



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Impact lésionnel de la maladie de Newcastle dans les
proventriculites hémorragiques chez le poulet de chair**

Présenté par
TALI OUMENNOUNE

Soutenu le 12/10/2016

Devant le jury :

Président :	SAIDI AMINA	MAB	ISV de Blida
Examineur :	AKKOU Madjid	MAA	ISV de Blida
Examineur :	DAHMANI ALI	MAA	ISV de Blida
Promoteur :	LOUNAS Abdelaziz	MAA	ISV de Blida

Année : 2015/2016

REMERCEIMENTS

Je remercie le Docteur, **SAIDI AMINA** Maitre assistante B à l'université SAAD DAHLAB de Blida, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Je remercie aussi le Docteur **M. AKKOU**, Maître assistant A à l'Université Saad-Dahleb de Blida, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir apporter ses compétences à notre jury.

Je remercie également le Docteur **ALI DAHMANI**, Maître assistant A à l'Université Saad-Dahleb de Blida, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Mes remerciements vont à **A. LOUNAS**, Maitre assistant A à l'université SAAD DAHLAB de Blida, pour son soutien et sa confiance, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, particulièrement :

R. KADDOUR (Ingénieur de laboratoire à ENSV d'Alger)

A. BENYEHIA (Laboratoire MSD Animal health)

H. BAKRI (MSD International laboratory, Jordan)

Sincères remerciements.

DEDICACES

A mes parents, pour m'avoir toujours encouragé et soutenu dans mes choix, pour m'avoir permis de faire ce beau métier. C'est grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui, je suis fier de vous ! Merci pour tout. Je vous aime.

A mon cher mari AZIZ.

A ma petite ange Aridj

A mes frères pour leurs encouragements,

A toute ma famille, grands et petits pour leurs encouragements,

A tous mes amies, pour leur soutien et pour les bons moments partagés ensemble.

TABLE DES MATIERES

RESUME	I
REMERCIEMENTS	II
TABLE DES MATIERES	III
LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX	IV
INTRODUCTION	1

CHAPITRE I : LA MALADIE DE NEWCASTLE

1. Définition	2
2. Historique	2
3. Répartition géographique	3
4. Etiologie	4
5. Epidémiologie	6
6. Symptômes et lésions	7
7. Diagnostic	9

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES PROVENTRICULITES HEMORRAGIQUES

1. Le proventricule	12
1.1 Structure anatomique du proventricule	12
1.2 Structure histologique du proventricule	12
2. Proventriculite transmissible	13
2.1 Définition et impact économique	13
2.2 Transmission	14
2.3 Lésions macroscopiques	15
2.4 Lésions microscopiques	15
2.5 Diagnostic différentiel	15
2.6 Historique	17

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

I. Problématique	18
II. Objectifs	18
III. Matériel et méthodes	19
1. Matériel	19
2. Méthodes	19
2.1 Protocole des prélèvements	19
2.2 Description de la technique histopathologique	20
2.3 Description de la technique I.H.A	20
IV. Résultats	21
1. Principaux résultats de l'étude	21
2. Résultats macroscopique et microscopique	24
V. Discussion	31
VI. Conclusion	34
Références bibliographiques	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° 1 : Principaux résultats de l'étude.

Tableau n° 2 : Variation du taux de positivité en fonction des résultats de l'histopathologie, de la sérologie et la combinaison des deux résultats.

Tableau n° 3 : variation du taux de positivité des élevages prélevés en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle.

LISTE DES ABREVIATIONS

H.I Test : Teste de l'inhibition de l'héماغglutination

PMV1 : paramyxovirus de type 1

NDV : Newcastle Disease Virus

PTV : proventriculite transmissible virale

MDP : maladie de la dilatation proventriculaire

PDD : Proventricular dilatation disease

CPNV : Virus de la nécrose proventriculaire du poulet

IBV: Infectieuse bronchitis virus

IBDV: Infectieuse bursit disease virus

MN: Maladie de Newcastle

HE : Hématoxyline eosine

vvND : Very virulent Newcastle disease

LISTE DES FIGURES

Figure1 : Zones hémorragiques punctiformes au niveau du proventricule.

Figure n° 2 : Représentation graphique de la variation du taux de positivité en fonction des résultats de l'histopathologie, de la sérologie et la combinaison des deux résultats.

Figure n°3 : Représentation graphique de la variation du taux de positivité des élevages prélevés en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle.

RESUME

Les proventriculites hémorragiques présentent un problème majeur pour les aviculteurs et les vétérinaires praticiens. Ces derniers jours beaucoup de cas sont signalés dans des élevages de poulet de chair vaccinés ou non contre la maladie de Newcastle avec suspicions de manifestation clinique de la forme vélogène viscérotrope de la maladie de Newcastle.

En vu de déterminer la part de la maladie de Newcastle dans l'apparition des cas cliniques de proventriculite hémorragique chez le poulet de chair, une étude histopathologique et sérologique par H.I Test a été réalisée.

Les résultats de cette étude confirment l'importance du virus de la maladie de Newcastle dans l'apparition des proventriculites hémorragiques chez le poulet de chair où la moitié des prélèvements était positive (50%).

Mots clés : Proventriculite hémorragique, maladie de Newcastle, poulet de chair, histopathologie, sérologie.

INTRODUCTION

La production de poulet de chair est la plus importante production mondiale de volailles destinées à la consommation alimentaire .L'élevage industrialisé se pratique à travers le monde, pour une production mondiale annuelle de 86,2 millions de tonnes (Office de l'élevage, 2008). En Algérie et durant ces dernières années la production de poulet de chair est en augmentation importante suite au prix qui est a la porté du le pouvoir d'achat, par rapport aux autres viandes.

Cette production animale intensive est assujettie à de nombreuses contraintes zootechniques et sanitaires, face auxquelles les vétérinaires avicoles se doivent d'être particulièrement vigilants.

C'est dans ce contexte que les problèmes des proventriculites sont identifiés depuis longtemps, dans la production de volailles, malgré l'existence et l'application stricte des programmes de contrôle et de prévention sanitaire.

Plusieurs causes ont été associées à la dilatation du proventricule et à la proventriculite. Des proventriculites non infectieuses peuvent être enregistrées. Quelques agents infectieux aviaires peuvent produire des lésions proventriculaires dont les souches vélogènes du virus de la maladie de Newcastle.

Beaucoup de vétérinaires praticiens ont signalés des cas de proventriculite hémorragique dans des élevages de poulet de chair vaccinés ou non contre la maladie de Newcastle avec suspicions de manifestation clinique de la forme vélogène viscérotrope de la MN suggérant la probabilité de l'inefficacité des programmes de vaccinations actuellement entrepris sur le terrain.

Dans le but de déterminer la part de la maladie de Newcastle dans l'apparition des proventriculites hémorragiques nous avons mené une étude sérologique et histopathologique dans des élevages de poulet de chair désignés par des vétérinaires sentinelles.

1. Définition

La maladie de Newcastle est une maladie infectieuse, très contagieuse, affectant surtout les oiseaux et particulièrement les gallinacés, provoquée par toute souche aviaire du paramyxovirus de type 1 (PMV1) de la famille des Paramyxoviridae. D'après Luthgen (1981) le NDV (Newcastle Disease Virus) affecte au moins 117 espèces d'oiseaux appartenant à 17 ordres. [1]

Caractérisée par la diversité de ses formes cliniques, elle associe classiquement une atteinte de l'état général et des troubles digestifs, respiratoires et/ou nerveux, les formes les plus graves évoluant rapidement vers la mort avec des lésions de type congestif ou hémorragique. [2]

2. Historique

La maladie a été individualisée en 1927 par DOYLE qui a décrit en Grande Bretagne, une maladie très meurtrière des poules dans une ferme voisine de Newcastle où sept cents poules adultes périrent ainsi que les poussins d'âges variables. La mortalité était de 100 pour 100.

Cette maladie ressemble à la peste aviaire décrite par CENTANNI en Italie, en 1901. Mais d'après les constatations de DOYLE en 1927 la maladie de Newcastle diffère de la peste aviaire non seulement par la nature du virus mais aussi par la longueur de la période d'incubation. D'autre part DOYLE précise que la contagion et les signes respiratoires sont beaucoup plus intenses dans la maladie de Newcastle (MN).

Enfin il montre que les poules immunisées contre cette maladie, ne sont pas protégées contre le virus de la peste aviaire. DOYLE, en raison de la région où il a découvert la maladie, la dénomma maladie de Newcastle (Newcastle Disease). Dès lors, cette affection fut signalée par plusieurs auteurs et désignée sous divers noms RAMIKET disease, PHILLIPIN fowl disease, pseudo-fowl-plaque, DOYLE disease, maladie coréenne des poules, pseudo peste aviaire, peste aviaire asiatique.

A l'heure actuelle l'appellation "maladie de Newcastle" est consacrée par l'usage, en raison de la région où elle fut décrite pour la première fois.

"Depuis lors son aire d'expansion ne cesse de s'étendre aux dépens de la peste aviaire qui cède du terrain devant cette forme spéciale du contag" [3]

3. Répartition géographique

Depuis son apparition à Newcastle la maladie s'est très vite répandue dans le monde entier. Elle a été signalée dans tous les continents : Europe, Asie, Afrique, Amérique.

3.1. Continent Européen :

Il a été atteint en 1927 à partir de la Grande Bretagne où la maladie a été découverte pour la première fois par DOYLE.

MORNET rapporte que la maladie fut signalée en 1940 en Italie [4]. D'après ROHRER, elle fut décrite en Allemagne en 1941 [5]. HESS rapporte que cette maladie atteint la Suisse en 1946 [6]. Selon ALEGREN, la Suède fut frappée en 1947 [7]. D'après GUILLAUME la France fut atteinte, en 1948 [8].

3.2. Continent Africain :

La pseudo- peste aviaire ne tarda pas à atteindre le continent. Elle fut signalée successivement :

En Afrique orientale par HUDSON cité par CURASSON, au Kenya en 1937 [9].

En Afrique centrale : en 1939, au Congo Belge, actuel Zaïre par MALBRANT cité par MOYON [10] et en 1951 au Cameroun méridional d'après THORNE et MACLEOD. [11]

En Afrique du Sud en 1945, rapporté par GAGO. [12]

En Afrique du Nord en. 1947 par BALOZET et Coll. [13]

En Afrique occidentale : selon MORNET et Coll. Cette partie du continent fut atteinte en 1949 à partir de Dakar (Sénégal) où le premier foyer apparut après l'importation des oiseaux reproducteurs en provenance de la France. La maladie va très tôt se répandre dans cette région africaine : en 1950 en Côte d'Ivoire et en Haute Volta : 1954 au Dahomey (actuelle République populaire du Bénin) [14].

Selon NOYON, cette maladie a été signalée au Togo en 1950. [10]

D'après THORNE et MACLEOD. Cette maladie apparut en Gambie en 1950, en Gold Coast (Ghana) en 1951 et en 1953 au Nigéria. Elle est signalée en 1953 en Sierra Léone. [11]

3.3. Continent Asiatique :

La maladie de Newcastle fut décrite en Indonésie presque en même temps qu'en Grande Bretagne, en 1926 par KRANVELED cité par JANSEN [15]. Elle fit très rapidement tâche d'huile dans la zone. Selon ROHRER cette peste asiatique a été identifiée successivement en 1927 aux Indes, en 1928 dans les Iles Philippines, en 1929 en Corée par KONNO et Coll. cité par ROHRER, en 1932-1934 au Japon, puis un peu plus tard en Chine, en Australie, en Malaisie, en Birmanie, à Ceylan. [5]

3.4. Continent Américain :

D'après ROHRER le continent nord-américain serait atteint depuis 1935 par cette maladie et vers 1940 l'ensemble du continent était envahi. [5] Selon WALTER la maladie atteint le Canada en 1948. [16]

4. Etiologie

4.1. Classification

Le NDV est un virus enveloppé qui fait partie du genre récemment décrit des Avulavirus appartenant à la famille des Paramyxoviridae [17]. Cette famille de virus se caractérise par une capsid de symétrie hélicoïdale et par un ARN monocaténaire non segmenté de polarité négative. Neuf sérotypes ont été identifiés au sein des paramyxovirus aviaires (APMV- 1 à APMV-9), le NDV appartenant au sérotype 1. Ce virus présente de grandes diversités génétiques, ces dernières étant associées à l'origine spatio-temporelle ainsi qu'à l'espèce hôte des différentes souches. Ainsi, le séquençage du gène de la protéine de fusion F a permis d'identifier au moins six lignées distinctes de NDV (lignées 1 à 6) [18], tandis que l'analyse génétique complète du génome a révélé l'existence de deux divisions majeures, à savoir les classes I et II, la seconde classe pouvant être subdivisée en huit génotypes (génotype I à VIII) [19]. Bien que toutes les souches de NDV appartiennent au même sérotype (APMV-1), ces variations génétiques pourraient avoir un impact sur l'antigénicité et donc sur l'efficacité des campagnes de vaccination. [20]

4.2. Pouvoir pathogène

La MN peut se présenter sous trois formes différentes – lentogénique, mésogénique et vélogénique – selon la souche du virus. La forme vélogénique de la maladie (MNFE) fait l'objet d'une déclaration obligatoire. [21]

Il existe une relation entre la structure de la glycoprotéine de fusion (F) de l'enveloppe virale (protéine permettant notamment la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane

cellulaire, donc la pénétration de la nucléocapside dans la cellule) et la virulence. La virulence est généralement conditionnée par la présence d'acides aminés basiques multiples dans la zone de clivage de cette protéine ;

Durant la réplication, les particules virales sont produites avec une glycoprotéine de fusion F0 (précurseur) qui doit être clivée pour qu'elles deviennent infectieuses. Ce clivage, en deux protéines F1 et F2, est réalisé par les protéases de la cellule hôte. La facilité de ce clivage est étroitement liée à la virulence. Les souches pathogènes pour le poulet disposent d'une F0 facilement clivable par les protéases de l'hôte présentes dans de nombreuses variétés de tissus et cellules, ce qui permet une infection systémique grave. La F0 des souches de faible virulence n'est clivable que par certaines enzymes, ce qui restreint leur réplication aux tissus possédant les enzymes correspondants, en particulier les tractus digestifs et respiratoires.

Cette différence est conditionnée par la nature des acides aminés au site de clivage de F0 : les souches virulentes possèdent des AA basiques multiples (au moins trois AA tels que arginine ou lysine) dans la partie C-terminale de la protéine F2 et une phénylalanine dans la partie N-terminale de la protéine F1.[22]

4.3 Pouvoir Antigène Et Immunogène

4.3.1 Pouvoir antigène

La multiplication du virus chez l'oiseau provoque l'apparition d'anticorps décelés par les méthodes classiques, notamment l'IHA test. Le pouvoir antigène est unique :

- Malgré quelques différences de détail toutes les souches appartiennent au même sérotype PMV1.
 - Le pouvoir antigène est assez spécifique malgré des réactions croisées avec d'autres PMV.
- [23]

4.3.2 Pouvoir immunogène

Reposant surtout sur une réaction de type humoral. Le degré d'immunité peut être apprécié par titrage des anticorps neutralisants ou, en pratique, par titrage des anticorps IHA.[22]

4.3.3 Le pouvoir Hémagglutinant

Les spicules de protéine HN peuvent réagir avec des récepteurs de la surface des érythrocytes en provoquant une agglutination. Érythrocytes de poule + virus = Hémagglutination (= HA).

Des anticorps spécifiques de ces spicules protéiques provoquent l'inhibition de l'hémagglutination : IHA, c'est l'IHA test. [23]

5. Epidémiologie

5.1 Sources du virus

De nombreux oiseaux domestiques et sauvages sont sensibles. Ils peuvent constituer des sources de virus [24], qu'ils soient malades, porteurs précoces, porteurs chroniques ou porteurs sains. Le virus se dissémine pendant la phase d'incubation, pendant la phase clinique, et pendant une période variable mais limitée de la convalescence (jusqu'à deux mois après guérison) [25]. Il a même été montré que certains Psittacidés excrètent des virus par intermittence pendant plus d'un an. Les animaux vaccinés sont également sources de virus [26].

Les étourneaux, les moineaux, les tourterelles peuvent être considérées comme d'éventuels vecteurs de virus. Ainsi, la caractérisation du virus P.M.V.-1 ayant causé l'épidémie de mai 1996 en Grande-Bretagne sur des faisans a montré de fortes similitudes avec des isolements viraux réalisés sur pigeons et colombes des environs, ce qui laisse supposer une transmission à partir de ces oiseaux sauvages infectés [27]. Le canard Colvert, ainsi que diverses espèces d'Anatidés, peuvent également propager le virus sans présenter de symptômes. Il est d'ailleurs déconseillé d'élever du gibier à plumes et du canard sur le même site. Par ailleurs, certains mammifères, comme les petits rongeurs, joueraient un rôle de transporteur passif du virus [28].

5.2. Résistance

Le virus résiste 2 à 3 mois sur le sol du poulailler, 7 à 8 mois sur une coquille souillée, plus de 2 ans sur une carcasse congelée. Sa résistance élevée est à l'origine de sa persistance dans les locaux d'élevage, les matières fécales et sur le matériel contaminé ainsi que les produits d'origine aviaire. Il est inactivé à une température de 56°C pendant 3 heures ou à 60°C pendant 30 minutes. De l'alcool à 70°, des solutions de soude à 2 %, de crésyl à 1 %, d'ammonium quaternaire à 0,1 % détruisent le virus en 5 minutes à +20°C. Un pH bas, le formol et le phénol l'inactivent également. Il est aussi sensible à l'éther [29].

5.3. Transmission

Le virus se propage d'un oiseau à l'autre par la voie respiratoire, ou par la voie digestive.

La contamination au couvoir est possible, lorsque les œufs se cassent, ou par l'intermédiaire des coquilles souillées [25].

La transmission horizontale peut se faire directement (contacts, aérosols...), ou indirectement par les locaux, le matériel, les caisses non désinfectées, les bottes, les vêtements, de l'eau ou de la nourriture contaminée par des oiseaux sauvages tels que des pigeons [27].

5.4. Sensibilité

La sensibilité au paramyxovirus de type 1 est très variable selon l'espèce envisagée. Les poulets et les dindes sont les espèces aviaires les plus touchées par la maladie de Newcastle mais de nombreuses espèces d'oiseaux sauvages et domestiques peuvent la contracter. Depuis son isolement initial en 1926 en Indonésie, le virus a été isolé dans 117 espèces différentes d'oiseaux. L'âge intervient également sur la sensibilité : les jeunes sont plus sensibles [30]

6. Symptômes et lésions

6.1 Symptômes

Variables selon la virulence de la souche (intensité, tropisme), l'espèce hôte et le sujet infecté (immunité résiduelle...)

- Formes suraiguës : symptômes généraux (abattement, inappétence, plumes ébouriffées...) et mort en 24-48 heures.

- Formes aiguës : les plus caractéristiques sont dues à des souches viscérotropes. Elles débutent par une atteinte de l'état général (abattement...) rapidement associée à des symptômes digestifs (diarrhée verdâtre), respiratoires (catarrhe oculonasal, dyspnée, étternuements), nerveux (convulsions, troubles de l'équilibre, paralysies diverses...), cutanés (congestion ou œdème de la crête et des barbillons, hémorragies) diversement associés et à une chute de ponte.

Les symptômes s'aggravent et la mort survient en 3 à 4 jours. Guérison possible avec séquelles nerveuses fréquentes (paralysies...) et anomalies de ponte.

- Formes subaiguës et chroniques : évolution prolongée avec signes généraux discrets et symptômes locaux essentiellement respiratoires (catarrhe oculonasal...) associés à une chute de ponte (avec œufs plus petits, blanchâtres, hémorragies vitellines). Parfois chute de ponte isolée sur des effectifs ayant une immunité vaccinale résiduelle insuffisante (atteinte de la grippe ovarienne). Formes paralytiques possibles, notamment chez certaines espèces (faisans...).

- Formes asymptomatiques : fréquentes. [2]

6.2. Lésions

6.2.1. Macroscopiques

- Lésions ni constantes, ni spécifiques, décrites essentiellement dans les formes aiguës dues à des souches vélogènes viscérotropes :

-Hémorragies localisées au tube digestif (ventricule succenturié, gésier, intestin, en particulier cæcums et cloaque) associées éventuellement à des ulcères recouverts d'un magma fibrinonécrotique, localisés aux formations lymphoïdes (amygdales cæcales...).

-Lésions congestives ou hémorragiques localisées aux séreuses, coeur, trachée, poumon, grappes ovariennes... [2]

Proventricule peut présenter des zones hémorragiques punctiformes placées au sommet des papilles glandulaires lors de la maladie de Newcastle (figure1).



Figure1 : Zones hémorragiques punctiformes au niveau du proventricule [31]

6.2.2. Microscopiques

Lésions d'encéphalite virale, nécrose de l'épithélium respiratoire avec inclusions intracytoplasmiques, selon la localisation virale. [2]

7. Diagnostic

7.1. Epidémiologie-clinique

La pathogénie des souches de virus de la maladie de Newcastle varie énormément avec l'hôte. Mortalité et morbidité engendrées dépendent aussi du type de souche [32]. Les symptômes sont divers et peuvent concerner tous les appareils (digestif, respiratoire, nerveux). Le tableau lésionnel est évocateur en cas d'atteinte par une souche vélogène viscérotrope, il est plus fruste voire absent dans les autres cas [25]. Aucune lésion macroscopique n'est pathognomonique. Le diagnostic doit donc dans tous les cas être confirmé par méthode expérimentale.

7.2. De laboratoire

7.2.1 Sérologique (en 24 heures)

Les anticorps ne sont détectables qu'après 7 jours d'infection chez le poulet, ce qui peut poser des problèmes d'interprétation. Ils passent par un pic à 2-3 semaines puis disparaissent en quelques mois [33]. Quinze à vingt prélèvements de sang sont à réaliser sur tube sec. L'analyse se fait par :

***α*- Recherche des anticorps par inhibition de l'hémagglutination (I.H.A.) [34]**

L'I.H.A. permet le diagnostic de la maladie de Newcastle et informe sur la valeur de l'immunité vaccinale [25]. C'est une technique de référence en sérologie.

Cette méthode tire parti du fait que certains virus, comme le paramyxovirus de la maladie de Newcastle, agglutinent les hématies des volailles. Si on ajoute à la préparation virale un sérum anti-virus (donc porteur d'anticorps) l'agglutination est inhibée, parce que les anticorps se sont fixés sur les antigènes viraux.

Pour le test I.H.A. appliqué à la maladie de Newcastle, on utilise une micro-méthode compatible avec la réalisation de grandes séries. On calcule le titre du virus de référence (une U.H.A. = unité hémagglutinante = 1 volume de 0,025 ml). Le sérum est prélevé après coagulation. Il faut un volume au moins égal à 250 µL. Il peut être utilisé frais ou congelé. Virus et sérum sont mis en contact pendant 20 minutes à la température du laboratoire. On introduit des hématies de poulet (suspension à 1 %). La plaque est agitée et la lecture faite 30 minutes plus tard. On utilise des cupules témoins pour pouvoir qualifier l'échantillon testé. Dans la cupule témoin-virus, l'hémagglutination est totale, c'est le témoin positif. Dans les cupules témoins-sérum+hématies, il n'y a pas d'hémagglutination.

On teste des dilutions croissantes de sérum. Le titre obtenu pour le sérum étudié est déterminé par la dilution la plus élevée où est observée l'inhibition complète de Dans le cas par exemple de l'évaluation d'une protection vaccinale, on estime que plus le taux de dilution est élevé, meilleure est la protection, car cela signifie qu'il y a plus d'anticorps au départ. On considère qu'au-delà de 1/16 la protection est bonne. Un échantillon est considéré comme positif s'il y a inhibition de l'héماغglutination à partir d'une dilution 1/16. On doit noter l'utilisation courante de la notation en Log 2 .

- **une souche sauvage** provoque chez les poulets un taux moyen d'anticorps supérieur à 9 Log 2 [35]. Chez les faisans, une étude sérologique sur des oiseaux non vaccinés contre la maladie de Newcastle a montré des positivités de 6 à 8 Log 2 en I.H.A., sans excrétion virale associée, sur des lots présentant des problèmes de grosses têtes ou des troubles de ponte. Ces troubles étaient également associés à des positivités en bronchite infectieuse et rate marbrée [36].

- **un vaccin vivant** permet d'obtenir un taux moyen d'anticorps de 3 à 6 Log 2 [37]. Plus précisément, avec un vaccin vivant administré deux fois à 16 jours d'intervalle par instillation sur des poulets S.P.F., les titres I.H.A. en anticorps sont de 3,3 Log 2 en moyenne avec une souche H.B1, et de 3,2 Log 2 avec la souche VG/GA, 13 jours après la deuxième administration vaccinale [38].

- **un vaccin inactivé** établit un taux moyen >8 Log 2. Des titres très élevés peuvent être atteints durant plusieurs semaines [25]. Ils sont d'autant plus importants que les animaux ont été pré-exposés à un vaccin vivant atténué moins d'un mois avant injection [39].

Maas et al. ont établi qu'une valeur minimum de 4 Log 2 était requise pour obtenir plus de 60% de poulets protégés suite à l'inoculation intramusculaire de la souche Herts du paramyxovirus de type 1 [40].

b-ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

• L'ELISA indirecte

- Les anticorps du sérum se fixent sur l'antigène fixé sur les cupules. Un conjugué anti-IgY (ou anti-IgG) spécifique d'espèce, marqué par une peroxydase, est ajouté. La distribution d'un substrat de l'enzyme développe une coloration. Elle signifie que l'échantillon est positif. La densité optique de la solution (D.O.), mesurée à 450 nm par un lecteur de microplaques, permet une approche quantitative du titre en anticorps. La méthode est dite indirecte car elle met en évidence les immunoglobulines spécifiques de l'antigène recherché.

- Avec un coefficient de corrélation de 0,7498, la méthode ELISA classique reste proche des résultats de l'I.H.A. Le laboratoire L.S.I. propose ainsi des tables de correspondance quantitative ELISA indirecte/I.H.A., et établit des groupes de titres de 1 à 14. Différents profils sérologiques sont attendus selon les situations. [41]

• L'ELISA Compétition ou ELISA blocking

Il s'agit d'une méthode ELISA indirecte.

Les échantillons (sérums) se fixent toujours sur l'antigène et occupent les sites antigéniques. En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, les sites antigéniques restent libres. Le conjugué (anticorps monoclonal anti-NJD.V. marqué à la peroxydase) ensuite ajouté se fixe cette fois sur les sites antigéniques restés libres. Enfin, le substrat permet de colorer les anticorps anti-paramyxovirus. Cette méthode a l'avantage de détecter indirectement les anticorps du virus de la maladie de Newcastle chez l'ensemble des espèces aviaires puisqu'elle utilise des anticorps révélateurs se fixant sur l'antigène viral, et non sur des anticorps spécifiques d'espèce. Elle révèle tous les types d'anticorps complémentaires du virus. [41]

7.2.2 Moléculaire, par RT-PCR :

Il existe d'autres techniques de détection très fiables dont l'utilisation est maintenant mise en œuvre par le L.N.R.. La détection moléculaire par R.T.-P.C.R. est fondée sur la détection de fragments de génome du virus. Les séquences d'acides nucléiques sont ensuite comparées avec celles du virus de la maladie de Newcastle déjà connues au plan international.[42]

1. le proventricule :

1.1 Structure anatomique du proventricule :

Le proventricule ou l'estomac glandulaire est un organe fusiforme se situ dorsalement au foie et entre l'œsophage et le gésier. Il est approximativement de 4-5 cm de long et de 2 cm de diamètre chez une volaille adulte. La lumière est étroite et les couches épaisses de la paroi sont composées généralement de glandes tubulaires [43]. La fonction primaire du proventricule est la production puis la sécrétion du suc gastrique, la pepsine, l'acide hydrochlorique et le mucus. Les aliments qui passent à travers le proventricule vont arrivés au gésier où les sécrétions gastriques agissent [44].

1.2 Structure histologique du proventricule :

La paroi du proventricule consiste en quatre couches : la muqueuse, la sous muqueuse, la tunique musculaire et la séreuse [45]. Cet estomac glandulaire comporte les mêmes tuniques que chez les mammifères.

1.2.1 Muqueuse :

La muqueuse est tapissée par un épithélium cylindrique simple mucosécrétant, s'invaginant en cryptes au fond desquelles s'ouvrent des glandes tubuleuses contournées, constituées de cellules claires (à sécrétion également muqueuse). La surface de l'épithélium (côté lumière de l'organe) est recouverte d'un film de mucus. Le chorion, bien vascularisé, est riche en éléments lymphoïdes. La musculaire muqueuse est présente : 2 assises musculaires lisses s'y distinguent, l'interne circulaire et l'externe longitudinale.

1.2.2 Sous-muqueuse :

Cette couche est caractérisée par la présence d'énormes glandes composées qui la déforme : les glandes gastriques. Ces dernières forment des lobules polymorphes dans la sous muqueuse, cernés chacun par une capsule conjonctive enrichie en fibres élastiques et parfois de quelques cellules musculaires lisses. L'importance de ces glandes varie selon le régime alimentaire : ainsi les lobules sont très grands mais peu nombreux chez les frugivores tandis qu'ils sont petits mais très nombreux chez les carnivores (rapaces). Indépendamment de ces variations morphologiques spécifiques, la structure de ces glandes est constante chez tous les oiseaux. Chaque lobule est constitué de glandes tubulaires ramifiées disposées radialement autour d'une cavité centrale à lumière importante dans laquelle elles s'ouvrent par un court

canal excréteur : - les glandes sont bordées par une assise de cellules cubiques à pôles apicaux dissociés (artéfact de fixation) : ce sont, comme chez les poissons, des cellules « oxynticopeptiques » (sécrétion à la fois d'HCl et de pepsinogène). Leur ultrastructure est très caractéristique : elles possèdent des replis membranaires basaux, une grande richesse en mitochondries et du réticulum lisse en abondance, c'est-à-dire des structures typiques des cellules échangeuses d'ions ; elles ont également un appareil de synthèse raisonnablement développé (réticulum rugueux, Golgi, grains zymogènes), comme les cellules impliquées dans des sécrétions séreuses. Il est à noter que l'activité de sécrétion de pepsine est plus développée dans le proventricule des oiseaux carnivores que dans celle des oiseaux omnivores ; - les petits canaux excréteurs, marquent la transition entre les glandes et l'épithélium de la cavité centrale ; ils sont tapissés par une assise de cellules cylindriques mucosécrétantes, en continuité avec l'épithélium de la cavité centrale ; - la cavité centrale doit être considérée comme un canal excréteur secondaire ; - les différentes cavités ou canaux excréteurs secondaires se rejoignent en un gros canal excréteur , le canal collecteur principal, dont la paroi plissée en accordéon, est de même structure histologique que celle des canaux excréteurs secondaires. Ce canal principal traverse la muqueuse en la soulevant et vient finalement s'ouvrir au niveau d'une papille dans la lumière de l'estomac. Ces papilles qui font plus ou moins saillie, se remarquent très bien à l'œil nu lorsqu'on observe au cours d'une dissection, la paroi interne du ventricule succenturié.

1.2.3 Musculaire :

Elle est triple : l'assise interne très épaisse est constituée de cellules musculaires lisses à disposition circulaire ; l'assise médiane, également épaisse présente des fibres à orientation longitudinale tandis que dans l'assise externe, plus mince, les fibres adoptent une disposition transversale. De nombreux plexus nerveux se retrouvent entre les assises musculaires.

1.2.4 Tunique externe :

C'est une séreuse car recouverte par le péritoine.

2. Proventriculite transmissible :

2.1 Définition et impact économique :

La proventriculite transmissible est une maladie infectieuse des volailles d'étiologie inconnue [46]. Elle est caractérisée par la dilatation et l'atonie du proventricule qui est

remplie par l'aliment et les liquides [47, 48, 49, 50]. L'isthme qui connecte le proventricule et le gésier est dilaté.

L'impact économique des proventriculites est généralement due à la condamnation des carcasses contaminées suite à la rupture du proventricule lors de l'éviscération de routine [47, 50]. La contamination est une autre cause de condamnation des poulets lors de transformation suite à la septicémie et d'aérosacculites aux états unis.

La proventriculite est plus sévère chez les jeunes volailles (4-5 semaines d'âge) et elle est associée avec un retard de croissance, indice de conversion médiocre, fragilité intestinale, syndrome de mal absorption et passage d'aliment non digéré [51, 52, 50, 53, 54].

Malgré que l'industrie de volaille a connu des manifestations sporadique des proventriculites, elles étaient économiquement importante [50]. D'autre part, les poulets de chair à travers le monde ont été touchés par des manifestations d'une maladie caractérisée par au moins d'une dilatation du proventricule. Des lésions relatives au proventriculites transmissibles ont été décrites en détaille seulement aux Etats unies [48, 49, 50], Pays bas [53], et à l'Australie [55].

Les informations sur la prévalence définitive, l'incidence et la distribution des proventriculites transmissible sont manquantes.

2.2 Transmission :

La voie d'infection naturelle est inconnue. Cependant, des volailles pourraient être infectées expérimentalement par inoculation orale d'homogénat préparé à partir des Proventricules des volailles présentant des proventriculites [47, 49, 50, 55].

Du moment ou la maladie est reproduit par des infiltrats d'homogénat proventriculaire (0.2 μm) un virus a été suspecté comme agent étiologique et par conséquence la maladie a été nommée proventriculite transmissible virale (PTV). Par contre, la sévérité des lésions et les effets sur la production sont plus sévère chez les volailles traités par des homogénats infiltrés suggérant l'effet additif des autres agents infectieux concomitant [50].

2.3 Lésions macroscopiques :

Les lésions macroscopiques varient d'un aspect marbré légèrement pâle à une pâleur diffuse de la séreuse proventriculaire associé à une dilatation légère à sévère du proventricule. La paroi et la muqueuse du proventricule peuvent être épaissies.

2.4 Lésions microscopiques :

Il y a la nécrose des cellules alvéolaires sécrétrices de pepsinogène et d'acide hydrochlorique. Ces cellules ont un cytoplasme amorphe, granulaire et vacuolisé et une condensation, fragmentation ou lyse nucléaire [46].

Les lésions microscopiques varient de la nécrose aiguë de l'épithélium glandulaire associée à une infiltration diffuse interstitielle de lymphocytes dans les phases aiguës, à l'hyperplasie épithéliale canalaire, au remplacement de l'épithélium glandulaire par un épithélium canalaire et à la formation de nodules lymphoïdes dans les cas subaigus à chroniques. L'immunohistochimie a montré la présence de l'antigène viral dans le cytoplasme des cellules glandulaires et, dans une certaine mesure, dans l'épithélium de la muqueuse du proventricule

2.5 Diagnostic différentiel :

Plusieurs causes ont été associées à la dilatation du proventricule et à la proventriculite. Des proventriculites non infectieuses peuvent être produites par exposition orale aux toxiques chimiques tels que les amines biogéniques [56, 57, 58, 59], aux mycotoxines [60, 61] qui couramment contaminent les aliments des volailles. Un aliment pauvre en fibres a été montré comme cause de fragilité et de lésions proventriculaire [57, 62]. Des niveaux élevés en sulfate de cuivre dans les aliments de volailles utilisés comme stimulant de la croissance pourraient provoquer l'hypertrophie du proventricule [63, 64].

Quelques agents infectieux aviaires peuvent produire des lésions proventriculaires. Des souches vélogènes du virus de la maladie de Newcastle peuvent produire des hémorragies dans la muqueuse proventriculaire [65]. De même, le virus hautement pathogène de l'influenza aviaire [66]. L'infection par le virus réticuloendothélial peut causer des infiltrats de cellules néoplasiques dans le proventricule ressemblant à une inflammation non purulente [67]. L'augmentation du nombre des follicules lymphoïdes dans la musculature du

proventricule est pathognomonique d'une infection par le virus de l'encéphalomyélite aviaire [68].

La maladie de la dilatation proventriculaire (MDP) (Proventricular dilatation disease ou PDD) est l'une des maladies les plus courantes et mortelles des psittacidés, elle est caractérisée par la dilatation du proventricule, l'anorexie, la régurgitation, passage d'aliment non digéré dans les fientes, diarrhée, signes neurologiques, retard de croissance, ...etc. l'étiologie est inconnue mais il est présumé d'être un virus. Dans MDP il y a accumulation des lymphocytes et des cellules plasmiques dans le système nerveux autonome spécialement les nerfs du proventricule et des autres organes digestifs. En association ou indépendamment des signes digestifs, des signes d'atteinte du système nerveux central pourraient se manifester tels que l'ataxie, tremblement de la tête...etc. [69].

Un très large nombre de Gram positive microorganismes à été trouvé associé avec des proventriculites chez les canaries, Autriches et récemment chez les poulets [70, 71, 72, 73].

Ils sont appelés « Mégabactérium » anciennement nommés *Macrohabdus ornithogaster* colonisant la zone 'isthme' entre le proventricule et le gésier [70].

D'autres bactéries telles que *Helicobacter pullorum* est aussi trouvée dans les voies digestives de 60% des poulets testés [74]. Le rôle de cette bactérie dans l'apparition des proventriculites est inconnu. Elle pourrait avoir un effet pathogénique dans les proventriculites potentialisé par d'autres agents infectieux, chimiques ou immunosuppresseurs.

La cryptosporidiose proventriculaire a été rapportée chez les poulets. La colonisation muqueuse par *Cryptosporidium* est accompagnée par une inflammation et une exfoliation des cellules épithéliales parasitées.

Des manifestations de proventriculites associées aux *Dispharynx nasuta*, *Tetrameres americana*, *T. crami*, et *T. fisispina* ont été rapportées chez le poulet [75, 76].

Des proventriculites traumatiques peuvent, aussi, apparaître suite à l'ingestion des corps étrangers et des surinfections bactériennes secondaires peuvent se manifester [77].

2.6 Historique :

Initialement, la proventriculite transmissible a été décrite comme l'une des lésions associées au syndrome de mal absorption [52]. Ces syndromes entraînent des retards de croissance, une faible conversion alimentaire chez les jeunes poulets. Les agents causaux de ces syndromes n'ont pas encore été identifiés avec certitude. Par exemple, des cas de syndrome de mal absorption pourraient avoir ou non des lésions de proventriculaires [78].

Certains auteurs ont suggéré l'implication des bactéries et des virus dans l'étiologie du syndrome de mal absorption [54, 79]. Shapiro et Nir [80] ont rapportés dans un même cas la dilation du proventricule et la diminution du poids corporel chez des poulets infectés par des homogénats intestinal brut des poulets affectés par le syndrome de retard de croissance.

Les reovirus ont été fortement impliqués comme agent causatif des lésions proventriculaires présentes dans certains troupeaux affectés naturellement par le syndrome de mal absorption [79]. Des proventriculites ont été reproduites par l'inoculation de deux isolats de reovirus à partir des intestins de poulets souffrant du syndrome de mal absorption [54].

Une étude comparative de la pathogénicité de 5 homogénats différents de syndrome de mal absorption conduite en Pays-Bas et en Allemagne a pu distinguer les groupes de poulets inoculés par leurs lésions histopathologiques : Proventriculite, lésions intestinales seulement, ou la combinaison des deux lésions [78]. Les lésions de l'intestin grêle avaient plus d'impact que les lésions proventriculaires sur la diminution du gain de poids. Des particules de *Reovirus* et d'*enterovirus-like* ont été détectées dans les groupes inoculés. De même pour des bactériophages et des bactéries (*E. coli* hémolytique, *Pasteurella hemolytica* et *Enterococcus durans*) qui ont été isolés de ces mêmes groupes de poulets inoculés. Le rôle individuel que joue chacun de ces agents pathogènes dans la pathogénie du syndrome de mal absorption est encore inconnu [78].

Des proventriculites modérées ont été aussi reproduites expérimentalement chez des poulets infectés par des isolats d'adénovirus [53, 81]. D'autre part, ce virus n'a pas été couramment isolé à partir des proventricules malades. Des isolats du virus de la bronchite infectieuse aviaire obtenus à partir des manifestations cliniques à la Chine ont produit des lésions proventriculaires chez les poulets infectés. Leurs proventricules étaient dilatés avec une muqueuse épaisse recouverte d'un liquide blanchâtre visqueux [82].

I. Problématique :

La lésion de dilatation du proventricule est souvent attribuée au proventriculite. Cependant, le terme proventriculite pourrait seulement être utilisé correctement quand il y a une preuve Microscopique d'inflammation de la glande du proventricule. Parfois cette proventriculite est associée avec une hémorragie désignant une proventriculite hémorragique.

L'étiologie de proventriculite est actuellement inconnu, malgré que des études récentes l'ont attribuée a un nouveau Birnavirus découvert chez le poulet, dénommé Virus de la nécrose proventriculaire du poulet (CPNV).

Plusieurs étiologies ont été impliquées comme causes potentiels agissant seules ou en combinaison dans les proventriculites. Les causes non infectieuses comprennent les mycotoxines, les amines biogènes, manque de fibre dans la ration alimentaire, un apport excessif de sulfate de cuivre. Les causes infectieuses qui ont été impliquées englobent les Reovirus, adénovirus, IBV, IBDV, et Megabacterium.

Ces derniers jours beaucoup de vétérinaires praticiens ont signalés des cas de proventriculite hémorragique dans des élevages de poulet de chair vaccinés ou non contre la maladie de Newcastle avec suspicions de manifestation clinique de la forme vélogène viscérotrope de la MN suggérant la probabilité de l'inefficacité des programmes de vaccinations actuellement entrepris sur le terrain.

En vu de savoir l'impact de la MN dans les manifestations cliniques de Proventriculites Hémorragiques nous avons prélevés des organes (Proventricules) et du sang dans 20 élevages de poulet de chair qui ont montrés des signes de proventriculite hémorragique nous avons effectués par la suite une analyse histopathologique et sérologique (HI test).

II. Objectifs :

Les objectifs de notre étude sont :

- ✚ Décrire les lésions macroscopiques et histopathologiques lors de proventriculite hémorragique.

- ✚ Déterminer la séroprévalence de la maladie de Newcastle dans les cas de proventriculite hémorragique.
- ✚ Déterminer la part de la MN dans les cas cliniques de proventriculite hémorragique.

III. Matériel et méthodes :

1. Matériel :

En vue de réaliser une étude histopathologique nous avons besoin de :

- ✚ Organes de poulets (Proventricules, rein... etc)
- ✚ Fiches signalétiques par élevage pour chaque prélèvement d'organes
- ✚ Matériel de laboratoire : alcool phéniqué, xylène, paraffine, colorants (HE), lames et lamelles, microtome.

Le matériel nécessaire pour l'étude sérologique est :

Matériel de prélèvement, stockage et transport :

- ✚ Aiguilles (Une aiguille de 25g (0.50 x16 mm),
- ✚ Tubes sec,
- ✚ Alcool,
- ✚ glacière

Matériel de laboratoire :

- ✚ Réactifs. Voir annexe.

Matériel biologique :

- ✚ 10 Elevages de poulet de chair.
- ✚ 10 poulets par élevage.

2. Méthodes :

2.1 Protocole des prélèvements :

Après le signalement d'un cas de proventriculite hémorragique par l'un des vétérinaires sentinelles nous avons déplacé pour réaliser un prélèvement d'organes (Proventricules) et du sang. Les organes ciblés sont les proventricules. Ensuite, ces organes sont placés immédiatement dans une solution de formol à 10%.

Quand aux prélèvements sanguins, nous avons prélevé 5ml du sang par poulet dans des tubes secs.

2.2 Description de la technique histopathologique :

Lors de l'examen nécropsique des cadavres des poulets, les prélèvements de proventricules ont été réalisés. Ils sont par la suite fixés dans 10 % de formol, imprégnés à la paraffine, sectionnés (4µm) et colorés avec hématoxyline et éosine. Les lames sont examinées sous microscope optique et les lésions microscopiques sont décrites et classés en donnant des scores.

2.3 Description de la technique IHA :

Cette méthode tire parti du fait que certains virus, comme le paramyxovirus de la maladie de Newcastle, agglutinent les hématies des volailles. Si on ajoute à la préparation virale un sérum anti-virus (donc porteur d'anticorps) l'agglutination est inhibée, parce que les anticorps se sont fixés sur les antigènes viraux.

Pour le test I.H.A. appliqué à la maladie de Newcastle, on utilise une micro-méthode compatible avec la réalisation de grandes séries. On calcule le titre du virus de référence (une U.H.A. = unité hémagglutinante = 1 volume de 0,025 ml). Le sérum est prélevé après coagulation. Il faut un volume au moins égal à 250 µL. Il peut être utilisé frais ou congelé. Virus et sérum sont mis en contact pendant 20 minutes à la température du laboratoire. On introduit des hématies de poulet (suspension à 1 %). La plaque est agitée et la lecture faite 30 minutes plus tard. On utilise des cupules témoins pour pouvoir qualifier l'échantillon testé. Dans la cupule témoin-virus, l'hémagglutination est totale, c'est le témoin positif. Dans les cupules témoins-sérum+hématies, il n'y a pas d'hémagglutination.

On teste des dilutions croissantes de sérum. Le titre obtenu pour le sérum étudié est déterminé par la dilution la plus élevée où est observée l'inhibition complète de l'hémagglutination. Dans le cas par exemple de l'évaluation d'une protection vaccinale, on estime que plus le taux de dilution est élevé, meilleure est la protection, car cela signifie qu'il y a plus d'anticorps au départ. On considère qu'au-delà de 1/16 la protection est bonne.

Un échantillon est considéré comme positif s'il y a inhibition de l'hémagglutination à partir d'une dilution 1/16. On doit noter l'utilisation courante de la notation en Log 2 dont quelques équivalences.

- une souche sauvage provoque chez les poulets un taux moyen d'anticorps supérieur à 9 Log 2 [11].
- un vaccin vivant permet d'obtenir un taux moyen d'anticorps de 3 à 6 Log 2

IV. Résultats :

1. Principaux résultats de l'étude :

Le tableau suivant regroupe les principaux résultats de l'étude. Il englobe des résultats sérologiques (GMT en log 10), de l'histopathologie, l'aspect macroscopique, le statut immunitaire des élevages prélevés (vacciné ou non vacciné), ainsi que les taux de mortalité attribués aux épisodes cliniques.

Le tableau suivant montre le taux de positivité des élevages selon les résultats de l'histopathologie, de la sérologie et la combinaison des deux résultats.

Statut	Histopathologie %	sérologie %	sérologie+histopathologie %
Positif	100	50	50
Négatif	0	50	50

Tableau n° 2 : Variation du taux de positivité en fonction des résultats de l'histopathologie, de la sérologie et la combinaison des deux résultats.

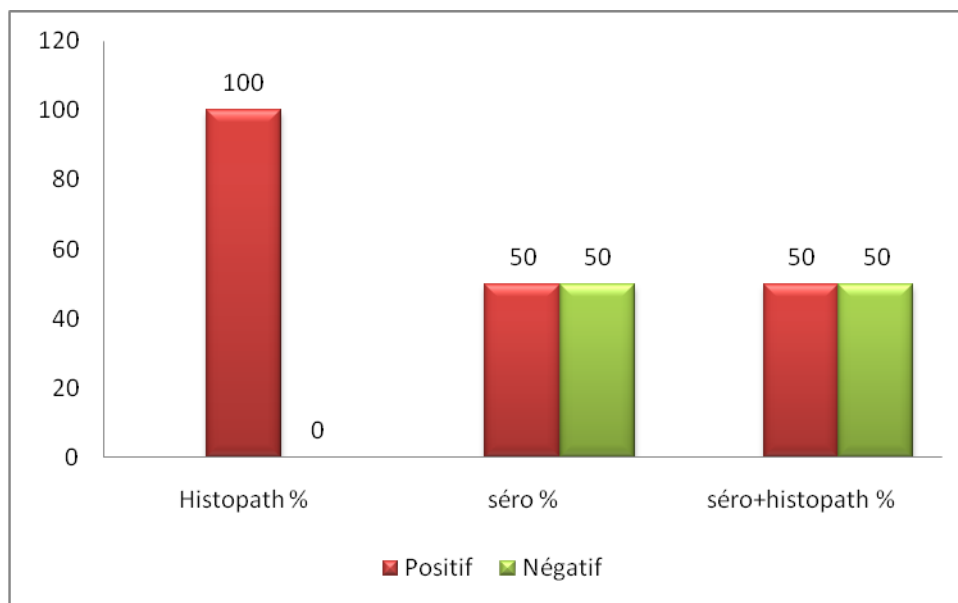


Figure n° 1 : Représentation graphique de la variation du taux de positivité en fonction des résultats de l'histopathologie, de la sérologie et la combinaison des deux résultats.

A travers l'analyse des résultats sérologique et histopathologique, il ressort que la totalité des prélèvements est positive à l'histopathologie (100%). Ce n'est que la moitié des élevages prélevés qui a été séropositive. Au totale 50% des élevages prélevés sont positifs à l'histopathologie et à la sérologie.

Quand aux lésions histopathologiques rencontrées sont à des scores allant de (+) au (+++). Elles sont des lésions de Dégénérescence et nécrose, hémorragies (muqueuse), fibrose, infiltration des leucocytes (muqueuse et tissu glandulaire), diminution de la taille des papilles du proventricule.

Le tableau suivant décrit la variation du taux de positivité des élevages prélevés en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle.

Statut	Statut immunitaire ND %	
	Vacciné	Non vacciné
Positif	80	20
Négatif	60	40

Tableau n° 3 : variation du taux de positivité des élevages prélevés en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle.

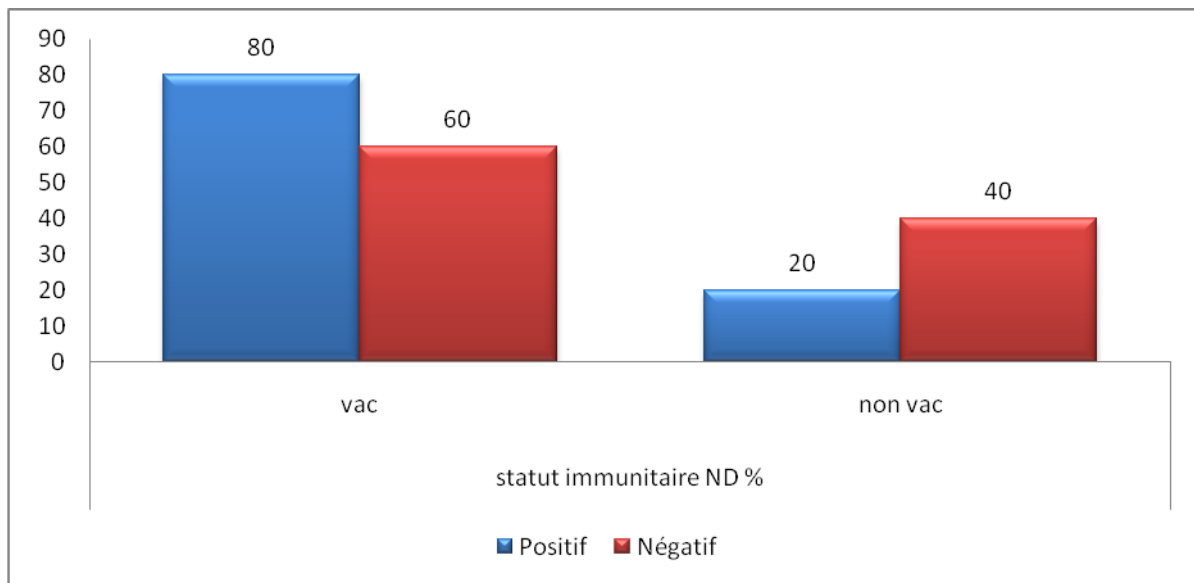


Figure n°2 : Représentation graphique de la variation du taux de positivité des élevages prélevés en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle.

L'analyse des résultats du tableau n° 3 montre que le taux de positivité des élevages prélevés est variable en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle. En effet, la majorité des élevages vaccinés était positive vis-à-vis la maladie de Newcastle (80%). Ce n'est qu'une minorité (20%) des élevages non vaccinés qui était positive.

2. Résultats macroscopique et microscopique :

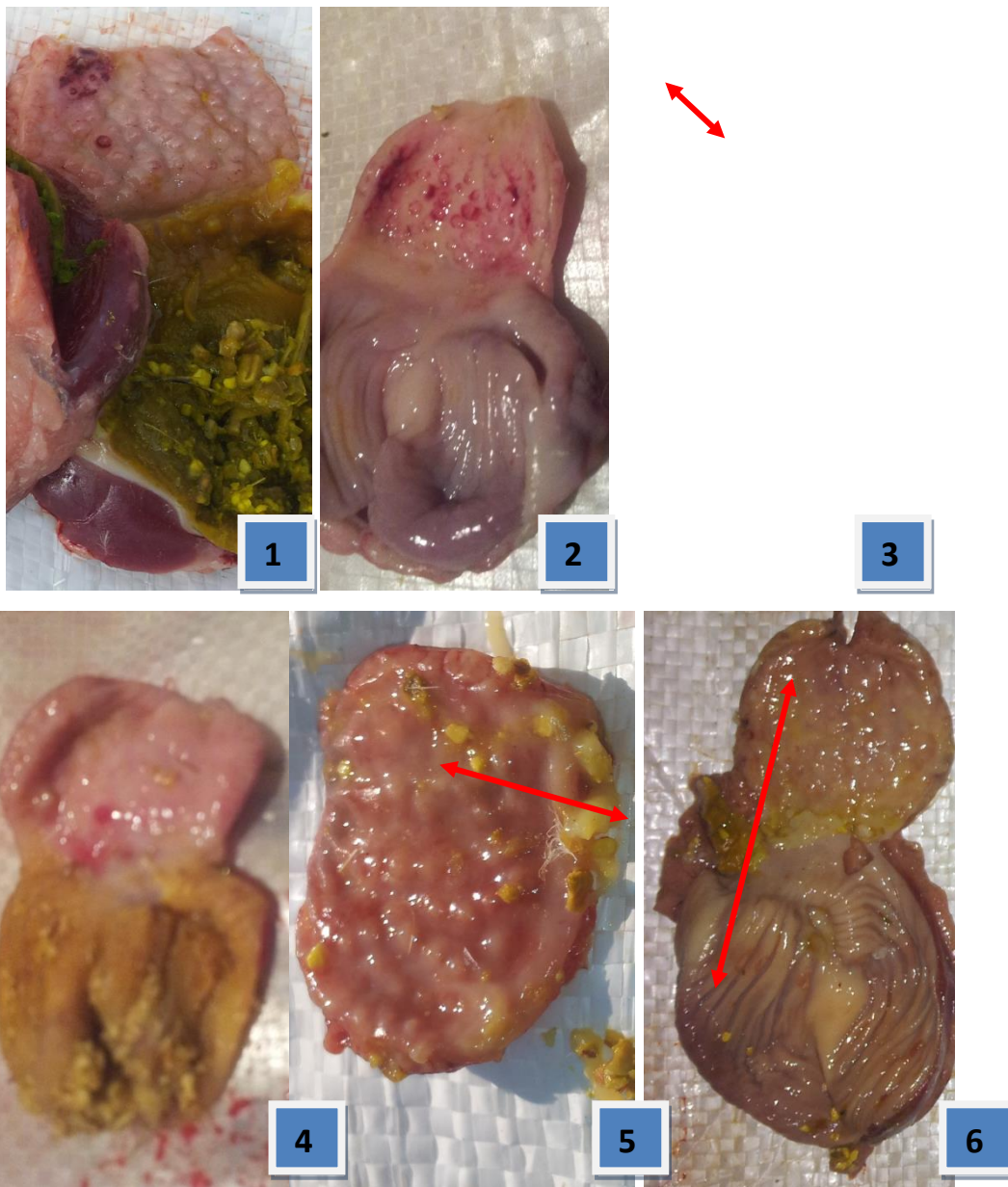
2.1 Lésions macroscopiques :

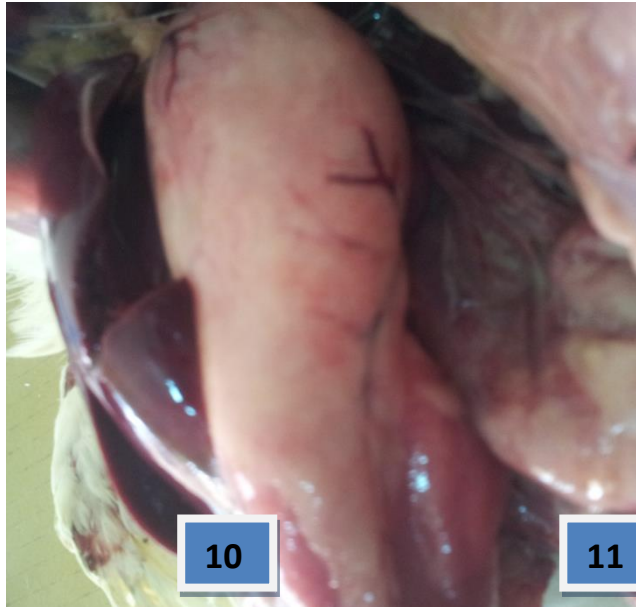
Dans notre étude nous avons effectué des autopsies sur des volailles morts ou morbides (euthanasiés). Les principales lésions macroscopiques rencontrées sont principalement des hémorragies en points d'épingle (pétéchies au niveau du proventricule),

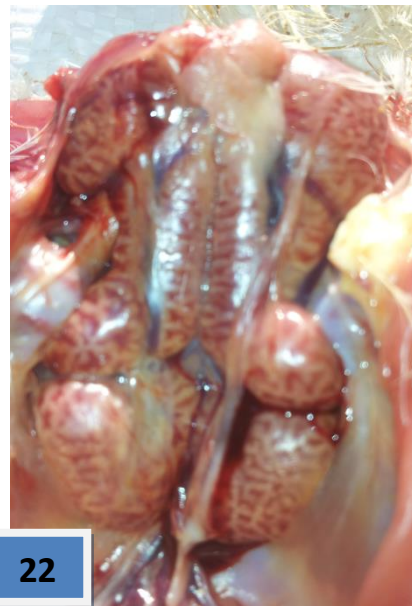
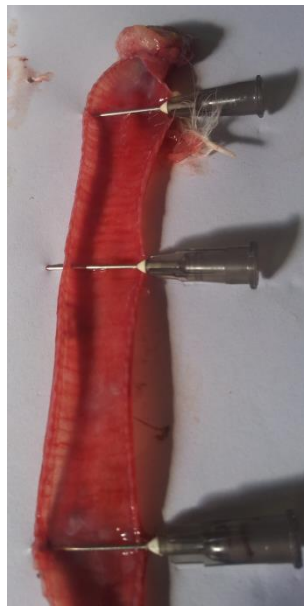
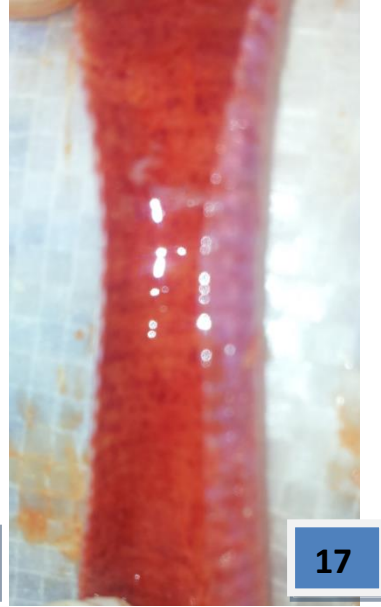
épaississement de la paroi du proventricule, dilatation du proventricule avec retour de l'aliment vers le proventricule. A cela s'ajoute dans certains cas la couverture de la muqueuse du proventricule par une couche fibrino-nécrotique et une dilatation de l'isthme, érosion du gésier, congestion de la muqueuse du gésier après enlèvement de la cuticule, splénomégalie.

Il est important, aussi, de signaler la fréquence élevée des surinfections bactériennes traduisant par des aérosacculites, péricardites, péri hépatite, trachéite... etc.

Les photos suivantes montrent les principales lésions macroscopiques de l'étude :







(1) (2) Hémorragies en points d'épingle (pétéchies au niveau du proventricule).

(3) Epaissement de la paroi du proventricule (flèche rouge).

(4) (5) (6) (7) La muqueuse du proventricule est couverte d'une couche fibrino-nécrotique et une dilatation de l'isthme (flèche rouge).

(8) Erosion du gésier (flèche rouge).

(9) Congestion de la muqueuse du gésier après enlèvement de la cuticule (flèche rouge).

(10) (11) (12) dilatation du proventricule avec retour de l'aliment vers le proventricule.

(13) (14) splénomégalie

(15) (16) (18) (19) (20) (21) trachéite hémorragique.

(17) Lésions de surinfection bactérienne.

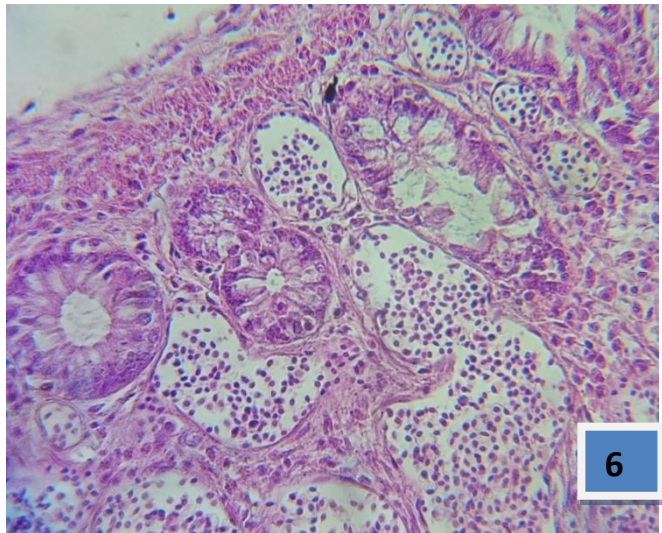
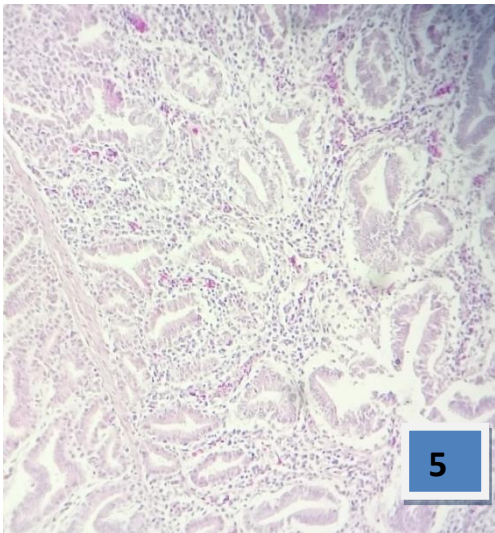
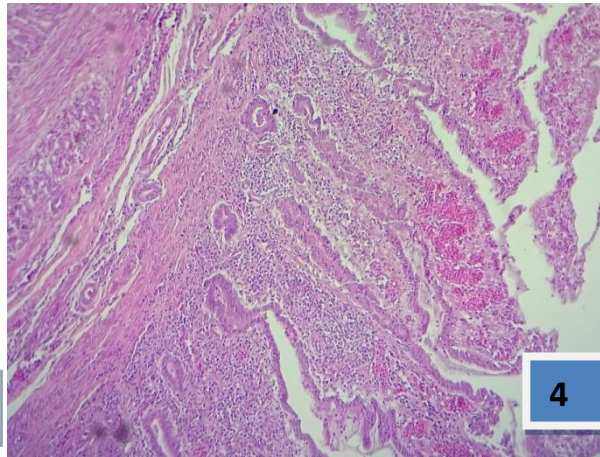
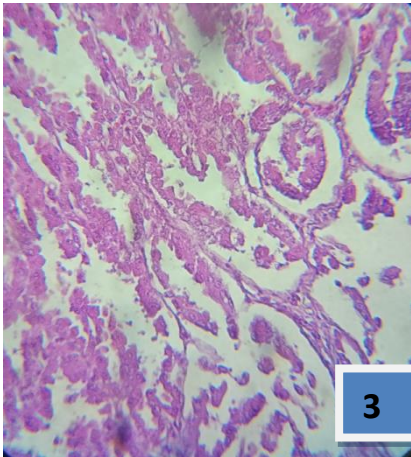
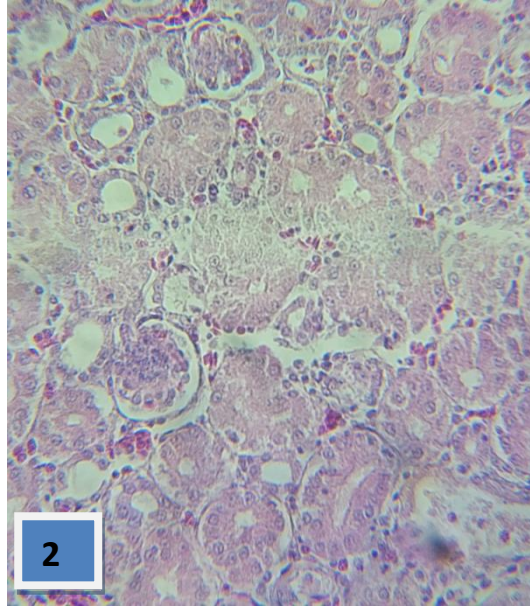
(22) Néphrite.

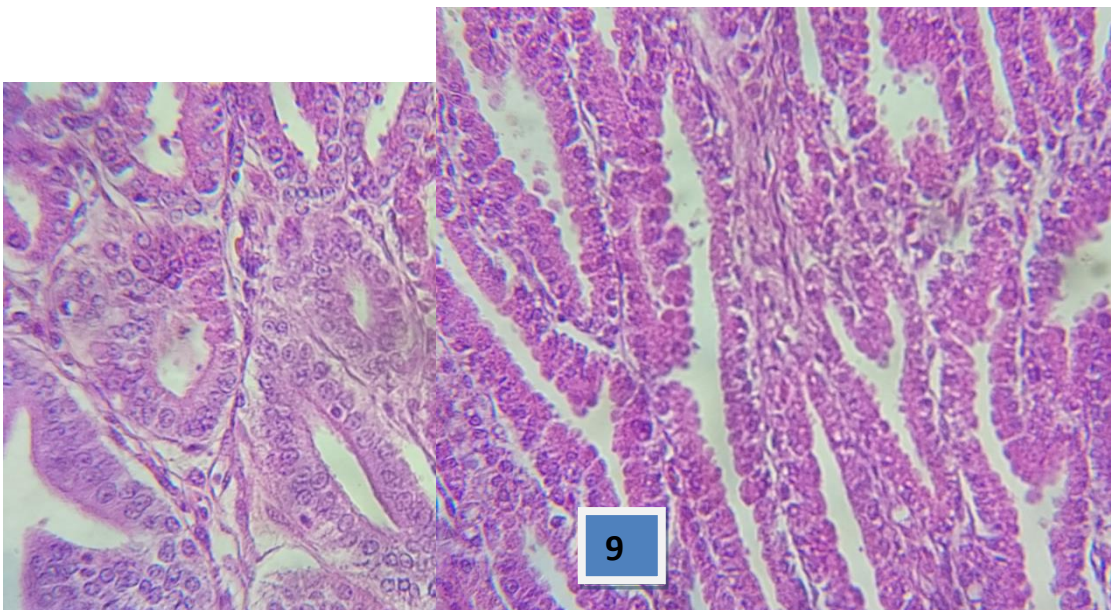
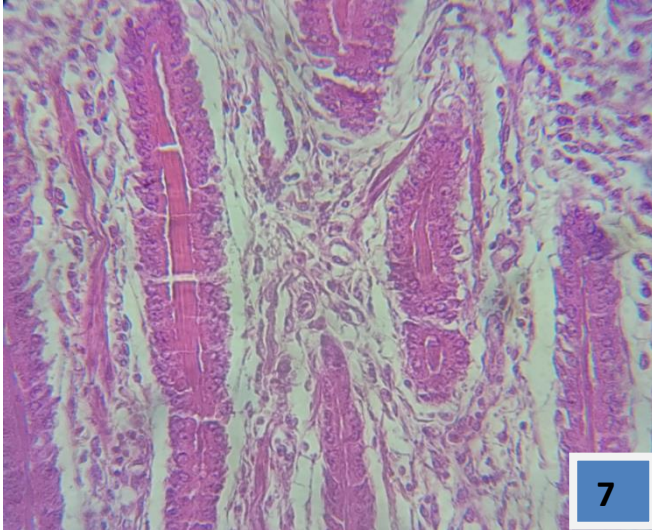
2.2 Lésions microscopiques (Histopathologiques) :

Les principales lésions microscopiques de l'étude histopathologique rencontrées dans les proventricules prélevés sont principalement des Infiltrations des leucocytes, congestion hémorragie de la muqueuse, infiltration des leucocytes interglandulaire, nécrose épithéliale, diminution de la taille des papilles, fibrose.

D'autres lésions microscopiques sont constatées sur d'autres organes tels que la Dégénérescence, nécrose des tubules rénaux, infiltration des leucocytes dans l'espace interstitiel rénale.

Les photos suivantes montrent les principales lésions microscopiques de l'étude :





- (1) *Proventricule : Infiltration des leucocytes.*
- (2) *Rein : Dégénérescence, nécrose des tubules.*
- (3) *Proventricule : Fibrose*
- (4) *Proventricule : Infiltration des leucocytes, congestion hémorragie de la muqueuse.*
- (5) *Proventricule : Infiltration des leucocytes interglandulaire.*
- (6) *Proventricule : Nécrose épithéliale, infiltration leucocytaire.*
- (7) (8) (9) *Proventricule : Diminution de la taille des papilles.*

V. Discussion :

Cette étude c'est une initiative pour comprendre l'impact du virus de la MN dans l'apparition des proventriculites hémorragiques chez le poulet de chair, en Algérie. Les changements macroscopiques et microscopiques au niveau du proventricule corrélés aux résultats sérologiques conduits par H.I Test ont été comparés afin de déterminer la part du virus de la maladie de Newcastle dans l'apparition de ces lésions.

Aussi, nous avons essayé de comparer les résultats en fonction du statut immunitaire des poulets vis-à-vis le virus de la maladie de Newcastle (élevage vacciné et non vacciné) afin de soulever l'éventuel inefficacité des programmes de vaccination actuellement entrepris sur le terrain et/ou d'incriminer d'autres agents infectieuses et non infectieuses dans les manifestations cliniques de proventriculite hémorragique.

En ce qui concerne l'implication du virus de la maladie de Newcastle dans l'apparition des proventriculites hémorragiques nous avons trouvé que la moitié des élevages présentant des proventriculites était positive à l'histopathologie et à la sérologie. En effet, Les souches virulentes de la maladie de Newcastle (vvND) provoquant des lésions hémorragiques du tube digestif (vélogènes viscérotropes), la plupart les lésions macroscopique retrouvées dans cette forme sont des hémorragies en point d'épingle au bout de glandes proventricule, hémorragie et ulcères dans la paroi intestinal et les amygdales caecal [43].

Dans une autre optique nous avons trouvé que la majorité des élevages positive (80%) était vacciné contre la maladie de Newcastle. Cela révèle deux hypothèses : soit une mauvaise vaccination, soit une souche vaccinale non adaptée aux souches sauvages circulant dans les élevages.

Quand à la vaccination, L'utilisation de l'eau de boisson contenant du vaccin est la méthode collective utilisée dans les élevages de notre étude. Le succès de la vaccination dépendra de la maîtrise de chaque détail intervenant dans la conservation du vaccin, la préparation de la solution vaccinale et sa distribution. Correctement vacciner un troupeau nécessite qu'au moins 90 % des oiseaux aient vraiment absorbé une dose entière d'un vaccin maintenu parfaitement vivant ce qui nous laisse penser à l'implication de cette méthode de vaccination dans l'échec vaccinal. D'autre part, les travaux de Linghua Z, Xingshan T et Fengzhen Z, 2007 [83], Bermudez, 2003 [84] sur les protocoles de vaccination ont proposé des protocoles de vaccination consistent en une primovaccination avec la souche

lentogène très atténuée (Hitchner B1, Ulster 2C, Phy-LMV 42) à l'âge d'un jour et un rappel à l'âge de 2-3 semaines est nécessaire et obligatoire pour assurer une bonne protection du troupeau. Ce protocole de vaccination a montré un taux de protection de 25 à 80 % selon les conditions de terrain. Cela nous amène à dire que malgré l'application d'un bon protocole de vaccination la protection reste relative et dépendant des conditions de terrain telle que le stress, la souche du poulet, statut immunitaire des volailles, maladies intercurrentes...etc.

Le non adaptation des souches vaccinales du virus de la maladie du Newcastle aux souches sauvages est soulevé par plusieurs auteurs. En effet, Alexander, (2011) [85] a rapporté l'éloignement des génotypes vaccinaux de ceux des souches sauvages. Les génotypes utilisés dans la vaccination appartiennent aux génotypes I et II tandis que les génotypes des souches sauvages sont principalement de type V et VII. Cette hétérogénéité des souches du virus de la maladie de Newcastle pourrait influencer la réussite de la vaccination.

Pour les élevages négatifs au virus de la maladie de Newcastle et présentant des proventriculites hémorragiques, il pourrait avoir une autre étiologie infectieuse ou non infectieuse. Historiquement, les Reovirus ont été considérés comme cause primaire du syndrome de malabsorption (Page et al ., 1982 [86]; Rifuliadi, 1985 [87]; Apple, 1988 [88]). Ils peuvent entraîner des proventriculite (Kouwenhoven et al ., 1978 [89]; Reece, 2003 [90]). Ce syndrome a été décrit sous plusieurs dénominations dont la Proventriculite Transmissible virale (PTV). Mais il y avait des problèmes pour établir que les Réovirus sont l'agent étiologique des PTV à savoir : l'inconsistance de la reproduction expérimentale de la maladie, isolement des Réovirus chez des poulets sains (Rifuliadi, 1985 [87]; Opengart, 2003 [91]).en plus, les lésions microscopiques sont atténuées difficilement détectable. L'atrophie de la bourse de Fabricius et l'immunosuppression vis-à-vis les vaccinations contre la MN sont couramment observées lors de Réovirose.

Dans certaines études anciennes utilisant des tissus de proventricule de poulets infectés, Il y avait des arguments que l'IBDV pourrait être responsable en partie de proventriculite (Wilson et al ., 1995) [92]. Ces auteurs ont décrit des changements interne (hémorragie dans la muqueuse et la sous muqueuse,) et externe (dilatation) des proventricules affectés. (Skeeles & Newberry, 1999) [93]. Dans des études récentes sur le rôle de l'IBDV dans les proventriculites, les auteurs ont conclu que les proventriculites pourraient se manifester sans l'implication de l'IBDV et que les souches d'IBDV testées n'ont pas provoqué directement les proventriculites (Pantin-Jackwood & Brown, 2003) [94].

Certaines souches de la forme gastro-intestinale de la bronchite infectieuse peuvent provoquer des proventriculites. En effet, l'IBV se réplique dans les cellules épithéliales de la lamina propria des glandes en causant des dommages tissulaires et l'accumulation des débris engendre la dilatation du proventricule et par conséquent la maldigestion ou malabsorption se produit.

CONCLUSION

Les résultats de la présente étude nous ont permis de décrire certaines données liées aux proventriculites hémorragiques dans des élevages de poulet de chair et d'avoir une idée sur la part de la maladie de Newcastle dans leur apparition.

L'étude histopathologique des proventricules prélevés a démontré la présence des lésions microscopiques dans la totalité des prélèvements (100%), elles sont principalement des lésions d'infiltration leucocytaire, de dégénérescence nécrose de l'épithélium, diminution de la taille des papilles du proventricule. Seulement la moitié de ces élevages était positive à la sérologie (50%) contre la maladie de Newcastle. Au totale 50% des élevages prélevés sont positifs à l'histopathologie et à la sérologie.

Le taux de positivité des élevages prélevés est variable en fonction du statut immunitaire vis à vis la maladie du Newcastle ou nous avons trouvé que 80% des élevages vaccinés sont positifs. Ces résultats génèrent l'hypothèse de l'éventuel inefficacité des programmes de vaccination actuellement entrepris sur le terrain et/ou d'incriminer d'autres agents infectieuses et non infectieuses dans les manifestations cliniques de proventriculite hémorragique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ALEXANDER D.J.**: Newcastle disease and other avian paramyxoviridae infections. In : B.W. CALNEK : Diseases of poultry, 10 th edition, Mosby - Wolfe, Iowa, 1997, 541-569.
2. **ALEXANDER D.J.** : Newcastle disease virus and other avian paramyxoviruses. In : A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. The American Association of Avian pathologists, Florida, 1998, 156-163.
3. **ALEXANDER D.J.** (1997). Newcastle disease and other avian Paramyxoviridae infections. In: Diseases of Poultry, Tenth Edition, Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R. & Saif Y.M., eds. Iowa State University Press, Iowa, USA, 541–570.
4. **ALEXANDER D.J** ,**GOUGH R.E.** : The speed of resistance to challenge induced in chickens vaccinated by different routes with a B1 strain of live NDV. Veterinary Record, 1973, 92 (21), 563-564.
- 5 . **Alexander, Dennis J** : Influenza aviaire et maladie newcastle page 130 Sous la direction de Ilaria Capua .
6. **Alexandr, D.J and D.A. Senne.** 2008. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses.L.D. Zavala,ed.Omnipress. 135-141
- 7 . **Alexander .D.J, I. Capua** , Influenza aviaire et maladie de Newcastle ISBN : 978-2-287-99336-7 © Springer-Verlag Paris 2013
- 8 . **AL-GARIB S.O., GIELKENS A.L.J., et al** : Review of Newcastle diseases virus with particular references to immunity and vaccination. World’s Poultry Science Journal, 2003, 59 (2), 185-200.
- 9 . **AMSTUTZ H.E., ARMOUR J. et al** : Manuel vétérinaire Merck : 1ère Ed. Française de la 7ème Ed. – Paris : Editions d’Après, 1996, 1397-1398.
10. **Ayayi Justin AKAKPO B.P. 12 104 Dakar-Yoff (Sénégal)** “Approches techniques pour l’harmonisation des plans de prophylaxie pour la prévention et le contrôle des maladies aviaires prioritaires (maladie de Newcastle et maladie de Gumboro) en Afrique de l’Ouest et du Centre” 12 au 14 Aout 2013 Lomé, Togo.
11. **BEARD C.W. & HANSON R.P (1981).** Newcastle disease. In: Diseases of Poultry, Eighth Edition, Hofstad M.S., Barnes H.J., Calnek B.W., Reid W.M. & Yoder H.W., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 452–470.
12. **Beard CW, Hanson RP (1984)** Newcastle Disease. In: Diseases of Poultry, Hofstad MS, Barnes HJ, Calnek BW et al. ed., 8th ed., Iowa State University Press: Ames, IA, pp 452-470.
- 13 . **BEARD C.W., VILLEGAS P. et al** : Comparative efficacy of the B-1 and VG/GA vaccine strains against velogenic viscerotropic Newcastle Disease Virus in Chickens. Avian Disease, 1993, 37 (1), 222-225.

- 14 . **BENNEJEAN G., GUITTET M. et al** : Vaccination of one-day-old chicks against Newcastle disease using inactivated oil adjuvant and/or live vaccine. *Avian Pathology*, 1978, 7 (1), 15- 27.
- 15 . **BOCQUET J.** : Le diagnostic en pathologie aviaire. 2ème partie. *Intervet*.
- 16 . **BROWN C.C., KING D.J., et al**: Comparison of Pathology-based Techniques for Detection of Viscerotropic Velogenic Newcastle Disease Virus in Chickens. *Journal of Comparative Pathology*, 1999, 120, 383-389.
- 17 . **CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE** : Maladie de Newcastle (On line). C.N.R.S. Disponible sur Internet URL : <http://neptune.ipbs.fr/vivant/sdv/zoonosesom.html> (21-11-2014)
- 18 . **DESBORDES P.** : Techniques de vaccination individuelle. Mériat. 2002. (Rapport d'études) n° 02-32.
- 19 . **DE LANGHE C., JORNA A** : Newcastle : la vaccination par voie aérienne conseillée ! *Filières Avicoles*, 2006, 684, 70-71.
- 20 . **EARD C.W., EASTERDAY B.C** : *Journal of Infectious Diseases*, 1967, 117, 11.
- 21 . **ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANCAISES/ UNITES DE PATHOLOGIE INFECTIEUSE** : Maladies réputées contagieuses ou à déclaration obligatoire des oiseaux. *Ecoles Nationales Vétérinaires Françaises*. 2004, 26 p.
- 22 . **GOUGH R.E., COX W.J. et al** : Examination of sera from game birds for antibodies against avian viruses. *Veterinary Record*, 1990, 127 (5), 110-111.
- 23 . **GUERIN J.L., BOISSIEU C** : La maladie de Newcastle, l'autre « peste ». *Le Nouveau Praticien Vétérinaire, porcs - volailles*, 2006, 2, 54-58.
- 24 . **KALETA E.F** : Paramyxovirusinfektionen. In : **HEIDER G., Monreal G.** (éd.) : *Krankheiten des Wirtschaftgeflügels*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1992, I, 587-661.
- 25 . **KAPCZYNSKI D.R., KING D.J**: Protection of chickens against over clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak. *Vaccine*, 2005, 23, 3424-3433.
- 26 . **KOUWENHOVEN B** : Newcastle disease. In **FERRAN J.B., McNULTY M.S.** ; *Virus Infections of Birds – Amsterdam* : Elsevier Science Publishers, 1993 (4), 341-361.
- 27 . **LEMIERE S** : Techniques de vaccination par l'eau de boisson. Mériat. 2002. (Rapport d'études) n° 02-30.
- 28 . **LEMIERE S** : Techniques de vaccination par nébulisation. Mériat. 2002. (Rapport d'études) n° 02-31.

- 29 . **LETARD S., MIELI L** : Un cas de Newcastle en faisans, 38 jours de gestion de crise ! Filières Avicoles. 2005, 680, 49.
- 30 . **MAAS R.A., OEI H.L. et al** : Dose-response effects of inactivated Newcastle disease vaccines : influence of serologic assay, time after vaccination, and type of chickens. Avian Disease, 1999, 43 (4), 670-677.
- 31 . **MONQUE ROQUE ET AUTRE** : Maladie des volailles éditions 2, France agricole 2011 . , CFA Edition . ISBN 978-2-85557-210-9 Page 198, 199
- 32 . **MEULEMANS G. : Control by vaccination. In ALEXANDER D.J** ; Newcastle Disease- Boston : Kluwer Academic Publishers, 1988, 318-332.
- 33 . **MEULEMANS G., ROELS S. et al** : Acute pancreatitis in chickens due to non virulent Newcastle disease virus. Veterinary Record, 1998, 143 (11), 300-303.
- 34 . **Meksoud-Taïbi M, Benzadi O**, Rôle des laboratoires dans le contrôle en aviculture R, 3èmes Journées d'Epidémiologie Animale, Blida. (2010).
- 35 . **MORILLON P** : Caractéristiques de la souche VG/GA du virus Newcastle. Merial. 2005. (Rapport d'études) n° 05-01.
- 36 . **OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES** : Maladie de Newcastle (On line). O.I.E., 2002. n° A160 . Disponible sur internet URL : http://www.oie.int/fr/maladies/fiches/f_A160.htm
- 37 . **ORNE P.M., COMTE S. et al** : Vaccines and vaccination in poultry production. Libourne : CEVA Santé Animale, 2001, 139 p.
- 38 . **PENNYCOTT T.W** : Vaccination of pheasants against Newcastle disease. Veterinary Record, 1998, 142 (5), 119-120.
- 39 . **PICAULT J.P., LE COQ H. et al** : Situation actuelle en matière de vaccination contre la maladie de Newcastle. Science et Techniques Avicoles, 1993, 37-50.
- 40 . **Raiso. AVERTISSEMENT VETERINAIRE. Réseau d'Alerte et d'information Zoosanitaire.** QUEBEC. Numéro 49 septembre 2008 . maladie Newcastle page 2
- 41 . **RUSSEL P.H., EZEIFEKA G.O** : The Hitchner B1 strain of Newcastle disease virus induces high levels of Ig A, Ig G and Ig M in newly hatched chicks. Vaccine, 1995, 13 (1), 61-66.
- 42 . **SCHRICKE E** : Faisan de chasse. Elevage et maladies. 1ère Ed. – Maisons-Alfort : Editions du Point Vétérinaire, 1991, 432 p.
- 43 . Hodges, R. D. The histology of the fowl. Academic Press. London. 1974.
- 44 . Sturkie, P. D. Avian Physiology. Fourth edition, Springer-Verlag. New York. 1986.
- 45 . McLelland, J. Digestive system. In: Form and function in birds. Vol 1. A. S. King, a.

J. M. Academic Press. London. 103-132. 1979.

46. Goodwin, M. A., and S. Hafner. Transmissible viral proventriculitis. In: Diseases of Poultry. 10th ed. Calnek, B. W. Iowa State University Press Ames, IA. 1034-1038. 1997.

47. Bayyari, G. R., W. E. Huff, J. M. Balog, N. C. Rath and J. N. Beasley. Experimental reproduction of proventriculitis using homogenates of proventricular tissue. *Poult Sci* 74:1799-1809. 1995.

48. Goodwin, M. A., S. Hafner, D. I. Bounous, K. S. Latimer, E. C. Player, F. D. Niagro, R. P. Campagnoli, and J. Brown. Viral proventriculitis in chickens. *Avian Pathol* 25:269-279. 1996.

49. Guy, J. S., and H. J. Barnes. Sequential pathogenesis of experimentally produced infectious proventriculitis: Microscopic and ultrastructural changes. 139th Meeting of the American Veterinary Medical Association, Nashville, TN. 2002.

50. Huff, G. R., Q. Zheng, L. A. Newberry, W. E. Huff, J. M. Balog, N. C. Rath, K. S. Kim, E. M. Martin, S. C. Goeke and J. K. Skeeles. Viral and bacterial agents associated with experimental transmission of infectious proventriculitis of broiler chickens. *Avian Dis* 45:828-843. 2001.

51. Apple, R. O., J. K. Skeeles, G. E. Houghten, J. N. Beasley, and K. S. Kim. Investigation of a chronic feed passage problem on a broiler farm in Northwest Arkansas. *Avian Dis* 35:422-425. 1991.

52. Bracewell, C. D., Nad C. J. Randall. The infectious stunting syndrome. *World's Poult Sci J* 40. 1984.

53. Kouwenhoven, B., F. G. Davelar, and J. Van Walsum. Infectious proventriculitis causing runting in broilers. *Avian Pathol* 7:183-187. 1978.

54. Page, R. K., O. J. Fletcher, G. N. Rowland, D. Gaudry, and P. Villegas. Malabsorption syndrome in broiler chickens. *Avian Dis* 26:618-624. 1982.

55. Reece, R. L. Infectious proventriculitis and stunting syndrome of broiler chickens. Canberra, Australia, RIRDC. 2002.

56. Harry, E. G., J. F. Tucker, and A. P. Larsen-Jones. The role of histamine and fishmeal in the incidence of gizzard erosion and proventricular abnormalities. *Br Poult Sci* 16:69-78. 1975.

57. Newberne, P. M., M. E. Muhrer, R. Craghead, and B. L. O'Dell. An abnormality of the proventriculus of the chick. *J Am Vet Assoc* 128:553-555. 1956.

58. Poole, D. R. Biogenic amines: An update. 43rd Western Poultry Disease Conference, Sacramento, CA. 40-42. 1994.

59. Stuart, B. P., R. J. Cole, E. R. Waller, and R. E. Vesonder. Proventricular hyperplasia (malabsorption syndrome) in broiler chickens. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 6:369-386. 1986.

60. Cullen, J. M., M. Wilson, W. M. Hagler, J. F. Ort, and R. J. Cole. Histologic lesions in broiler chickens given cyclopiazonic acid orally. *Am J Res* 49:5. 1988.
61. Dorner, J. W., R. J. Cole, L. G. Lomax, H. S. Gosser and U. L. Diener. Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* and its effects on broiler chickens. *Appl Environ Microbiol.* 46:698-703. 1983.
62. Riddell, C. The influence of fiber in the diet on the dilation (hypertrophy) of the proventriculus in chickens. *Avian Dis* 20:442-445. 1976.
63. Bayyari, G. R., W. E. Huff, J. N. Beasley, J. M. Balog and N. C. Rath. The effect of dietary copper sulfate on infectious proventriculitis. *Poult Sci* 74:1961-1969. 1995.
64. Jensen, D. S., P. A. Dunn, and K. N. Dobson. Induction of oral lesions in broiler chicks by supplementing the diet with copper. *Avian Dis* 35:969-973. 1991.
65. Alexander, D. J. Newcastle disease, other avian paramixovirus, and pneumovirus infections. In: *Diseases of Poultry* 11 ed. Saif, Y. M. Iowa State Press Ames, IA. 63-87. 2003.
66. Swayne, D. E., and D. A. Halvorson. Influenza. In: *Diseases of Poultry* 11th ed. Saif, Y. M. Iowa State Press Ames, IA. 135-160. 2003.
67. Mussman, H. C., and M. J. Twiehaus. Pathogenesis of reticuloendothelial virus disease in chicks- and acute runting syndrome. *Avian Dis* 15:483-502. 1971.
68. Calnek, B. W. Avian encephalomyelitis. In: *Diseases of Poultry* 11th ed. Saif, Y. M. Iowa State Press Ames, IA. 271-282. 2003.
69. Gregory, C. R., B. W. Ritchie, K. S. Latimer, W. L. Steffens, D. Pesti, R. Campagnoli, and P. D. Lukert. Progress in understanding proventricular dilatation disease. International Aviculturists Society, Orlando, FL. 1998
70. Henderson, G. M., F. M. Gulland and C. M. Hawkey. Haematological findings in budgerigars with megabacterium and trichomonas infections associated with 'going light'. *Vet Rec* 123:492-494. 1988.
71. Huchzermeyer, F. W., M. M. Henton, and R. H. Keffen. High mortality associated with megabacteriosis of proventriculus and gizzard in ostrich chicks. *Vet Rec* 133:143-144. 1993.
72. Mutlu, O. F., S. Seckin, K. Ravelhofer, R. A. Hildebrand and F. Grimm. [proventriculitis in domestic fowl (*Gallus gallus* var. Dom. L., 1758) caused by megabacteria]. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 25:460-462. 1997.
73. Phalen, D. N., and R. P. Moore. Experimental infection of white-leghorn cockerels with *Macrorhabdos ornithogaster* (megabacterium). *Avian Dis* 47:254-260. 2003.
74. Atabay, H. I., J. E. Corry, and S. L. On. Identification of unusual Campylobacter-like

isolates from poultry products as *Helicobacter pullorum*. J Appl Microbiol. 84:1017-1024. 1998.

75. Goble, F. C., and H. L. Kutz. The genus *Dispharynx* (nematoda: *Acuariidae*) in galliform and passeriform birds. J Parasitology 31:323-331. 1945.

76. Norton, R. A., and M. D. Ruff. Nematodes and acantocephalans. In: Diseases of Poultry 11th ed. Saif, Y. M. Iowa State Press Ames, IA. 937-938. 2003.

77. Gupta, B. N. and A. L. Trapp. Traumatic proventriculitis in a rhea (*Rhea americana*). Avian Dis 15:408-412. 1971.

78. Songserm, T., J. M. Pol, D. van Roozelaar, G. L. Kok, F. Wagenaar and A. A. ter Huurne. A comparative study of the pathogenesis of malabsorption syndrome in broilers. Avian Dis 44:556-567. 2000.

79. Kouwenhoven, B., M. Vertomment, and E. Goren. Investigations into the role of reovirus in the malbsorption syndrome. Avian Pathol 17:879-892. 1988.

80. Shapiro, F., and I. Nir. Stunting syndrome in broilers: Physical, physiological, and behavioral aspects. Poult Sci 74:33-44. 1995.

81. Lenz, S. D., F. J. Hoerr, A. C. Ellis, M. A. Toivio-Kinnucan and M. Yu. Gastrointestinal pathogenicity of adenoviruses and reoviruses isolated from broiler chickens in Alabama. J Vet Diagn Invest 10:145-151. 1998.

82. Yu, L., Yjiang, S. Low, Z. Wang, S. J. Nam, W Liu, and J. Kwangac. Characterization of three infectious bronchitis virus isolates from china associated with proventriculus in vaccinated chickens. Avian Dis 45:416-424. 2001.

85. Alexander, D.J. (2011). Newcastle disease in the European Union 2000 to 2009. Avian Pathology, 40, 547558.

86. Page, R.K., Fletcher, O.J., Rowland, G.N., Gaudry, D. & Villegas, P. (1982). Malabsorption syndrome in broiler chickens. Avian Diseases, 26 , 618 624.

87. Rifuliadi, D. (1985). The pathogenesis of a reovirus strain isolated from avian Malabsorption syndrome. Ph.D. dissertation, University of Georgia, Athens, GA.

88. Apple, R.O., Sr. (1988). Evaluation of a reovirus isolate from Northwest Arkansas broilers (chickens). Ph.D. dissertation, University of Arkansas, Fayetteville, AR.

89. Kouwenhoven, B., Davelaar, F.G. & Van Walsum, J. (1978). Infectious proventriculitis causing runting in broilers. Avian Pathology, 7 , 183 187.

90. Reece, R. (2003). Infectious proventriculitis and stunting syndrome of broiler chickens. Available online at: <http://www.rirdc.gov.au/99comp/cm1.htm> (accessed 28 March 2003).

- 91.** Opengart, K. (2003). Reo-virus infection: field observations from three cases in the South of the United States of America. *Zootecnica International* , 11, 5258.
- 92.** Wilson, M.K., Newberry, L.A., Skeeles, J.K., Bayyari, G.R., Huff, W.E., Beasley, J.N., McNew, R.W., Clark, F.D., Whitfill, C.E. & Haddad, E. (1995). A study of proventriculitis, its association with infectious bursal disease virus, and the efficacy of commercial IBDV vaccines in prevention. In *Proceedings of the 46th North Central Disease Conference*, Minneapolis, MN.
- 93.** Skeeles, J.K. & Newberry, L.A. (1999). Pathogenic evaluation of proventricular origin infectious bursal disease virus isolates. Report of completed research project of US Poultry & Egg Association, December. Fayetteville, AR: University of Arkansas.
- 94.** Pantin-Jackwood, M.J. & Brown, T.P. (2003). Infectious bursal disease virus and proventriculitis in broiler Chickens. *Avian Diseases*, 47 , 681 690.