	0.92	0.52-1.63	0.77
	2	57.1	0.39	0.20	1.48	0.98-2.22	**0.04**
	3	14.2	Réf				
Saison	Automne	14.2	-0.20	0.15	0.81	0.60-1.09	0.16
	Printemps	28.5	0.37	0.19	1.44	0.98-2.12	**0.04**
	Eté	57.1	Réf				
Souche	Arbor acres	57.1	0.22	0.14	1.25	0.94-1.65	0.11
	Cobb 500	0.00	-0.07	0.25	0.92	0.56-1.54	0.77
	ISA	42.85	Réf				
Climat	Sec	71.4	0.12	0.18	1.13	0.79-1.63	0.48
	Humide	28.5	Réf				
Hygiène	Mauvaise	57.1	0.50	0.17	1.65	1.16-2.34	**0.004**
	Moyenne	14.2	0.01	0.14	1.02	0.77-1.34	0.88
	Bonne	28.5	Réf				
Densité (sujet/m²)	>10	57.1	0.21	0.17	1.24	0.88-1.73	0.20
	≤10	42.9	Réf				
Age (jour)	>30	42.8	-0.36	0.14	0.69	0.52-0.91	**0.009**
	≤30	57.1	Réf				

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

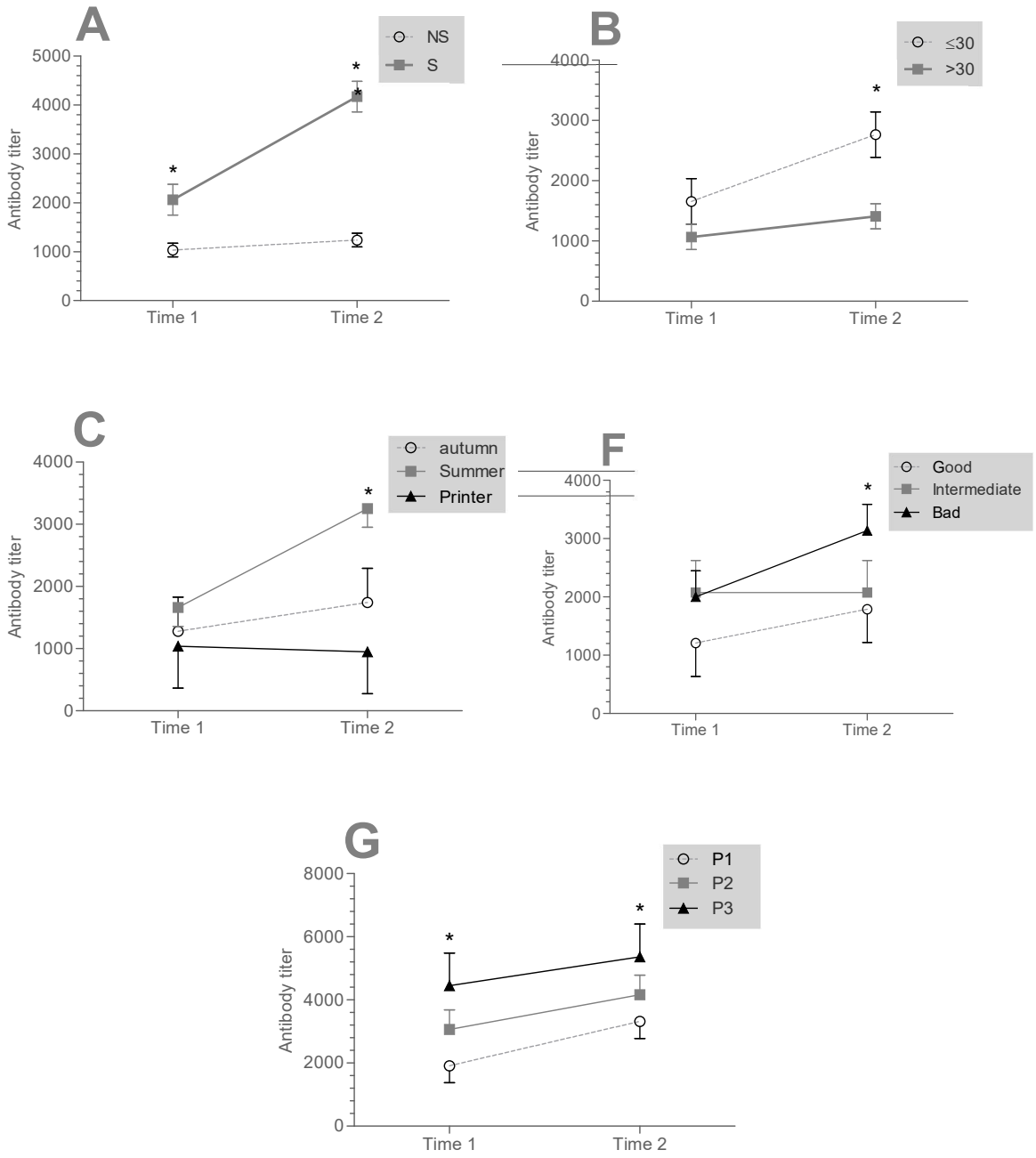


Figure 39: Effet de facteurs de risqué pour IBD (A. suspicion clinique, B. âge, C. saison, F. Hygiène, G. protocole de vaccination).

Discussion

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 IBD en élevage de poulets de chair dans les régions de wilaya de Médéa

Les résultats de la présente étude ont largement confirmé nos prévisions. Les élevages échantillonnés sont suspectés d'être infectés par des maladies virales telles qu'IBD, qui exprime 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 40% respectivement pour IBD.

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).**

Le diagnostic des maladies virales (IBD), basée sur les 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 tous les élevages

choisée 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 qu'IBD, le premier échantillon a été prélevé au début de l'infection (l'apparition des signes cliniques), le deuxième deux à trois semaines plus tard. 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). (Mayo, 2002; Aldous et al, 2001).**

V.2.Les facteurs influençant l'apparition de l'IBD :

Pour IBD, lorsque le protocole de vaccination 2 a été appliqué (un vaccin vaccinal sans rappel), les élevages étaient significativement plus sero-convertis de 48% par rapport au protocole de vaccination 3. La vaccination des oiseaux est un outil majeur pour la prévention et le contrôle de la maladie. Cependant, les vaccins traditionnels inactivés et vivants atténués souffrent d'inconvénients dus à une inactivation ou à une réversion incomplète du pathogène atténué dans la forme virulente **(Muskett et al, 1985; Gupta et al, 2014).**

En effet, le succès de la vaccination dépend également du choix de la souche vaccinale et du protocole de vaccination **(Van den Berg et al, 2000)**. L'administration du vaccin à travers l'eau est le moyen le plus utilisé dans les élevages, car il est facile, rapide et moins stressant et

moins coûteux, mais c'est le moyen le moins efficace car la réponse du système immunitaire est irrégulière et faible, elle est due à la mauvaise substance chimique, la qualité microbiologique de l'eau en plus de la présence de métaux lourds (fer, cu ... ext) qui inactivent le virus vaccinal. Ainsi, les lots primo-vaccinés avec le vaccin inactivé sont fortement protégés, ce qui souligne l'importance de la primo-vaccination **(Brigitte et al, 1997).**

les vaccins traditionnels inactivés et vivants atténués souffrent d'inconvénients dus à une inactivation ou à une réversion incomplète du pathogène atténué dans la forme virulente **(Muskett et al, 1985; Gupta et al, 2014)**. En outre, lorsque les élevages ont été échantillonnés au printemps, la séropositivité était plus élevée de 45% par rapport à l'été. La maladie de Gumboro apparaît avec une fréquence égale quelle que soit la saison **(Diallo, 1978).** Alors que Picault et al (1993) a montré que l'apparition de la maladie pendant toute l'année avec deux sommets un en Avril et en juillet. Cette étude a montré une sérologie positive quel que soit le mois qui est le même avec le précédent.

Cependant, les pools de sérums appartenant aux élevages suspectés de la maladie de Gumboro ne sont pas détectés, sauf en avril, ce qui est semblable à l'observation de Diallo et Picault, mais aussi en décembre et en janvier qui diffère avec ces observations précédentes. Par contre, la maladie de l'IBD présente une prévalence élevée pendant la saison humide et chaude **(Raveloson, 1990).**

Ainsi, les élevages ayant une mauvaise hygiène ont été plus séropositifs de 65% que celle ayant une bonne hygiène. Bien que la prévention de la maladie de l'IBD soit basée sur l'hygiène et la prophylaxie médicale. A cet effet, il important de souligner qu'aucun vaccin ne Partie expérimentale 71 peut résoudre le problème de la maladie d'IBD si les précautions d'hygiène requises ne sont pas prises, telles que le respect des méthodes de nettoyage et de la désinfection des bâtiments d'élevage ainsi le vide sanitaire **(Orsi et al , 2010).**

Les sujets âgés de plus de 30 jours étaient moins séropositifs de 30% que les plus jeunes. En effet, La maladie de Gumboro (IBD) est une maladie virale aiguë hautement contagieuse chez les jeunes poulets âgés de 3 à 6 semaines, lorsque la bourse de Fabricius atteint son développement maximal, ce qui coïncide avec l'apparition de signes cliniques au cours d'une maladie, alors que les infections avant l'âge de 3 semaines sont généralement sub-cliniques **(Van den Berg et al, 2000; Lillehoj et al, 2003; Khan et al, 2005; Hasan et al, 2010; Gupta et al, 2014) .**

Selon Khan et al (2005), elle est considérée comme la forme la plus importante de la maladie en raison des pertes économiques importantes qu'elle entraîne, y compris l'altération de la croissance et l'immunosuppression **(van den Berg et al, 2000; Guérin et al, 2008 ; Abao et al, 2015)**. La gravité des signes dépend de la souche du virus et de l'âge et de la race des poulets **(Van den Berg et al., 1991; Hasan et al, 2010).**

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 IBD était respectivement de 16,66%.

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 de problème la maladie de Gumboro dans les fermes sera grandement réduite.

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.

Références bibliographique

Références bibliographique

- **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.

- **Van den et al 2000** : la bursite infectieuse (la maladie de Gumboro) . Rev .Sci.Tech . off .Int . Epiz .2002.

- Vindevogel, H., 1992. La maladie de GUMBORO (155-163). In : Manuel de pathologies aviaires.-Maison-Alfort : ENV.-351 p.

-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-aziz arada,I. (2010),** "Elaboration d'un nouveau protocole de vaccination contre la maladie de Gumboro chez les poulets de chair". Thèse de master II, EISMV de Dakar.

adjuvants: enhancing the immune response to vaccines against infectious diseases of chicken.

-Ahmed H .Said A ;(2017) ;Enquête sur la maladie de Gumboro en élevages de poulet de chair dans les régions de Tizi Ouzou et Alger. Th :Méd. Vét.; Blida 1 .

-**Aldous, E. W., Alexander, D.J. (2001).** Detection and differentiation of Newcastle disease

-**Alexander, D. J. (2003).** Newcastle disease, other avian paramyxoviruses and pneumovirus

-**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.

-**Amine B .(2015)** :Caractérisation moléculaire des virus souvages de la maladie de Gumboro.Th : doctorat en science Batna 1.

-**Amer S . (2012)** : Le système immunitaire aviaire ; Faculté de Médecine Aviaire, Université de Montréal ; *Polycope de la PGS Université de Blida 2012*

-**AVIA .(2013)** ;Association des vétérinaires en industrie animale .

-**Bacha W.J., Bacha L.M. (2000**). Color Atlas of veterinary histology. 2nd edition Lymphatic system. Lippineatt Williams and Wilkins, U.S.A.

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

-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

-**Bruenn J. A, (1991)**. Relationships among the positive strand and double-strand RNA viruses as viewed through their RNA-dependent RNA Polymerases. Nucleic Acids Res., 19(2): 217- 226

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

-Diallo, Y.H., (1978). "Contribution à l'étude de la maladie de Gumboro au Sénégal", Th :Méd. Vét.; Dakar; 5.

-Dobos P., Hill B. J., Hallett R., Kells D. T. C., H., 1997. Biophysical and Biochemical characterization of Five Animal Viruses with Bisegmented Double-Strandeb RNA Genomes. J. Virol, 32(2): 593-605.

-Dr ;Sanjiv Kumar ;(2020) :infectious bursal disease.Power point

-Etienne.F ;(2002) ;Stratégies de prévention de la maladie de Gumboro dans les élevages semi-industriels de la région de Dakar, Sénégal", Th :Méd. Vét.;Toulouse

Expert review of vaccines, 13(7), 909-925.

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

-Guérin .J-L ;.Balloy,D ;.Didier,V .(2011): Maladies des volailles .3eme Éditions France Agricole.P52-62 ;P239-249

- Guérin J-L, Cyril B;(2008) : la maladie de Gumboro (ou bursite infectieuse) AVIcampus

-**Gupta, S. K., Deb, R, Dey, S., Chellappa, M. M. (2014).** Toll-like receptor-based

-**Harkess J. W., Alexander D. J., Pattison M., Scott A. C., 1975**. Infection Bursal Disease Agent: Morphology by Negative strain Electron Microscopy. Arch. Virol. 48: 63-73

-**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.

-http://www.alamy.com ,banque d'images

-**Hudson P. J., McKern N. M., Power B. E., Azad A. A.,(1986)**. Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal diseas virus. Nucleic Acids Res., 14 (12): 5001-5012

infectious Disease of poultry, 11th ed. Iowa State University Press Ames, 63-99.

-Isable M,Oscar J ,Enrique M et al :immunosuppressive Diseases of poultry .P.74

-**Ismail N. M., Saif Y. M., Moorhead P. D., 1988.** Lack of Pathogenicity of Five Serotype2 Infectious Bursal Disease Viruses in Chickens. Avian dis., 32:757-759

- **Julien G ;(2015)** : Rôle des effets maternels dans l'écologie des interactions hôte-parasite: Etude de la mise en place des défenses immunitaires chez un oiseau de mer colonial, la mouette tridactyle, Rissa tridactyla. Th : doctorat science Ecologie ENV Paris 6

-kevin,2015 :pharmanity.com .immunodépression

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

- Khenenou T., Melizi M., Bennoune O and Benzaoui H., 2012. Morpho-histological study of the Thymus of Broiler chicken during post-hashing age. Int.J.Poult.Sc., 11(1), 78-80.

-Khenenou T., 2008. Etude Morphometrique et Histologique des Organes Lymphoïdes (Bourse de Fabricius, Thymus, Rate) chez le Poulet de Chair Pendant la Vie Postnatale. Mémoire de magister.vétérinaire, Batna.

-**Kibenge F. S. B., Dhillon A. S., Russell R. G., 1988**. Biochemistry and Immunology of Infectious Bursal Disease Virus. J. Gen. Virol., 69: 1757-1775

-Laboratoire Service International (L.S.I.)(1994):Protocole opératoire du Kit ELISA Gumboro K..P.L. Savigny

-Lasher H. N., Davis V. S., 1997. History of Infectious Bursal Disease in the U.S.A.- The First Two Decades. Avian dis., 41:11

-Lillehoj, H. S., Dalloul, R. A., Min, W. (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).

-**Lukert P. D., Davis R. B., 1974**. Infectious Bursal Disease Virus: Growth and Characterization in Cell Cultures. Avian dis., 18 (2): 243-250

-Mamitiana R ;2011;Facteurs influençant la réponse immunitaire humorale suite à la vaccination avec un vaccin vivant contre la maladie de Gumboro chez le poulet de chair .Montréal

-**Manuelle terrestre de l'oie 2008** :organisation demondiale de la santé 6eme édition volume 1

-Mayo, M. A. (2002). Virus taxonomy Houston. Arch. Virol, 147, 1071-1076.

-**McLelland J.,(1990).** A coulour atlas of avian anatomy. Wolfe publishing Ltd. England.

-**Meulemans et al.(1974)** : comparaision des testes ELISA et de la seroneutralisation pour la recherche d'anticorps contre le virus de la maladie de Gumboro

-**Moustapha.A. ;(2004);**Incidence économique de la maladie de Gumboro sur les performances des poules pondeuses : cas des poules élevées en cage dans la région de Dakar Th :Méd. Vét.; Dakar

-**Muller H., Becht H., 1982**. Biosynthesis of Virus-Specific Proteins in Cells Infected with Infectious Bursal Disease Virus and Their Significance as Structural Elements for Infectious Virus and Incomplete Particles J. Virol., 44(1): 384-392

-**Muller H., Scholtissek C., Becht H.., 1979**. The Genome of Infectious Bursal Disease Virus Consists of Two Segments of Double-Stranded RNA. J. Virol., 31 (3): 584-589

-Mundt E., Beyer J. I and Miiller H., 1995. Identification of a novel viral protein in infectious bursal disease virus-infected cells. J. Gen. Virol., 76: 437-443

-**Muskett, J. C., Reed, N. E., Thornton, D. H. (1985).** Increased virulence of an infectious bursal disease live virus vaccine after passage in chicks. Vaccine, 3, 309-12.

-Nadir A,Sacia S.(2020) ; Immunopathologie des volailles caractéristique de la bourse Fabricius chez volailles ,P 5,6,19

-Orsi, M. A., Doretto, Jr. L., Camillo, S. C. A., Reischak, D., Ribeiro, S. A. M., Ramazzoti, A., Mendonça, A. O., Spilki, F. R, Buzinaro, M. G., Ferreira, H. L., Arns, C. W. (2010). Prevalence of newcastle disease virus in broiler chickens (gallusgallus) in brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 41, 349-357

- Pringle C. R., 1999. The Universal System of Virus Taxonomy, updated to include The new proposals ratified by the International committee on Taxonomy of Viruses Durinng. Arch. 144(2): 421-429.

-Pastoret P., Gzovaerts A., Basin H., 1990. Immunologie animale. Flammarion. 740p

-Perrenot, N .J. P.(2007), "Evaluation du virus myxomateux en tant que vecteur vaccinal chez les volailles". mémoire de Dr vétérinaire, ENV Toulouse, TOU 3, (2007) ,40- 41. 69.

-**Picault, J. P., Lecoq, H., Guittet, M., Bennejean, G. (1993).** Poultry technical science, 4,3749.

-**Raveloson, C. (1990).** Situation and constraints of village poultry farming in Madagascar (135-138). CTA-Seminar proceedings on small-holder rural poultry production Thessaloniki, Greece, 2, 9-13.

-Rudd M. F., Heine H. G., Sapats S. I., Parede L., Ignjatovic J.,(2002). Characterisation of an Indonesian very virulent strain of infectious bursal disease virus. Arch. Virol., 147: 1303-1322

-**Saville P.(1999)** :Bursite infectieuse (Santé animale : Fiche technique N°2\ COMMUNAUTÉ du PACIFIQUE/Secretariat)

-Sellam.k .(2001) ; vaccination contre la maladie de Gumboro : Essai clinique terrain du bursamune in ovo.Toulouse

-Stewart-Brown B. ; Grieve D. ; HEnITS M.(1993) : La Maladie de Gumboro : une pathologie mondiale. L'Aviculteur, (545): 72 - 75.

-Tarek H .(2013) :effet des facteurs de l'environnement sur le développement des organes du système immunitaire chez le poulet de chair pendant la vie post-natale ;Th : doctorat en science Batna

-Thinhinane L.(2015) ;Enquête sero-epidemillogique post-vaccinale de la maladie de Gumboro en élevage avicole en region centre d'algie . th ;magistr

-Tolunay K., Yesim A., Hikmet A.,(2010). Histological and Histochimical studies on the Harderian Gland of the Osprey (Pandion haliaetus). J.Animal.Vet.Adv., 9(13), 1875- 1879.

-**Université cheikh Anta Diop de Dakar** : école inter états des sciences et médecine vétérinaire (E.I.S.M.V).

-**Van den et al (2000)** : la bursite infectieuse (la maladie de Gumboro) . Rev .Sci.Tech . off .Int . Epiz .2002.

- Vindevogel, H., (1992). La maladie de GUMBORO (155-163). In : Manuel de pathologies aviaires.-Maison-Alfort : ENV.-351 p.

-**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., Gonze, M., Meulemans, G. (1991).** Acute infectious bursal disease of poultry: isolation and characterization of a highly virulent strain. Avian Pathology, 20, 133-143.

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

virus (avian paramyxovirus type1). Avian Pathology, 30, 117– 128.

-**Wei Y., Li J., Zheng J., Xu H., Li L., Yu L.(2006)**. Genetic reassortment of infectious bursal disease virus in nature. Biochem. Bioph. Res. Co., 350: 277-287

-**Winterfield R. W., Hitchner S. B.,(1962)**. Etiology of an infectious nephritisnephrosis syndrome of chickens. Am. J. Vet. Res., 23:1273- 1279