

N° d'ordre :
.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research

معهد العلوم البيطرية
Institute of Veterinary
Sciencesجامعة البليدة 1
University Blida-1Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire**Monitoring sérologique de la vaccination en
élevages de poules future pondeuses**

Présenté par

ALLACHE Malék**LONGOU Chaima****Soutenu le : 15 juillet 2024****Présenté devant le jury :**

Président :	Dr BESBACI M	MCA	ISV/Blida 1
Examineur :	Dr AKKOU M	MCA	ISV/Blida 1
Promoteur :	Dr LOUNAS A	MCA	ISV/Blida 1

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, notre gratitude s'élève vers **Dieu**, le Tout-Puissant, clément et miséricordieux, pour les dons précieux de santé, de patience, de volonté et de courage qui nous a accordés.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance aux membres du jury : à monsieur le président de jurys, **Dr. Besbaci M**, et à notre examinateur, **Dr. AKKOU M**.

Un remerciement tout particulier va au **Dr. LOUNAS A**, qui a accepté de nous encadrer et pour son expecteur. Monsieur, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de notre plus haute considération, de notre sincère reconnaissance et de notre admiration profonde pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

On tiens à remercier profondément notre éleveur pour faciliter notre expérimentation et de nous avoir confié ses animaux.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétence nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Nous exprimons notre gratitude envers tous les animaux qui ont joué un rôle crucial dans notre cheminement d'études en médecine vétérinaire. Merci de nous avoir enseigné, de nous avoir accordé votre confiance et de nous avoir donné la possibilité de vous prendre en charge.

Nous souhaitons contribuer à un monde où la compassion et le respect des animaux sont des valeurs universelles, essentielles à la construction d'une société plus juste et empathique

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je souhaite dédier ce humble projet à mes proches les plus précieux sur cette terre.

À ma tendre et adorable **{Meriem}**, Tu as été bien plus qu'une mère pour moi. Dans les moments où je me sentais la plus faible, tu m'as donné la force que j'avais besoin. Tu m'as enseigné l'essence de l'humanité, le courage et toutes bonnes qualités en moi. Merci pour ton sourire qui illumine mes jours.

À mon cher PÈRE **{Tahar}** ma source d'inspiration, l'œil attentif compréhensif, et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Ta sagesse, ton soutien constant et la façon dont tu fais confiance à mes décisions m'ont guidé à travers les moments les plus difficiles de ce parcours.

Nulle dédicace ne saurait refléter pleinement mon amour et ma gratitude immense pour les sacrifices et les prières que vous avez consentis pour mon bien être, mon éducation et mes études. J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que Dieu, le très Haut, vous accorde une bonne santé et une longue vie afin que je puisse à mon tour vous combler.

À ma précieuse sœur **{Hamida}** et mes chers frères **{Othman, Amine, Abderrahmane, Ramzi et Abdelmalek}**, vos encouragements, votre enthousiasme, votre solidarité, votre humour, votre soutien indéfectible, votre présence réconfortante et votre complicité ont été une source d'inspiration et de motivation tout au long de ce parcours. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenu à chaque instant.

À mes neveux et nièces qui apportent la joie à notre vie et à tous les membres de la famille LONGOU et surtout à ma chère tante Najya.

A mon amie et ma binôme **{Malek}** qui a rendu ce projet aussi enrichissant qu'agréable, merci pour ton dévouement, ton entente et ta complicité.

À Dr Izrarene pour son expertise et ses conseils éclairés. Merci de m'avoir offert l'opportunité de plus apprendre, d'évoluer et de progresser.

A mes amis, Vous avez enrichi mon voyage académique de moments inoubliables. Merci pour votre amitié sincère, pour les rires partagés et votre soutien constant.

À tous ceux que j'ai omis de mentionner, ainsi qu'à ceux qui me sont chers et qui me témoignent leur affection.

Chaima

Dédicaces

*Louange à Allah maître d'univers
Paix et salut sur notre prophète Mohamed
Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères dans ce monde ;*

À mes parents, pour leur amour, leur soutien et leurs présences permanentes à mes côtés, leurs sacrifices et leurs inquiétudes pour ma réussite.

À la meilleure de toutes les mères « LOULY », le symbole de tendresse qui m'a donné la vie, qui m'a aidé durant mes années d'études, qui m'a appris à aimer le travail et le bon comportement, pour son amour infini et sa bienveillance jour et nuit. Merci Mama.

À l'homme de ma vie, ma précieuse offre du dieu celui qui m'a indiqué la bonne voie après Allah, cet homme qui m'a épaulé et m'a aidé énormément, lui qui n'a jamais cessé de m'encourager et qui a toujours été là pour moi, à mon cher père « MOHAMMED » sans qui, je n'en serais pas où je suis aujourd'hui. Merci Papa.

Je vous offre ce modeste travail pour vous remercier pour vos sacrifices et pour l'affection dont vous m'avez toujours entouré. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments ; Que Dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie. J'espère vous rendre fière.

À mon cher frère ABD EL MOUDJIB l'épaule solide ; l'œil attentif, compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Je lui souhaite une vie pleine de bonheur, joie, succès et de compréhension mutuelle avec sa femme MERIEM, ma belle-sœur chérie, qui occupe une place très spéciale dans mon cœur.

À mes chères sœurs SELSABIL, YASMINE et RYM, ces fleurs précieuses qui embellissent ma vie, vous êtes les anges qui m'ont guidé, soutenu et aimé. Je vous remercie pour vos sourires, vos mots d'encouragement et vos cœurs généreux. Je vous souhaite une vie remplie de joie, de paix et de réalisations.

À mes grands-pères et mes grandes mères et à l'ensemble de ma famille paternelle et maternelle, dont l'amour et le soutien sans condition et surtout mes oncles ADB EL NOOR et KARIME ainsi ma cousine MERIEM merci ma sœur pour tout l'aide que tu m'as apporté. Tu as été là pour moi en tout temps et je t'en serai éternellement reconnaissante.

Je tiens à remercier la plus merveilleuse et talentueuse et intelligente des binômes « CHAÏMA », qui m'a donné la force pour bosser dur grâce à elle, je n'ai pas senti l'année passée. Ainsi mes aimables copines : AYA, AMIRA, NIHED, MANESSA, MARIA, RAWAA, SELMA et MADINA merci les filles pour les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble.

À toute personne que je n'ai pas citée, et à ceux que j'aime et qui m'aiment

Malèk

Résumé

Ce travail se concentre sur une étude du monitoring sérologique de la vaccination en élevages de poules futures pondeuses, avec pour objectif de réaliser un suivi sérologique post-vaccinal contre certaines pathologies virales : la bursite infectieuse ou maladie de Gumboro (IBD), la maladie de Newcastle(ND), la bronchite infectieuse aviaire (BI), l'influenza aviaire Hautement pathogène H5 (IAHP) et l'influenza aviaire faiblement pathogène H9 (IAFP) , qui sont les principales affections dans les élevages de poulettes futures pondeuses.

Le principe d'Elisa indirect repose sur la détection d'anticorps spécifique. Dans notre étude Nous avons appliqué cette méthode sur 20 échantillons à quatre reprises prélever d'un élevage de poule futur pondeuse de wilaya de Bouira au jours suivants j1, S9, S16 et S23.

La technique Elisa indirect a été réalisé en utilisant des kits de la société ID vet innovative.

En effet, les résultats obtenus sont en faveur d'une bonne vaccination évitant des pertes en production considérables d'une part, et d'autre part, le fait de savoir le statut immunitaire de ce cheptel nous a permis de valider les dates du protocole vaccinal.

Mots clé : Vaccination-ELISA-sérologie-gestion sanitaire -pathologies aviaires - Bouira

ملخص

هذا العمل يركز على دراسة المراقبة السيرولوجية للتطعيم في مزارع الدجاج البيضاء المستقبلية، بهدف إجراء متابعة سيرولوجية بعد التطعيم ضد بعض الأمراض الفيروسية: التهاب جراب فابريشيوس أو مرض الجمبورو، مرض نيوكاسل، إنفلونزا الطيور منخفضة الأمراض والتهاب الشعب الهوائية المعدي.

مبدأ إيليسا غير المباشر يركز على كشف الأجسام المضادة الخاصة. في دراستنا، تم تنفيذ أربع مجموعات من العينات في الأيام التالية: اليوم الأول والأسبوع التاسع والأسبوع السادس عشروالأسبوع الثالث والعشرين (20 عينة لكل مجموعة). من مزرعة دجاج البيض المستقبلية بولاية بويرة

تشير النتائج المحصلة إلى فعالية التطعيم، مما يمنع خسائر إنتاجية كبيرة من جهة، ومن جهة أخرى، معرفة الحالة المناعية لهذا الرعيان سمحت لنا بتحقيق تواريخ البروتوكول الوقائي

ID vet innovative تقنية إيليسا غير المباشرة تمت باستخدام عدة من شركة

الكلمات المفتاحية

علم الأمصال - الإدارة الصحية - الأمراض الفيروسية الطيور - ELISA - بويرة- التطعيم

Abstract

This study focuses on serological monitoring of vaccination in future laying hen farms, aiming to conduct a post-vaccination serological follow-up against certain viral pathogens: infectious bursal disease (IBD), Newcastle disease (ND), infectious avian bronchitis (BI), highly pathogenic avian influenza H5 (H5AI), and low pathogenic avian influenza H9 (H9AI), which are the main diseases affecting pullet farms.

The indirect ELISA principle relies on the detection of specific antibodies. In our study, we applied this method to 20 samples taken at four intervals from a future laying hen farm in Bouira province, specifically on days 1, W9, W16, and W23.

The indirect ELISA technique was performed using kits from ID vet innovative company.

Indeed, the results obtained favor effective vaccination, preventing considerable production losses on one hand. On the other hand, knowing the immune status of this livestock enabled us to validate the vaccination protocol dates.

Keywords: Vaccination - ELISA - Serology - Health management - Avian diseases - Bouira

SOMMAIRE

Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I. Premier chapitre : Situation de l'aviculture en Algérie	3
1. Technique d'élevage de la poule pondeuse :	3
1.1 Préparation du poulailler	3
2.2 Barrière sanitaire	3
3.3 Environnement du poulailler :	4
1.3.1 Humidité	4
1.3.2 Température	4
1.3.3 Ventilation	4
1.3.4 Lumière	4
1.3.5 Alimentation.....	4
1.3.6 Eau de boisson.	5
2. Souches pondeuses commercialisées en Algérie :	5
2.1 Souche H&N Brown :	5
2.2 Souches Hy-line :	6
2.3 Souches Lohmann :	6
2.4 Souche ISA :	7
2.5 Souche TETRA SL :	7
2.6 Souche NOVOGEN :	7
3. Différent type d'élevage :	8
3.1 Elevage en batterie :	8
3.2 Elevage en sol :	8
3.3 Elevage en plein air :	8
3.4 Elevage biologique :	8
4. Statistiques des chiffres en Algérie :	8
4.1 La productivité :	9
4.2 Evolution des prix des œufs de consommation les dernières années :	10
4.3 nombre d'aviculteurs nationaux :	10
5. Niveau de production par rapport au nombre en Algérie :	11
II. Deuxième chapitre : Dominantes pathologies virales de la poulette future pondeuse.	12

1. LA Bursite infectieuse :	12
1.1 Définition :	12
1.2 Épidémiologie :	12
1.3 Etiologie :	12
1.4 Pathogenie :	13
1.5 Symptômes :	15
1.5.1 Forme immunodépressive :	15
1.5.2 Forme aigue classique :	15
1.5.3 Forme atténuée :	15
1.6 Lésions :	16
1.6.1 Macroscopiques :	16
1.6.2 Microscopiques :	16
1.7 Diagnostic :	17
1.7.1 Diagnostic Clinique :	17
1.7.2 Diagnostic differential :	17
1.7.3 Diagnostic sérologique :	17
1.8 Prophylaxie :	18
1.8.1 Prophylaxie sanitaire :	18
1.8.2 Prophylaxie médicale :	18
1.9 Traitement :	19
2. LA BRONCHITE INFESTIEUSE AVIAIRE :	19
2.1 Définition :	19
2.2 Etiologie :	20
2.3 EPIDEMIOLOGIE :	20
2.4 PATHOGENIE :	20
2.5 SYMPTOMES :	21
2.6 Lésions :	22
2.6.1 Lésion de l'appareil respiratoire :	22
2.6.2 Lésion de l'appareil génitale :	22
2.6.3 Lésion de l'appareil rénale :	22
2.7 Diagnostic :	22
2.7.1 Sérologie :	22

2.7.2 Histologie :.....	22
2.7.3 Diagnostic différentiel :	23
2.8 Traitement :	23
2.9 PROPHYLAXIE :	23
2.9.1 Prophylaxie sanitaire :	23
2.9.2 Prophylaxie médicale :	23
3. INFLEUNZA AVAIRE :	24
3.1 Définition :	24
3.2 Etiologie :	24
3.3 Épidémiologie :	25
3.4 Symptômes et lésions :	25
3.4.1 Influenza très pathogène.	25
3.4.2 Influenza modérément pathogène	25
3.4.3 Influenza peu pathogène	25
3.5 Diagnostic :	26
3.6 Traitement :	26
3.7 Prophylaxie :	27
4. NEWCASTLE :	27
4.1 Définition :	27
4.2 Caractéristiques, virulence et tropisme du virus :	28
4.2.1 Le pouvoir Hémagglutinant :	29
4.2.2 Pouvoir antigène et immunogène :	29
4.3 Épidémiologie et transmission :	29
4.4 Pathogénie :	29
4.5 Symptômes :	29
4.5.1 -Formes suraiguës :	29
4.5.2 -Forme aigue :	30
4.5.3 - Formes subaiguës et chroniques :	30
4.5.4 -Formes inapparentes :	30
4.6 Lésions :	30
4.7 Diagnostic :	31
4.7.1 Diagnostic épidémiologique : Mortalité et contagiosité importantes.	31

4.7.2 Diagnostic différentiel :	31
4.7.3 Diagnostic paraclinique :	31
4.8 Traitement :	31
4.9 Prophylaxie :	31
4.9.1 Prophylaxie sanitaire : respect des mesures de biosécurité pour gardes les troupeaux indemnes. (43)	31
4.9.2 Prophylaxie médicale :	32
 III. Troisième chapitre : Revue sur les moyens de diagnostic sérologique des maladies virales aviaires	33
1 La technique ELISA	33
1.1 Principe du test ELISA	33
1.2 les types d'ELISA	34
1.2.1 ELISA direct	34
1.2.2 ELISA indirect	34
1.2.3 Sandwich ELISA	35
1.2.4 L'ELISA compétitif	35
2 Test d'inhibition d'hémagglutination :	37
2.1 Principe :	38
2.2 MATÉRIELS :	38
2.2.1 Documentation et logiciel : Protocole du test de typage par inhibition de l'hémagglutination (IHA)	38
2.2.2 Produits chimiques et réactifs :	38
2.2.3 Animaux / micro-organismes / cellules :	38
2.3 Procédure :	39
2.4 Interprétation des résultats du test d'inhibition de l'hémagglutination :	39
3 Dosage radio-immunologique :	40
3.1 Principe :	40
3.2 Procédure de dosage radioimmunologique (RIA) :	41
3.3 Conditions indispensables à la réalisation d'un dosage radioimmunologique sensible et précis ;	42
3.4 Interprétation des résultats du test radioimmunologique (RIA) :	42
4 Le test de séroneutralisation :	42

3.4.1 Principe :	42
3.4.2 Méthode :	43
5 Avantages et inconvénients de chaque méthode (ELISA, HIA, RIA, VN) :	43
PARTIE EXPERIMENTALE.....	45
1. Objectif.....	46
2. Matériels et méthodes.....	46
2.1 Zone et période d'étude :	46
2.2 Matériel.....	46
2.2.1 Matériel animal.....	46
2.2.2 Matériel de prise de sang :	47
2.2.3 Matériel de laboratoire :	47
2.3 Méthodes.....	49
2.3.1 Méthode de prélèvement de sang :	49
2.3.2 Méthode au laboratoire	49
3 Résultats.....	56
3.1 Résultats sérologiques de la Bursite infectieuse (IBD):	57
3.2 Résultats sérologiques de la maladie de Newcastle (NDV) :	58
3.3 Les Résultats sérologiques de la Bronchite Infectieuse (IB) :	58
3.4 Résultats sérologiques de l'influenza H5:.....	59
3.5 Résultats sérologiques de l'influenza IAFP H9 :	60
5. Discussion :	62
6. Conclusion :	63
REFERENCES.....	64
ANNEXES.....	71

Liste des figures

Figure 1: Barrière sanitaire: mesures de biosécurité pour un poulailler sain (2).....	3
Figure 2: La souche H&N Brown (1).....	5
Figure 3 : la souche Brown Rural, la Brown et la blanche W-80 par ordre (10).....	6
Figure 4 : la Lohmann Brown Classic et la Lohmann Tradition par ordre (11).....	6
Figure 5: La souche ISA (8).....	7
Figure 6 : La souche TETRA SL (7).....	7
Figure 7 : La souche NOVOGEN (13).....	8
Figure 8 : Production alimentaire: œufs (naturels) (tonnes) (21).....	9
Figure 9 : Production alimentaire: œufs (naturels) (tonnes) (21).....	10
Figure 10 : Morphology of Infectious bursal disease (IBD) Virus (36).....	13
Figure 11 : Destruction massi	14
Figure 12 : Histologie de la bourse d'un poulet infecté, Follicule infecté présentant une infiltration par des hétérophiles (9).....	14
Figure 13 : Animaux atteint de la maladie de gumboro (38).....	15
Figure 14 : Modèle structural d'un coronavirus (43).....	20
Figure 15 : Néphrite rénale comparer avec le rein normal (44).....	21
Figure 16 : Poulet présentant une conjonctivite.....	21
Figure 18 : Virus de l'influenza aviaire: schéma et micrographie électronique, HA: glycoprotéine à activité hémagglutinante; NA: glycoprotéine à activité neuraminidase; M: matrice; RNP: ribonucléoprotéine (45).....	24
Figure 19 : Nécrose de la crête et des barbillons (9).....	26
Figure 21: Nécrose et hémorragies de la muqueuse du proventricule (9).....	26
Figure 20 : Emphysème et œdème pulmonaire (Cygne) (9).....	26
Figure 22 : Schéma de la structure du virus de la maladie de Newcastle (49).....	28
Figure 23 : Poulet infecté par une souche neurogène du VMN présentant un torticolis et une torsion latérale de la tête et du cou (50).....	30
Figure 24 : Suffusions et hémorragies multifocales sévères des glandes proventriculaires (34).....	31
Figure 25 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique par l'enzyme (54).....	33
Figure 26 : Technique ELISA direct (53).....	34
Figure 27 : Principe du test Elisa indirect (54).....	35
Figure 28 : Technique ELISA sandwich (53).....	35
Figure 29 : Principe d'ELISA compétitif (56).....	36
Figure 30 : Test d'hémagglutination (60).....	37
Figure 31 : Hemagglutination and hemagglutination inhibition test (60).....	38
Figure 32 : : Interaction antigène-anticorps (63).....	40
Figure 33 : Principes du dosage radioimmunol	40
Figure 34 : Radioimmunoassay (64).....	41

Figure 35 : Une carte géographique montrant la localisation de la ferme avicole de l'étude.	46
Figure 36 : Origine des poussins PFP de l'étude (Couvoir Haroun, Reghaia, Alger).	47
Figure 37 : Matériel de laboratoire.	48
Figure 38 : Les Composants du kit ELISA.	50
Figure 39 : Phase de pré-dilution.	51
Figure 40 : : Incubation de la plaque ELISA après dilution.	52
Figure 41 : Préparation et dilution du conjugué.	53
Figure 42 : Lavage automatique des plaques ELISA.	53
Figure 43 : Dépôt du conjugué et incubation de la plaque ELISA.	54
Figure 44 : Lavage automatique des plaques ELISA.	54
Figure 45 : Dépôt de la solution de révélation.	55
Figure 46 : Dépôt de la solution d'arrêt.	55
Figure 47 : Résultats de la lecture des plaques (densité optique et titres en anticorps).	56
Figure 49 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du IBV en fonction de l'âge.	59
Figure 50 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du H5 en fonction de l'âge.	60
Figure 51 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du H9 en	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : La production d'œufs par habitant (22).....	10
Tableau 2 : Prix des œufs de consommation Les dernières années (23), (24), (25), (26), (27), (28).....	10
Tableau 3 : Nombre des aviculteurs en Algérie (29).	10
Tableau 4 : Niveau de production par rapport au nombre (6).	11
Tableau 5 :Différents symptôme de la bronchite infectieuse (34) (42) (9).....	21
Tableau 6 : Avantages et inconvénients de différents types d'ELISA (51) (52).	36
Tableau 7 : Récapitulatif des avantages et inconvénients des différentes méthodes du diagnostic sérologique des maladies virales aviaires (ELISA, RIA, HIA, VN).	43
Tableau 8 : Effectifs mis en place par bâtiment.....	47
Tableau 9 : Détermination des tampons différents pour chaque kit.....	52
Tableau 10 : les différentes durées d'incubation pour chaque type de kit ELISA.	52
Tableau 11 : Protocole de vaccination appliqué dans l'élevage de l'étude.....	56
Tableau 12 : Résultats globales des titres des anticorps du IBD en fonction de l'âge de la poule à J01.	57
Tableau 13 : : Résultats globales des titres d'anticorps du NDV en fonction d'âge de la poule.	58
Tableau 14 : Résultats globales des titres d'anticorps du IBV en fonction d'âge de la poule.....	58
Tableau 15 : Résultats globales des titres d'anticorps du H5 en fonction d'âge de la poule.	59
Tableau 16 : Résultats globales des titres d'anticorps du H9 en fonction de l'âge de la poule.	60

Liste des abréviations

Ac : Anticorps

BI : Bronchite infectieuse aviaire

CV : écart type

DO : Densité optique

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

G.M.T : Le temps moyenne de Greenwich

GALT: Gut Associated Lymphoid Tissue

GRP : Globules rouges de poulet

HA : hémagglutinine

HALT: Head Associated Lymphoid Tissue

HAP : Hémagglutination passive

HN : l'hémagglutinine-neuraminidase

HRP : Peroxydase

HVT : Herpesvirus turkey

IAFP : l'influenza aviaire faiblement pathogène H9

IAHP : l'influenza aviaire hautement pathogène H5

IBDV: Infectious bursal disease virus

ID : Innovative Diagnostics

IFD : Immunofluorescence directe

Ig A : Immunoglobulines G

Ig G : Immunoglobulines G

IHA : Inhibition de l'hémagglutination

IHA : Test d'inhibition de l'hémagglutination

J : Jours

LTI : Laryngotrachéite

M : matrice

NA : neuraminidase

NC : La nucléocapside

NDV: Newcastle

NEG : Négatif

PMV1 : paramyxovirus aviaire de type 1

POS : Positif

Protéine E : enveloppe

Protéine M : Glycoprotéines membranaires

Protéine S : Spicule

RIA : dosage radioimmunologique

RNP : ribonucléoprotéine

TMB : Solution de révélation

VN: Virus neutralisation

S: semaine

Introduction

La production avicole joue un rôle crucial dans l'économie mondiale, fournissant une source importante de protéines animales sous forme de viande et d'œufs. L'un des défis majeurs rencontrés par les éleveurs de poules pondeuses est la gestion efficace de la santé du cheptel, particulièrement en ce qui concerne les maladies infectieuses. La vaccination constitue une stratégie clé pour prévenir ces maladies et garantir la productivité et la santé des poules.

Cependant, l'efficacité de la vaccination dépend de divers facteurs, tels que la qualité des vaccins, les protocoles de vaccination, et l'état immunitaire des oiseaux. Le monitoring sérologique s'impose comme une méthode essentielle pour évaluer la réponse immunitaire post-vaccinatoire et ajuster les stratégies de gestion de la santé en conséquence. Cette approche permet de détecter les anticorps spécifiques produits par les poules en réponse aux antigènes vaccinaux, offrant ainsi une mesure indirecte mais fiable de l'immunité collective et individuelle au sein des élevages.

Le monitoring sérologique présente plusieurs avantages. Il permet d'identifier rapidement les failles dans les programmes de vaccination, de vérifier l'exposition à des agents pathogènes et d'optimiser les calendriers de vaccination pour une meilleure protection contre les maladies. De plus, il contribue à la surveillance épidémiologique et à la gestion des risques sanitaires dans les élevages, ce qui est essentiel pour prévenir les épidémies et maintenir des standards de production élevés à travers l'amélioration de la santé.

Ce mémoire de fin d'étude se propose d'explorer les méthodes de monitoring sérologique de la vaccination en élevages de poules futures pondeuses. Nous analyserons les techniques sérologiques disponibles, leur application pratique, et leur impact sur la gestion sanitaire des élevages. ELISA est la méthode utilisée dans la partie pratique sur les principales affections dans un élevage de poulettes futures pondeuses la bursite infectieuse ou maladie de Gumboro, la maladie de Newcastle, la bronchite infectieuse aviaire, la maladie de l'influenza aviaire hautement pathogène et de l'influenza aviaire (l'IAHP) H5, faiblement pathogène (IAFP) H9.

Le monitoring sérologique est un outil indispensable pour assurer une vaccination efficace et une gestion optimale de la santé des poules pondeuses. Il représente une composante critique de la stratégie de prévention des maladies, favorisant une production avicole durable et prospère.

Ce travail est divisé en deux parties :

La première partie est une synthèse bibliographique, elle présente successivement la Situation de l'aviculture en Algérie, les principales affections dans les élevages de poulettes futures pondeuses, les méthodes de monitoring sérologique.

La deuxième partie rapporte l'étude expérimentale à travers le matériel et la méthodologie utilisé, les résultats et discussion.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Premier chapitre : Situation de l'aviculture en Algérie

1. Technique d'élevage de la poule future pondeuse :

1.1. Préparation du poulailler :

Entre deux lots de volailles

- Tout d'abord, tous les équipements et déchets doivent être enlever après la réforme.
- Nettoyage à sec qui permet d'éliminer tous les déchets.
- Nettoyage humide qui permet d'élimine les matériaux organiques restants à l'aide d'un détergent et d'eau chaude ou d'un nettoyeur haute-pression.
- Désinfection en appliquons un désinfectant et l'attendre qu'il soit sec, et en dernier remettez de la litière propre et les accessoires.
- Fumigation après la réinstallation des équipements(1).

1.2. Barrière sanitaire:

- Il est recommandé d'isoler le poulailler des sources de contamination avec le système "all-in all-out".
- Désinfecter les véhicules lors de leur rentrée.
- Utilisation des combinaisons, des pédisacs et des pédiluves a la rentré du poulailler (2).

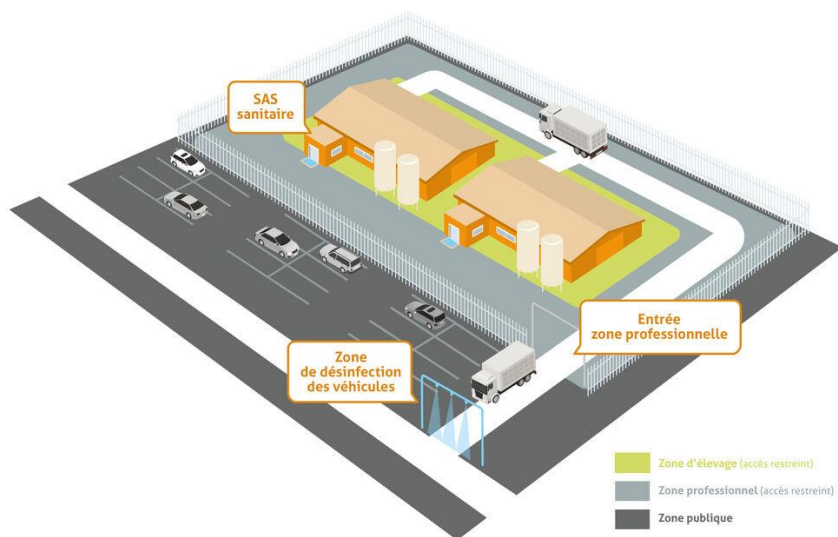


Figure 1: Barrière sanitaire : mesures de biosécurité pour un poulailler sain (2).

1.3. Environnement du poulailler :

1.3.1.Humidité :Doit être entre 60 % et 70 % (3).

1.3.2.Température : Elle doit être entre 21 °C et 27 °C car elle influence la production et la qualité des œufs et leurs coquilles d'une façon importante (1).

1.3.3.Ventilation : permet d'éliminer les gaz toxiques proviennent des fermentations de la litière et l'humidité et préserve la qualité de la fiente(4) en assurant une bonne ventilation en évitant le courant d'air (1).

1.3.4. Lumière : L'utilisation d'un programme lumineux offre la possibilité de contrôler l'âge auquel la maturité sexuelle se manifeste, ainsi que la production d'œufs et le comportement des oiseaux(5). Un excès de lumière peut favoriser le picage(5), et étant donné que leur vision est différente, ils peuvent voir la lumière ultraviolette et infrarouge(1).

Pendant les 2 à 3 premiers jours, la période d'éclairage sera maintenue à 23 à 24 heures afin de favoriser la consommation d'aliments et d'eau (1).

Entre 8 et 18 semaines : 12 à 13 heures de lumière chaque jour. jusqu'à l'obtention du poids minimal requis il est recommandé d'augmenter progressivement la durée de lumière d'une demi-heure par semaine, jusqu'à ce qu'elles bénéficient d'un maximum de 16 heures de lumière quotidienne(6). Une fois que les poules ont commencé à pondre, il est important de ne pas modifier la durée ou l'intensité de la lumière (3).

1.3.5. Alimentation : Le succès de l'élevage de la pondeuse repose principalement sur son alimentation. Par conséquent, il est crucial de mettre en place un programme de rationnement qui doit être soigneusement planifié par des nutritionnistes professionnels formulent ces rations en utilisant un mélange d'ingrédients(afin de fournir un apport énergétique , des acides aminés , du calcium , du phosphore , des oligo-éléments et des vitamines) qui varie selon les étapes de vie de la poulette pour répondre à leurs besoins nutritionnels spécifiques et favoriser une bonne santé et une production d'œufs optimale.

1.3.5.1. Objectifs du rationnement:

- L'âge de la maturité sexuelle de la poulette.
- Produire un lot homogène.
- Réaliser une bonne production d'œuf en qualité et en quantité.
- Economiser l'aliment (6).
- La résistance aux stress en évitent le picage qui peut causer des mortalités (5).

1.3.5.2. Méthodes de rationnement:

- Rationnement quotidien : dans cette technique, la ration est distribuée une fois par jour à une heure précise.
- Rationnement Skip a Day : dans cette technique, la ration est distribuée une seule fois chaque deux jours à une heure précise (5).

1.3.5.3. Concentration énergétique et protéique de la ration :

Table 1: Concentration énergétique et protéique de la ration de la poulette (7).

Période d'élevage	Energie (Kcal EM/Kg)	Protéines brutes (%)
Démarrage : 1j à 8 semaines	2800 à 2850	18 à 20
Croissance : 9 à 18 semaines	2700 à 2750	15 à 16,5

1.3.6. Eau de boisson :

L'eau constitue la principale source de calcium pour les poules(1), et étant donné qu'il représente les deux tiers de la composition de l'œuf(8), sa consommation est significative. Il est donc crucial de garantir un approvisionnement en eau de qualité, ce qui peut avoir un impact majeur sur la production d'œufs et la santé des poules. Idéalement, il est recommandé de disposer de deux sources d'eau (1) et de mettre en place un programme de nettoyage des canalisations pour éliminer les biofilms (9).

2. Souches pondeuses commercialisées en Algérie :

2.1. Souche H&N Brown :

La poule H&N Brown est une poule de choix grâce à ses techniques économiques et est polyvalente caractérisée par leurs taux de production d'œufs, la viabilité, l'efficacité alimentaire et la qualité intérieure et extérieure de l'œuf tel que sa coloration, la performance et son comportement qui facilite son transfert (1).

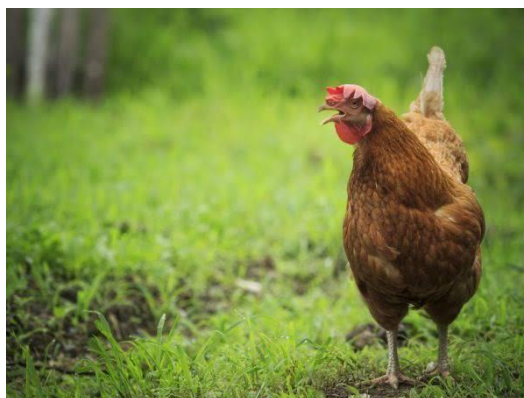


Figure 2: La souche H&N Brown (1).

2.2. Souches Hy-line :

Reconnues pour leurs performances remarquables, leur capacité à s'adapter à divers modes de production, ainsi que pour leur durabilité et leur résistance. Hy-line offre différentes variétés de poules pondeuses, chacune conçue pour répondre à des exigences spécifiques en termes de production d'œufs il y'a plusieurs souches de poules pondeuses Hy-Line : la Brown Rural, la Brown et la blanche W-80 (10).



Figure 3 : la souche Brown Rural, la Brown et la blanche W-80 par ordre (10)

2.3. Souche Lohmann :

En fonction des besoins spécifiques de sa clientèle L'entreprise distribue quatre souches différentes, notamment en Algérie la Lohmann Brown Classic et la Lohmann Tradition. Dominent le marché grâce à leurs performances remarquables, telles qu'un pic de ponte élevé, une persistance de ponte, la couleur et la qualité de la coquille. Ces caractéristiques des pondeuses contribuent à maintenir un niveau de production optimal, quelles que soient les conditions d'élevage (11).



Figure 4 : la Lohmann Brown Classic et la Lohmann Tradition par ordre (11).

2.4. Souche ISA :

La souche ISA Brown est présente en Algérie, elle est connue pour son faible indice de consommation ainsi que pour le petit calibre de ses œufs (8).



Figure 5: La souche ISA (8).

2.5. Souche TETRA SL :

La souche Tetra-SL, l'une des premières introduites en Algérie, est réputée pour sa résistance à certaines maladies (7).



Figure 6 : La souche TETRA SL (7).

2.6. Souche NOVOGEN :

C'est une poule pondeuse polyvalente qui excelle dans tous les aspects de la production, que ce soit en termes de nombre d'œufs, de rendement optimal, de qualité des œufs, de taux de mortalité et d'efficacité alimentaire. Ces caractéristiques se traduisent par des performances techniques remarquables, tout en offrant une facilité d'élevage et une adaptabilité à diverses conditions de production (13).



Figure 7 : La souche NOVOGEN (13).

3. Différents types d'élevage :

3.1. Elevage en batterie :

Consiste à élever les poules dans des cages Cette méthode offre un espace limité pour les déplacements, tout en assurant une production d'œufs optimale dans un environnement hygiénique.

3.2. Elevage au sol :

Consiste à élever les poules dans des bâtiments clos où elles ont la liberté de se déplacer librement sur le sol.

3.3. Elevage en plein air :

Consiste à abriter les poules dans un bâtiment au sol ou une volière, avec un accès quotidien à l'extérieur.

3.4. Elevage biologique :

Exige que les poules soient autorisées à sortir et qu'elles respectent des critères spécifiques afin d'obtenir la certification biologique (13).

4. Statistiques des chiffres en Algérie :

Ces dernières années, le nombre de poules pondeuses en Algérie a connu une forte baisse, passant d'environ 40 millions en 2019 à seulement 8 millions en 2023. Cette diminution d'environ 80% a entraîné une pénurie d'œufs sur le marché local, entraînant une hausse des prix (14). Depuis janvier 2024, le gouvernement a autorisé des importations massives de 400000 poules pondeuses par mois de l'Espagne afin de combler le déficit à l'aide de Deux opérateurs locaux qui doivent également fournir 300 000 poules pondeuses par mois. (15).

4.1. La productivité :

L'Algérie demeure le principal producteur d'œufs de consommation en Afrique du Nord et se classe cinquième à l'échelle du continent africain.

Table 2 : Évolution de la production et des importations des œufs (16), (17), (18).

Périodes	Productions (Unité)
1968	187000
1973	215000
1977	268000
1982	572000
1984-1989	2214000
1990-1995	2143000
1996-1999	1825000
2000-2004	2805000
2005	3528014
2006	3569784
2007	3813062
2008	3837992

Périodes	Productions (Unité)
2009	4049269
2010	4490628
2011	4822477
2012	5326572
2013	5987024
2014	6060558
2015	6644517
2016	6691912
2017	6570417
2018	6257971
2019	6441906
2020	6 169 129

Production alimentaire: œufs (naturels) (tonnes), Algérie

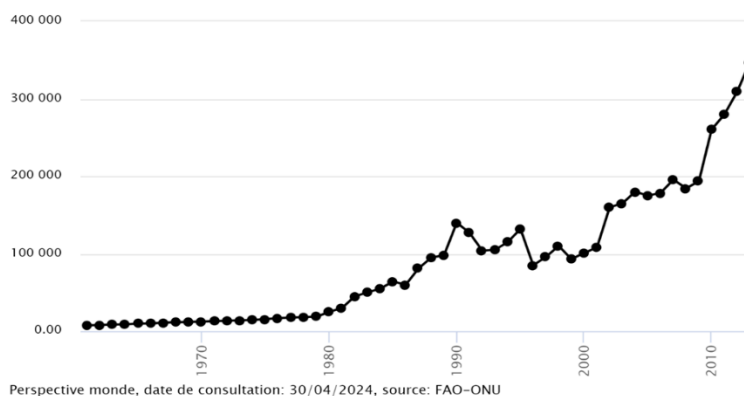


Figure 8 : Production alimentaire: œufs (naturels) (tonnes) (21).

En 2023, l'Algérie a produit 5,63 milliards d'œufs(19), ce qui représente une augmentation de 5,5 % par rapport à 2022 ou une diminution de 7,4 %(20), atteignant 4 milliards d'unités.

Tableau 1 : La production d'œufs par habitant (22).

Année	1979	2005	2015
Par /habitant (œufs)	15	68	150

4.2. Evolution des prix des œufs de consommation les dernières années:

Tableau 2 : Prix des œufs de consommation Les dernières années (23), (24), (25), (26), (27), (28).

	Novembre 2019	Novembre 2021	Octobre 2022	Août 2023	Septembre 2023	Février 2024	Mars 2024
Œufs de consommation (DA)	10 DA	16 DA	18 – 19 DA	25 DA	18 - 25 DA	22 DA	10 à 12 DA

Figure 9 : Production alimentaire: œufs (naturels) (tonnes) (21).

4.3. Nombre d'aviculteurs nationaux:

D'après les informations du tableau n°4, il est évident que le nombre d'aviculteurs (producteurs de viande blanche et d'œufs de consommation) en Algérie a considérablement augmenté pendant la période mentionnée (2014-2018).

Tableau 3 : Nombre des aviculteurs en Algérie (29).

Année	2014	2017		2018	
Dans 48 wilayas	Aviculteurs	Aviculteurs		Aviculteurs	
Sexe	Sexe confondu	Femmes	Hommes	Femmes	Hommes
TOTAUX	14245	741	15958	761	16337

5.Niveau de production par rapport au nombre en Algérie:

Tableau 4 : Niveau de production par rapport au nombre (6).

Année	Effectifs de poules pondeuses (10*3)	Œufs de consommation
2005	14380	3528014
2006	17132	3569784
2007	16380	3813062
2008	17480	3837992
2009	17205	4049269
2010	19669	4 490628

II. Deuxième chapitre : Dominantes pathologies virales de la poulette future pondeuse

1. La bursite infectieuse :

1.1. Définition :

La bursite infectieuse (Infectious Bursal Disease, IBD), communément appelée 'maladie de Gumboro', est une infection virale hautement contagieuse qui affecte les jeunes poulets, causée par un virus appelé IBDV (Infectious bursal disease virus) (30).

Une maladie aiguë sévère chez les oiseaux âgés de 3 à 6 semaines est associée à une mortalité élevée, mais une maladie moins aiguë ou subclinique est courante chez les oiseaux de 0 à 3 semaines (31).

Cette affection virale du jeune poulet est caractérisée par la destruction des organes lymphoïdes et plus particulièrement de la bourse de Fabricius, lieu de différenciation des lymphocytes B chez les oiseaux (32), Elle provoque aussi une diminution significative des fonctions des lymphocytes de type T (9).

1.2. Épidémiologie :

La maladie est rencontrée chez le faisan, le canard, le dindon qui développent la forme subclinique inapparente. Des anticorps anti-IBDV ont été détectés chez la pintade et l'autruche, qui héberge des virus de sérotype 2(33).

Les poulets de moins de 3 semaines présentent des infections subcliniques à la suite d'une immunodépression sévère.

Les poussins disposant d'anticorps maternels sont immunisés contre l'infection quand les taux d'anticorps sont élevés mais deviennent sensibles lorsque les titres diminuent (30).

La transmission s'effectue par voie orale (eau, nourriture, litière contaminée par les fientes...) ou par voie respiratoire et la contamination est assurée par transmission horizontale ; par contact direct avec les individus excréteurs ou par contact indirect avec un vecteur souillé, inanimé (matériel), ou animé (personnel d'élevages, rongeurs, insectes). La transmission indirecte est favorisée par la grande résistance du virus dans le milieu extérieur (32).

Les souches légères de pondeuses sont plus susceptibles à la maladie que les souches lourdes de poulets de chair (30).

1.3. Etiologie :

Le virus de la bursite infectieuse fait partie du genre des Avibirnavirus (famille des Birnaviridae). Le génome est composé de deux segments d'acide ribonucléique (ARN) (32).

C'est un virus non enveloppé, icosaédrique, d'un diamètre d'environ 60 nm (5). Le segment A du génome code les protéines structurales virales VP2, VP3 et VP4. Le segment B code pour VP1, un peptide multifonctionnel impliqué dans la réplication et la transcription du virus (30). Le virus comporte deux principaux sérotypes identifiables par des tests de neutralisation et d'électrophorèse de l'ARN viral et des protéines (30).

Le sérotype 1 comprend plusieurs souches, comportant des antigènes différents entre souches classiques et variantes. Parmi les souches classiques, certaines souches hypervirulentes ont un pouvoir pathogène plus élevé (34), le sérotype 2 a été isolé du dindon lequel il ne provoque qu'une affection subclinique inapparente qui serait quand même immunosuppressive. Les deux sérotypes peuvent infecter aussi bien les poulets que les dindons (35). Un autre groupe de virus a été identifié en fonction de son pouvoir pathogène, ce groupe a été désigné « très virulent » soit very virulent (vvIBDV) car il peut provoquer un taux de mortalité très élevé dans les élevages de poussins sensibles (9).

Le virus de la bursite infectieuse est très résistant aux agents chimiques et physiques. Il résiste à une température de 56°C pendant 5 heures (30).

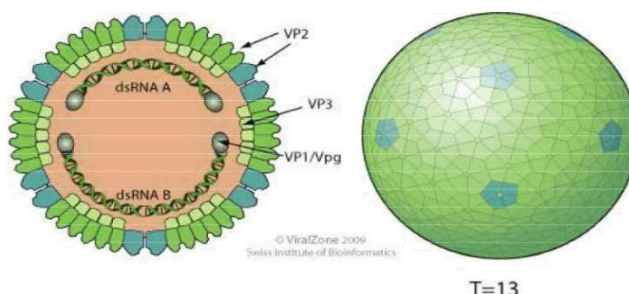


Figure 10 : Morphology of Infectious bursal disease (IBD) Virus (36).

1.4. Pathogénie :

La période d'incubation est de deux à trois jours (35), la pénétration se fait par voie orale (32).

IBDV peut être détecté dans les macrophages et les cellules lymphoïdes du caecum, du duodénum, du jéjunum et des cellules de Kupffer du foie quatre à cinq heures plus tard (30). L'envahissement hépatique précède la virémie qui assure la contamination de nombreux tissus, dont la bourse de Fabricius (32) « bursectomie virale », détruisant les lymphocytes B porteurs de l'immunité à médiation humorale (34).

L'infection de la bourse est suivie d'une virémie secondaire massive ou le virus infecte d'autres organes, notamment la rate, la glande de Harder et le thymus et les lymphocytes B et leurs précurseurs semblent être les principales cellules cibles (30), une réaction inflammatoire de la bourse de Fabricius le 4ème jour qui suit infection, puis atrophie et

dégénérescence en une semaine qui accompagne la nécrose des autres organes lymphoïdes (35).

L'infection à IBDV déprime à la fois la réaction immunitaire humorale et cellulaire de la volaille. La diminution des taux sériques d'Ig G et d'Ig A peuvent être responsables de la sensibilité élevée aux agents pathogènes et de la mauvaise réponse vaccinale chez les poulets infectés par IBDV (30).

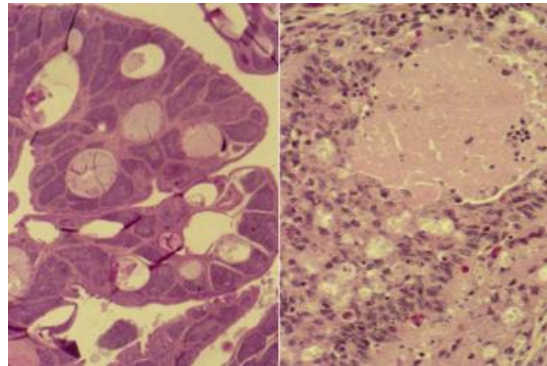


Figure 11 : Destruction massive des cellules lymphoïdes des follicules de la bourse de Fabricius conduit à la formation de kystes à l'intérieur des follicules (9).

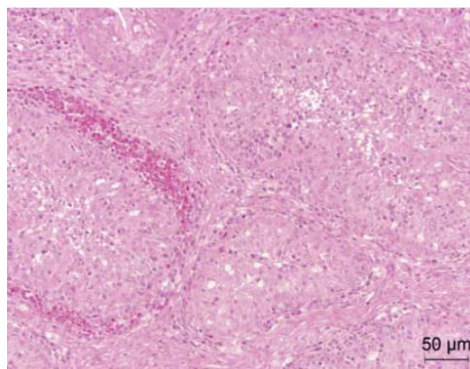


Figure 12 : Histologie de la bourse d'un poulet infecté, Follicule infecté présentant une infiltration par des hétérophiles (9).

1.5. Symptômes :

La mortalité et le tableau clinique varient selon la virulence de la souche d'IBDV (36) :

1.5.1. Forme immunodépressive :

Elle est due à des souches d'IBDV peu pathogènes. L'immunosuppression fait suite à la destruction des lymphocytes B immatures (32), l'infection est généralement suivie d'autres infections opportunistes notamment des maladies respiratoires (9).

Elle entraîne de l'immunodépression forte sans signes cliniques ni mortalité (37) et apparaît sur des animaux jeunes jusqu'à trois semaines d'âge et se traduit par des retards de croissance, des échecs vaccinaux ou par l'apparition de pathologies intercurrentes (34).

1.5.2. Forme aiguë classique :

La maladie s'installe quand l'immunité passive maternelle disparaît et que la bourse de Fabricius murit (36), les oiseaux apparaissent apathiques et peuvent présenter des plumes ébouriffées (9) avec aussi anorexie, diarrhée blanchâtre profuse et aqueuse qui humide la litière, démarche chancelante, tête baissée (35), abattement, prostration, déshydratation, soif intense (30).

La morbidité s'élève à 80 %, la mortalité débute au 3^{ème} jour de l'infection, atteint un pic (10 % voire plus), puis diminue rapidement et les poulets survivants retrouvent un bon état général après cinq à sept jours (32).

1.5.3. Forme atténuée :

Elle correspond à un tableau atténué de la forme aiguë chez des poussins de plus de 6 semaines (34).



Figure 13 : Animaux atteints de la maladie de gumboro (38).

1.6. Lésions :

1.6.1. Lésions macroscopiques :

Les lésions caractéristiques décrites ci-dessous sont celles de la forme aiguë, mais sont retrouvées dans les autres formes de manière variable (32).

Les carcasses des oiseaux morts présentent des signes plus ou moins de déshydratation pour un embonpoint normal (36) avec une décoloration foncée des muscles pectoraux et des muscles des jambes en raison du mécanisme altéré de coagulation (30).

On remarque des hémorragies surtout au niveau des membres et des muscles pectoraux quelquefois sur le myocarde, à la base du proventricule et sur la masse viscérale (34), une quantité anormale de mucus dans le tube digestif est fréquente (32).

Kaufer et Weiss (1980) ont décrit un rein élargi et pâle avec une accumulation d'urates dans les tubules, de telles lésions sont très probablement la conséquence d'une déshydratation sévère (30).

Généralement, la bourse de pendant les 4 premiers jours de l'infection (taille qui double) accompagnée d'un changement de couleur jaune, d'œdème voire d'hémorragie ou d'un exsudat visqueux et jaune. A partir du 5ème jour pi (post infection), on note le début de la phase d'atrophie avec une résorption de l'œdème qui s'accompagne une chute du poids de la bourse (38), la bourse s'atrophie progressivement jusqu'au 8e jour. En fin d'évolution on observe une atrophie des follicules, certain restant kystique (35).

1.6.2. Lésions microscopiques :

Les lésions histologiques de l'IBD se rencontrent principalement dans les structures lymphoïdes, soit la bourse de Fabricius, la rate, le thymus, les amygdales caecales et les glandes de Harder, le tissu lymphoïde associé au tube digestif (Gut Associated Lymphoid Tissue, GALT) et même le tissu lymphoïde associé à la tête (HALT, Head Associated Lymphoid Tissue) (30).

La bourse infectée peut présenter une inflammation accompagnée (36), de la fibrose, de la congestion et d'œdème (qui peut être interstitiel ou intra folliculaire) avec une importante nécrose (38).

Les lymphocytes B sont détruits dans les follicules de la bourse de fabricius ainsi que dans les centres germinatifs et les manchons périvasculaires de la rate (39).

Les cellules non-constitutives habituellement de la bourse peuvent faire leur apparition, on parlera alors d'infiltration cellulaire. On observera une infiltration de lymphocytes T ou bien encore d'hétérophiles dans les follicules (38).

Les infections dues au IBDV peuvent aussi évoluer sous une forme subclinique qui ne sera pas détectée en dehors d'une immunodépression. Les lésions de ces cas subcliniques sont

limitées à une légère atrophie de la bourse. A l'examen histologique, la bourse est dépourvue de lymphocytes (33).

1.7. Diagnostic :

1.7.1. Diagnostic Clinique :

Ça implique la prise en compte de l'historique du troupeau ainsi que des signes cliniques et des lésions post mortem. Évidemment, les poulets âgés de plus de 3 semaines présentent les signes cliniques décrits (31).

La confirmation du diagnostic repose sur l'observation des lésions nécrotiques de la bourse de Fabricius qui sont pathognomoniques. Les infections chez les jeunes animaux ou chez les oiseaux porteurs d'anticorps maternels peuvent souvent être subcliniques, rendant ainsi le diagnostic clinique difficile. Dans de tels cas, l'observation des lésions microscopiques et de l'atrophie histologique est nécessaire (36).

1.7.2. Diagnostic différentiel :

La coccidiose, Marek, bronchite infectieuse (variant à tropisme rénale), Newcastle (formes viscérales, le syndrome de malabsorption) (32).

Le diagnostic différentiel n'est pas toujours évident, il faut avoir recours au diagnostic de laboratoire.

1.7.3. Diagnostic sérologique :

En zone d'endémie, la plupart des lots de poulets de chair présentent des anticorps vis-à-vis de la maladie de Gumboro en fin d'élevage. Malheureusement, les tests sérologiques actuels ne permettent pas de distinguer les anticorps induits par les IBDV pathogènes de ceux induits par les virus atténués vaccinaux, ce qui limite donc la portée diagnostique de la sérologie en zone d'endémie. Par contre, la quantification des anticorps peut être très utile dans le cadre de la prophylaxie médicale ; elle permet de mesurer les niveaux d'anticorps passifs et de déterminer les dates de vaccination (39). Chaque analyse sérologique doit reposer sur un nombre suffisant de sérums individuels représentatifs du lot étudié (tirage au sort). Classiquement, on considère qu'au moins 20 sérums sont nécessaires. De plus, une étude cinétique demande au moins deux analyses sérologiques espacées de trois semaines d'intervalle environ (32).

Les tests quantitatifs les plus utilisés sont la détection des anticorps précipitants par immunodiffusion double en milieu gélosé (36), les tests immuno-enzymatiques de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (40) et le test de séroneutralisation virale révélée sur culture cellulaire (30).

La sérologie est utilisée dans trois cas principaux :

- Cinétique d'anticorps sur les lots de poulets de chair pour confirmer un passage d'IBD.

- Contrôles des anticorps des reproductrices en ponte.
- Calcul de la date de vaccination (36).

1.8. Prophylaxie :

1.8.1. Prophylaxie sanitaire :

La prophylaxie sanitaire doit être rigoureuse : désinsectisation, nettoyage, désinfection, vide sanitaire (35).

1.8.2. Prophylaxie médicale :

La contagion est simultanée pour tous les poussins, une bonne protection des poussins passe par la vaccination des parents car les anticorps maternels persistent 4 semaines si les poules sont bien vaccinées. Dans ces conditions, la transmission immunitaire maternelle persiste pendant toute la ponte.

Il faut chercher à obtenir des poussins au niveau immunitaire élevé et uniforme :

- poussins à taux d'anticorps élevés : lots homogènes.
- poussins à taux d'anticorps bas : lots hétérogènes difficiles à vacciner (35).

La prophylaxie médicale de la maladie de Gumboro est donc basée d'une part sur l'immunisation des reproductrices afin qu'elles transmettent une immunité passive à leur descendance et d'autre part sur une vaccination des poussins permettant une stimulation active de leur immunité (41).

- Les différents types de vaccins :

1.8.2.1. Vaccins à virus inactivés :

Les vaccins inactivés sont utilisés essentiellement dans le but de produire des taux d'anticorps élevés, uniformes et persistants avant la ponte chez les volailles reproductrices vaccinées au moyen de virus vivant ou exposées au virus naturellement (32), Ils sont insensibles aux anticorps maternels des poussins. Ce vaccin induit une protection progressive et de longue durée (36).

1.8.2.2. Vivants atténués :

Leur atténuation est réalisée par passages successifs et adaptation à la culture cellulaire (ou à l'œuf embryonné) (38).

On distingue 3 types de souches vaccinales selon leur degré d'atténuation :

- des souches dites mild, très sensibles aux anticorps d'origine maternelle, qui ne sont pratiquement plus utilisées aujourd'hui.
- des souches dites intermédiaires, qui sont les plus utilisées.

■ des souches dites « intermédiaires plus » ou « chaudes », les plus résistantes aux anticorps d'origine maternelle, utilisées quand la pression virale est plus forte et particulièrement pour maîtriser les souches sauvages hypervirulentes.

Chez les futurs reproducteurs, on réalise les plus souvent deux vaccinations à virus atténué, dans un double objectif : protection de la poulette au début de sa croissance et préparation à l'effet rappel réalisé par l'injection du vaccin inactivé avant l'entrée en ponte (35).

1.8.2.3. Les nouveaux vaccins Gumboro :

Des vaccins Gumboro innovants, insensibles aux anticorps d'origine maternelle, ont été récemment mis sur le marché à l'échelle mondiale :

1.8.2.3.1. Les vaccins immuns complexes : Ces complexes immuns entre antigène et permettrait notamment une meilleure résistance à la dégradation des anticorps au sein des follicules des organes lymphoïdes de l'organisme. Ce système de vaccination permet aussi d'éviter l'écueil de la neutralisation du vaccin par les anticorps maternels. Cette dernière caractéristique permet l'injection de la suspension vaccinale in ovo à 18 jours d'incubation (38).

1.8.2.3.2. Les vaccins recombinants : Ils sont fabriqués à partir des virus vivants codant pour des protéines de la maladie de Gumboro. 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 V P2 et pourra être utilisé contre IBD. Le vaccin recombinant deviendrait un vaccin bivalent qui peut conférer une protection contre la maladie de Gumboro et contre l'autre maladie aviaire (Huang et al., 2004). 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% (41).

1.9. Traitement :

Il n'existe pas de traitement spécifique pour la maladie. Facilitez l'accès à l'eau pour prévenir la déshydratation. Comme pour toute maladie, optimisez le climat et réduisez le stress au minimum. Utilisez des antibiotiques pour limiter l'impact des infections secondaires (34).

2. La bronchite infectieuse :

2.1. Définition :

C'est une maladie infectieuse contagieuse due à un coronavirus affectant la poule, elle occasionne des pertes économiques en provoquant des signes respiratoires à l'origine de retard de croissance chez le poulet de chair et une chute de ponte chez les pondeuses. Elle provoque des pertes économiques importantes beaucoup plus que la morbidité qui l'accompagne que par la mortalité qu'elle provoque (42), elle est définie comme une maladie rapidement transmissible affectant les tractus respiratoire, urogénital et intestinal (33).

2.2. Etiologie :

Le virus de la bronchite infectieuse appartient à la famille des Coronavirale au genre Coronavirus dans l'ordre des Nidovirales (33), les coronavirus sont des virus à ARN simple brin de 80 à 160 nanomètres, qui se multiplient dans le cytoplasme de la cellule hôte (35). L'enveloppe est formée des protéines S (spicule), M et M' (glycoprotéines membranaires) et E (enveloppe). La nucléocapside (NC), formée par l'ARN génomique associé à la protéine N, est contenue dans la capsid, elle-même entourée de l'enveloppe. La protéine S est responsable de l'attachement à la cellule, de l'héماغglutination, de la fusion membranaire et de l'induction de la neutralisation des anticorps (43).

Le corona virus est peu résistant à la chaleur, stables à pH compris entre 6 et 8 et sensibles à la plupart des désinfectants (35).

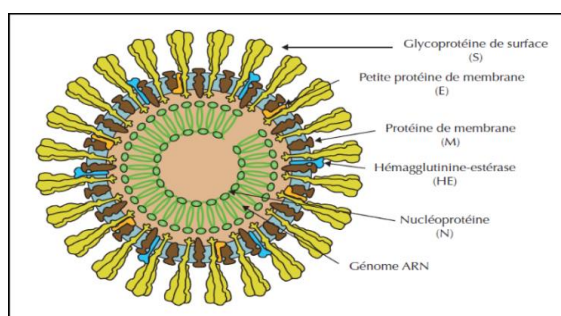


Figure 14 : Modèle structural d'un coronavirus (43).

2.3. Epidémiologie :

Les principales voies d'entrée du virus chez les oiseaux sensibles sont respiratoires et conjonctivales. Après multiplication dans divers organes internes, les nouveaux virions quittent le corps par les sécrétions muqueuses des voies respiratoires et les fientes. Le virus BI est aussi présent dans l'œuf au début de la phase virémique de la maladie. Dans le bâtiment avicole, le virus BI est propagé par la poussière, l'eau de boisson contaminée et la litière (33).

2.4. Pathogénie :

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire infecte initialement les cellules ciliées et mucosales de l'appareil respiratoire supérieur. La persistance virale dans la trachée est variable selon les souches virales, et IBV peut être détecté jusqu'à 14 jours post infection. L'IBV possède aussi un tropisme pour d'autres tissus non respiratoires : le rein, l'oviducte, le testicule, ainsi que certaines portions du tube digestif (œsophage, proventricule, duodénum, jéjunum, rectum, cloaque).

Le virus peut être isolé dans les organes lymphoïdes : organes lymphoïdes primaires (bourse de Fabricius) et secondaires (glande de Harder, tonsilles caecales) (42).

2.5. SYMPTOMES :

Elle affecte les oiseaux de tout âge mais s'exprime différemment après une courte incubation (20 à 36 heures) caractérisé par plusieurs formes (42).

Tableau 5 : Différents symptôme *de* la bronchite infectieuse (34) (42) (9).

Forme respiratoire	Forme rénale	Forme génitale
-La morbidité peut atteindre 100%. - Abattement, frilosité. - Râles, toux, éternuements. - Jetage séro-muqueux, jamais hémorragique. - Dyspnée. - Conjonctivites, sinusites.	-une néphrite associée à une urolithiase (précipitations minérales dans le rein). -Dans ces formes rénales, les signes respiratoires sont souvent discrets et les symptômes digestifs dominant.	-un blanc d'œuf aqueux. -La couleur, la grosseur et la solidité des œufs pondus varie énormément au sein du troupeau affecté. -les œufs de coquille brune sont décolorés. - les œufs présentent des dépôts de calcium sur leur surface. -Coquilles altérée qui se cassent facilement.



Figure 15 : Néphrite rénale comparer avec le rein normal (44).



Figure 16 : Poulet présentant une conjonctivite.

2.6. Lésions :

2.6.1. Lésion de l'appareil respiratoire :

L'ouverture de la trachée et des bronches révélera quelques pétéchies jamais d'hémorragie. Les voix aérophores, les sinus et les sacs aériens sont remplis d'un enduit catarrhal puis muqueux voir mucopurulent en cas de surinfection bactérienne (41).

2.6.2. Lésion de l'appareil génitale :

Les femelles auront l'oviducte atrophié ou infantile. Ces lésions précoces vont se traduire par la formation de kystes. Un albumen fluide, des ponctuations hémorragiques du vitellus, des coquilles déformées et cassantes. Et rupture des follicules ovariens dans l'abdomen.

Il y a parfois des pontes intra-abdominales lorsque ces femelles deviennent adultes. Les mâles auront les testicules définitivement atrophiés (42).

2.6.3. Lésion de l'appareil rénale :

Elles sont caractérisées par la présence des cristaux d'autres au niveau des tubules rénaux, avec des lésions dégénératives granulaires et une de l'épithélium intestinal (41).

2.7. Diagnostic :

2.7.1. Diagnostic sérologique :

Les prélèvements adaptés sont délicats à réaliser. Il faut les faire précocement et les envoyer rapidement sous régime du froid au laboratoire d'analyses (34).

On peut révéler les anticorps sériques par les différentes techniques classiques : immunoprécipitation, séroneutralisation, IHA (inhibition de l'hémagglutination), ELISA (34).

L'isolement primaire de toutes les souches ou types de virus BI est également possible sur œufs embryonnés de poulet par l'inoculation dans la cavité allantoïque d'œufs âgés de 9 à 11 jours.

Une autre technique plus avancée et plus sensible est l'immunofluorescence spécifique de sérotype sur des cellules allantoïques d'embryons de poulet infectés (9).

2.7.2. Diagnostic histologique :

L'examen histologique après coloration à l'hématoxyline et l'éosine de coupes de l'appareil respiratoire, des reins et de l'intestin grêle peut aider au diagnostic. L'examen immunohistochimique de ces coupes avec un sérum hyperimmun conjugué avec l'isothiocyanate de fluorescéine permet de confirmer la présence du virus (9).

2.7.3. Diagnostic différentiel :

Les symptômes respiratoires de la bronchite infectieuse peuvent ressembler à ceux d'autres maladies respiratoires aiguës, telles que la maladie de Newcastle (ND), la laryngotrachéite (LTI) ou le coryza infectieux. La chute de ponte et les déformations de coquille induites par la BI sont généralement comparables à celles induites par le passage du syndrome chute de ponte EDS 76 (adénovirus) (42).

2.8. Traitement :

Il n'existe pas de traitement spécifique à la bronchite infectieuse, Un traitement antibiotique permet de prévenir les surinfections bactériennes (notamment l'aérosaculite) (42).

2.9. Prophylaxie :

2.9.1. Prophylaxie sanitaire :

Toutes les mesures sanitaires sont d'actualité mais insuffisante. Il faut les optimiser par une prévention médicale (41).

2.9.2. Prophylaxie médicale :

Le contrôle vaccinal de la bronchite infectieuse aviaire implique à la fois l'usage de vaccins vivants atténués et de vaccins inactivés. Les vaccins vivants sont employés pour les poulets de chair et pour les primo-vaccinations des animaux à vie longue (reproducteurs, pondeuses). Les vaccins inactivés, à adjuvants huileux, sont utilisés chez les reproducteurs et les pondeuses avant l'entrée en ponte. Les vaccins atténués permettent une mise en place rapide de l'immunité (d'abord locale puis systémique), mais qui décline dès 9 semaines après la vaccination, alors que les vaccins inactivés procurent une immunité durable (42). La vaccination se fait à 1 jour, par Eau de boisson, nébulisation, Installation oculaire (peu utilisée). Trempage du bec (34).

-Vaccins à virus vivants : La souche H120, très atténuée, est utilisée chez les poussins d'un jour sans risque de provoquer des troubles respiratoires. La souche H52, moins atténuée est réservée aux rappels. -Vaccins à virus inactivés : Ils sont utilisés chez les pondeuses avant la ponte à l'âge de 14 à 20 semaines (42).

-Vaccins disponibles :

- Souche H120, très atténuée, utilisable chez les jeunes oiseaux : c'est de loin la plus utilisée.
- Souches de coronavirus variants : CR88,4/91,739B et le QX.
- Souches CR88, CR84, D 207/274 dans les vaccins inactivés (34).

3. Influenza aviaire :

3.1. Définition :

La grippe aviaire, peste aviaire ou influenza aviaire est une affection virale à tropisme respiratoire, entérique et nerveuse, elle est hautement virulente avec 100% de mortalité atteignant les volailles domestiques et sauvages (43), elle peut également infecter les mammifères y compris l'Homme (41).

Il existe différents types de virus Influenza : A, B et C. Les virus de type B et C ne sont jamais responsables de pandémies. Ils provoquent des infections rhinopharyngées banales, n'évoluant pas sous forme d'épidémies (44).

Seuls les virus influenza de type A ont une importance en médecine vétérinaire (9).

3.2. Etiologie :

Le virus de l'influenza aviaire est un Influenza virus A de la famille des Orthomyxoviridae, Il s'agit d'un virus enveloppé de 80 à 120 nm de diamètre. Il comprend huit segments d'ARN monobrans négatifs codant pour dix protéines virales (45).

La surface externe est recouverte de glycoprotéines virales ayant une activité hémagglutinine et de fusion, noté HA, ou une activité neuraminidase, notée N. La glycoprotéine HA, et dans une moindre mesure la glycoprotéine N, sont les cibles de la réponse immunitaire. Les différents sous-types du virus se caractérisent par la combinaison d'une hémagglutinine et d'une neuraminidase. Il existe au sein de l'espèce Influenza A 18 hémagglutinines et 11 neuraminidases différentes. Il y a généralement peu ou pas de protection croisée entre les sous-types. Chaque sous-type comprend plusieurs souches qui diffèrent (45).

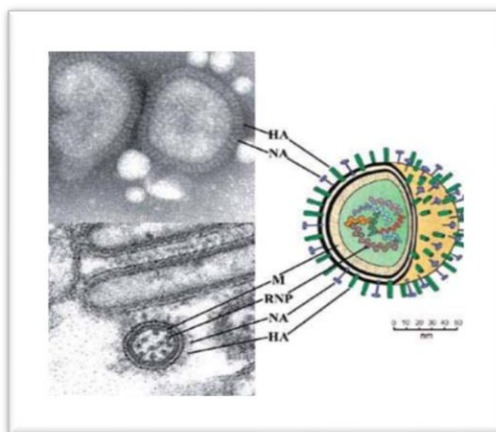


Figure 17 : Virus de l'influenza aviaire: schéma et micrographie électronique, HA: glycoprotéine à activité hémagglutinante; NA: glycoprotéine à activité neuraminidase; M: matrice; RNP: ribonucléoprotéine (45).

3.3. Épidémiologie :

Les virus influenza ont un grand nombre d'hôte et infectent l'homme, le porc, les oiseaux, le cheval ...etc. bien que dans certains pays l'affection est endémique alors que dans d'autre, elle est exceptionnelle, la transmission des virus influenza aviaires « H5N1, H9N2 » des volailles a l'homme est possible par conséquent ils présentent une menace en santé publique (43).

La transmission du virus a lieu par contact direct avec un individu infecté ou par contact indirect via les sécrétions respiratoires ou une contamination fécale. La survie du virus dans l'environnement dépend de l'humidité, de la température et de la salinité. Il peut survivre plusieurs mois dans un habitat frais et humide, environnement souvent fréquenté par les oiseaux d'eau, principaux hôtes du virus de l'influenza aviaire. Le virus peut survivre jusqu'à 105 jours dans les fèces (45).

3.4. Symptômes et lésions :

L'incubation dure en moyenne de 24 à 48h (41), il existe trois formes cliniques avec un aspect lésionnel variable et dépend de la virulence et de la souche virale infectante (43).

3.4.1. Influenza très pathogène : mortalité élevée jusqu'à 100%, associée aux signes cliniques décrits pour la peste aviaire, détresse respiratoire, larmolement, sinusite, œdème de la tête, diarrhée, œdème des pattes, chez les jeunes la mort soudaine sans signes cliniques (46).

Lésions : cyanose et œdème de la tête, présence de vésicule et d'ulcération sur la crête, œdème des pattes, pétéchies sur la graisse abdominal, les surfaces muqueuses et séreuses (43).

3.4.2. Influenza modérément pathogène : morbidité élevée, troubles respiratoires, chute ou arrêt de ponte, dépression aërosaculite et mortalité moins importante 50-70% que la précédente

Lésions : lésions congestives, hémorragiques, transudatives et nécrotiques d'importance variable et résultant de la destruction de vaisseaux sanguins, sont observés dans divers organes, des exsudats fibrineux sont observés dans les sacs aériens, le péricarde, la cavité péritonéal et l'oviducte (43).

3.4.3. Influenza peu pathogène : infection inapparente, légère troubles respiratoires, diminution de la ponte.

Lésions : Des inflammations légères à modérées des voies respiratoires et de la conjonctive, chez les poules pondeuses ovaire et oviducte sont souvent involutées (46).



Figure 18 : Nécrose de la crête et des barbillons (9).

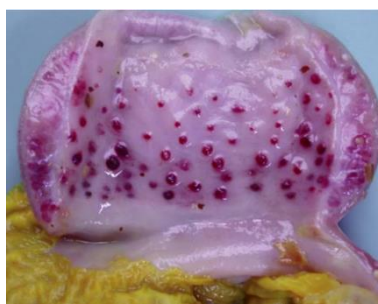


Figure 19: Nécrose et hémorragies de la muqueuse du proventricule



Figure 20 : Emphysème et œdème pulmonaire (Cygne) (9).

3.5. Diagnostic :

Le diagnostic de la grippe est avant tout clinique mais il doit tenir compte du contexte épidémiologique. Mais d'autres virus peuvent induire de tels symptômes. Le diagnostic de certitude de la grippe repose sur les examens de laboratoire. La recherche des virus grippaux se fait dans des prélèvements précoces, riches en virus. Les lavages ou aspirations nasales, les écouvillonnages nasaux, les aspirations trachéales ou bronchiques conviennent très bien. Pour pallier la labilité des virus grippaux, les sécrétions sont recueillies dans un milieu de transport protecteur et si possible conservées au froid à 4°C ou -70°C (44).

L'isolement du virus est souvent nécessaire pour caractériser complètement un foyer de virus influenza chez des volailles. Le virus est classiquement cultivé sur des œufs embryonnés mais il peut aussi être isolé sur différents types de cultures cellulaires. Le virus est essentiellement testé en premier lieu sur sa capacité à hémagglutiner des hématies de poulet.

Il est ensuite caractérisé par le typage des protéines de l'hémagglutinine et de la neuraminidase, ceci par l'emploi de tests d'inhibition avec des anticorps spécifiques. Actuellement un test sur l'animal est aussi nécessaire pour déterminer si le virus doit être considéré comme hautement pathogène.

L'examen sérologique peut aussi être employé pour identifier les troupeaux ayant été exposés au virus. Les plus courants sont le test d'immunodiffusion sur gélose IDG qui détecte les anticorps des protéines de la nucléocapside et de l'enveloppe virale (M1) correspondant à tous les virus influenza de type A et les tests ELISA qui détectent seulement la protéine de la nucléocapside. Les deux types de tests sont couramment utilisés pour le diagnostic au laboratoire (9).

Diagnostic différentiel : New Castle, rhinotrachéite infectieuse, syndrome infectieux de la grosse tête (47).

3.6. Traitement :

Seules les complications bactériennes observées chez les animaux infectés par des souches peu pathogènes peuvent être traitées aux antibiotiques (46).

3.7. Prophylaxie :

3.7.1. Prophylaxie sanitaire : quarantaine des troupeaux infectés associée à une zone de quarantaine autour des fermes infectées, en second lieu la biosécurité doit être élevée avec la restriction des accès au personnel et au matériel d'élevage, les troupeaux contaminés doivent être réduits toutes les mesures de polices sanitaires prévues en cas de MRLC (43).

3.7.2. Prophylaxie médicale : Il est possible de vacciner les volailles contre l'infection par le virus de l'influenza, cependant l'extrême diversité des sérotypes complique considérablement cette vaccination (46).

Les vaccins influenza doivent être spécifiques des sous-types puisqu'il n'y a qu'une faible protection croisée (ou pas de protection croisée) entre les sous-types. La protection contre les infections influenza est essentiellement due aux anticorps neutralisants pour le gène de l'hémagglutinine.

Deux types de vaccins, les vaccins inactivés adjuvés et les vaccins recombinants vectorisés, sont utilisés. Le vaccin inactivé adjuvé est produit à partir d'œufs embryonnés et mélangé avec une émulsion huileuse. Il est administré par injection intramusculaire ou sous-cutanée. Ce vaccin génère une bonne réponse immunitaire humorale, mais ne procure pas d'immunité cellulaire. En raison des adjuvants utilisés, ces vaccins nécessitent un long délai d'attente, ce qui limite considérablement leur utilisation.

Les vaccins recombinants sont des vaccins utilisant comme vecteur la souche vaccinale du virus variolique aviaire ou l'herpès virus du dindon (Herpesvirus turkey ou HVT), le gène de l'hémagglutinine du virus influenza étant inséré sur le vecteur viral. Ces vaccins induisent une réponse immunitaire contre le vecteur viral (variole ou maladie de Marek) et le gène de l'hémagglutinine du virus influenza vectorisé. Ces vaccins présentent plusieurs avantages potentiels. En premier lieu, ils ne contiennent pas de virus IA et secondairement, les oiseaux vaccinés peuvent être distingués des oiseaux infectés naturellement car ils n'auront pas d'anticorps NP. Enfin, seul le sous-type H5 du virus influenza est disponible avec ce vaccin recombinant. L'inconvénient de ces vaccins est l'échec vaccinal lorsque les oiseaux ont été immunisés contre le virus vecteur (9).

4. La maladie de Newcastle :

4.1. Définition :

La maladie de Newcastle (ND) est une maladie infectieuse très contagieuse, affectant surtout les oiseaux et particulièrement les gallinacées. Provoquée par le paramyxovirus aviaire de type 1 (PMV1) de la famille des paramyxoviridae genre Rubulavirus. Le NDV (Newcastle disease virus) affecte au moins 117 espèces d'oiseaux appartenant à 17 ordres.

Elle a été diversement nommée « peste aviaire atypique, pseudo peste aviaire, maladie de Ranikn et pneumo-encéphalite... » (41).

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 (48).

4.2. Caractéristiques, virulence et tropisme du virus :

Ce virus se caractérise par un ARN monocaténaire non segmenté de polarité négative et une capsid de symétrie hélicoïdale entourée d'une enveloppe dérivée de la membrane plasmique de la cellule infectée. Cette enveloppe est hérissée de spicules de deux glycoprotéines différentes : l'hémagglutinine-neuraminidase (HN) responsable de l'attachement du virus sur les récepteurs cellulaires et la glycoprotéine F qui induit la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire et permet la pénétration de la nucléocapside et de l'ARN viral dans la cellule. Neuf sérotypes différents de paramyxovirus aviaires, désignés PMV-1 à PMV-9, peuvent être distingués sur la base de tests d'inhibition de l'hémagglutination.

Le séquençage du gène de la protéine de fusion F a permis d'identifier au moins six lignées distinctes de NDV (lignées 1 → 6) tandis que l'analyse génétique complète du génome a révélé l'existence de deux divisions majeures, les Classes I et II, la deuxième classe pouvant être subdivisée en huit génotypes (génotype I → VIII). (9)

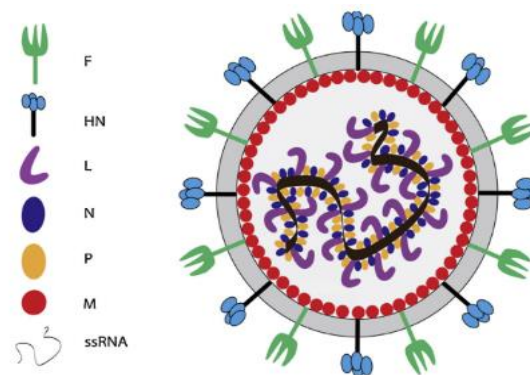


Figure 21 : Schéma de la structure du virus de la maladie de Newcastle (49).

Les virus de la maladie de Newcastle sont classiquement répartis en 5 pathotypes :

- les souches vélogènes viscérotropes donnent une maladie aiguë mortelle avec des lésions hémorragiques du tube digestif.
- les souches vélogènes neurotropes provoquent une forte mortalité avec des symptômes respiratoires et nerveux (44).
- les souches mésogènes qui provoquent une forme se caractérisant par des signes respiratoires, des signes nerveux occasionnels mais une mortalité relativement faible.

- les souches lentogènes qui provoquent une forme se traduisant par une infection respiratoire mineure ou inapparente.
- les souches asymptomatiques entériques qui provoquent une forme se traduisant généralement par une infection intestinale inapparente (50).

4.2.1. 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 (48).

4.2.2. Pouvoir antigène et immunogène :

- Le pouvoir antigène est assez spécifique malgré des réactions croisées avec d'autres PMV.
- Le pouvoir immunogène repose sur la glycoprotéine de type F (34).

4.3. Épidémiologie et transmission :

ND est endémique à travers la majorité du monde, malgré la large utilisation des vaccins on note des épidémies sporadiques observées. La transmission du NDV entre les volailles à lieu par la voie fécal-oral, les volailles infectées excrètent le virus par voie aérogène ou/et fécal qui peut être ensuite inhalé par d'autres volailles saines ou par le transport du matériel contaminé (sol, litière, équipement...) (43).

4.4. Pathogénie :

Multiplication locale du virus dans les cellules de la porte d'entrée du virus (par exemple, les voies respiratoires).

- Virémie (ou circulation du virus dans le sang) : multiplication du virus dans les tissus lymphoïdes. Lésions des parois vasculaires.
- Localisation : le virus se multiplie dans un ou plusieurs tissus selon le tropisme de la souche (tube digestif, appareil respiratoire, système nerveux).
- Disparition : le virus disparaît peu à peu du sang et des organes des oiseaux infectés en quelques semaines (43).

4.5. Symptômes :

La période d'incubation est de 5-7 jrs et peut même durer plusieurs semaines, la mortalité peut atteindre 100% en 12-24 heures (43).

4.5.1. Forme suraiguë :

Symptômes généraux (abattement, inappétence, plumes ébouriffées...) et mort en 24-48 heures (48).

4.5.2. Forme aigue :

C'est la plus courante , elle commence par des signes généraux : abattement , plumage ébouriffé avec œdème , cyanose ou hémorragie des caroncules, crête et barbillons ensuite avec association ou non des symptômes digestives : diarrhée fétide verdâtre à hémorragique ,des symptômes respiratoires : éternuement , dyspnée importante et symptômes nerveux : convulsion, ataxie, paralysie d'un ou plusieurs membres la production des œufs diminue fortement, ceux-ci sont plus petits ,dépigmenté , la mort survient en quelque jours dans 80-90% des cas , parfois guérison avec une Longue période de convalescence associé à des séquelles (43).

4.5.3. Formes subaigüe et chronique :

Elles correspondent à l'étalement dans le temps des formes aigües avec exacerbation des signes respiratoires le plus souvent. Il y a fréquemment complication de mycoplasmoses, colibacillose, pasteurelloses, clamydiose. Chute de ponte sur les pondeuses, apparition rare de diarrhées et paralysie (46).

4.5.4. Forme inapparente :

Existence de formes asymptomatiques inapparentes est certainement bien plus fréquente que l'on pourrait le supposer (34).



Figure 22 : Poulet infecté par une souche neurogène du VMN présentant un torticollis et une torsion latérale de la tête et du cou (50).

4.6. Lésions :

Des lésions de la muqueuse pharyngée, œsophagienne et trachéal qui est couverte d'un mucus abondant, congestionnée et parfois hémorragique (43).

Des lésions intestinales consistant en zones hémorragiques ou nécrotiques localisées principalement au niveau des formations lymphoïdes et notamment des amygdales caecales, des hémorragies sur la muqueuse du proventricule et de gésier (46).

Ventricule succenturié (les papilles glandulaires sont décapées surtout à la jonction œsophagienne pro ventriculaire) (41).



Figure 23 : Suffusions et hémorragies multifocales sévères des glandes proventriculaires (34).

4.7. Diagnostic :

4.7.1. Diagnostic épidémiologique : Mortalité et contagiosité importantes.

4.7.2. Diagnostic clinique : Polymorphisme clinique, évolution rapide (24h), mortalité très importante, lésions de l'appareil digestif.

4.7.3. Diagnostic différentiel :

- Septicémie : pasteurellose, salmonellose (typhose), colibacillose (colisepticémie)
- Atteinte digestive : coccidioses, intoxication grave
- Atteinte respiratoire : LTI, BI, MRC, Encéphalomyélite.
- Atteinte nerveuse : maladie de Marek.
- Atteinte génitale : Encéphalomyélite (47).

4.7.4. Diagnostic paraclinique :

Recours au laboratoire pour la mise en évidence du virus (Hémagglutinine, AC neutralisant) par la sérologie : IFD (Immunofluorescence directe), IHA (Inhibition de l'hémagglutination), HAP (Hémagglutination passive), ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) (47).

4.8. Traitement :

Seules les complications bactériennes observées chez les animaux infectés par des souches peu pathogènes peuvent être traitées par une antibiothérapie (9).

4.9. Prophylaxie :

4.9.1. Prophylaxie sanitaire : respect des mesures de biosécurité pour garder les troupeaux indemnes (43).

4.9.2. Prophylaxie médicale :

4.9.2.1. Vaccins à virus vivant :

Les vaccins à virus vivants commercialisés se répartissent en 2 groupes : vaccins lentogènes tels que Hitchner-B1, La Sota, et vaccins mésogènes tels que Roakin, Mukteswar et Komarov, la multiplication du virus est généralement effectuée dans la cavité allantoïque d'œufs de poulets embryonnés, mais certaines souches, et notamment des souches mésogènes, ont été adaptées à différents systèmes de culture tissulaires (49).

- La souche hitchner B1 (HB1) peut provoquer d'éphémères réaction vaccinales elle est universellement utilisée en primo-vaccination

-La sota est moins atténuée pour le genre GALLUS que HB1 et peut entrainer des troubles respiratoires sur des animaux sains.

-La souche VG/GA ; c'est souche vaccinale entérotrope, administrée dans l'eau de boisson ou en nébulisation (41), présente l'intérêt d'entraîner une bonne immunité, tout en évitant les complications respiratoires (34).

4.9.2.2. Vaccins à virus inactivés :

Les souches vélogènes sont les plus utilisées pour ces vaccins inactivés. Ils confèrent une immunité élevée et durable après injection aux oiseaux (34).

4.9.2.3. Vaccins recombinants :

Il a été prouvé que les vaccins à base de vecteur du virus Fowlpox (FPV) exprimant la protéine F ou HN du NDV protège les poulets contre un challenge avec la souche très virulente NDV. Plus tard, plusieurs études ont été menées, employant les deux gènes (seuls ou en combinaison, également avec d'autres gènes viraux), pour étudier l'efficacité protectrice des vaccins recombinants.

Sonoda et al., 2000 ont montré qu'un vaccin recombinant rHVT-ND est capable de prévenir la forme clinique de la maladie et la mortalité chez le poulet en présence d'anticorps maternel après un challenge avec un virus NDV virulent six semaines après la vaccination. En effet, les anticorps induits après l'administration des vaccins rHVT-ND se produisent au même moment où les anticorps maternels diminuent. D'autres études ont rapporté que les vaccins rHVT-ND ont de nombreux avantages, parmi lesquels ils peuvent être administrés in ovo ou en écloserie ou par voie sous-cutanée après l'éclosion, et produisent à long terme l'immunité (49).

III. Troisième chapitre : Revue sur les moyens de diagnostic sérologique des maladies virales aviaires

Différents protocoles sont généralement utilisés dans la pratique clinique en fonction du but de l'essai, le type d'échantillon analysé et la pureté des réactifs.

1. La technique ELISA :

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay est une méthode de dosage immunologique a été créée pour remplacer les procédés de dosage radio-immunologiques utilisant la radioactivité. Elle permet de détecter et/ou de mesurer un antigène ou un anticorps dans un échantillon. Cette méthode repose sur la mise en évidence d'une réaction antigène-anticorps par une réaction colorimétrique enzymatique. Le couplage de l'enzyme à l'anticorps provoque une réaction chimique qui métamorphose son substrat en un composé coloré (51). En général, on effectue des tests ELISA sur des plaques de microtitrage multipuits et ils permettent de repérer des molécules d'intérêt à des concentrations très basses, d'environ un picogramme par millilitre. C'est la raison pour laquelle on les utilise fréquemment en biologie moléculaire afin de repérer et mesurer des molécules comme les peptides, les protéines, les anticorps ou même d'antigènes, dans un échantillon (52).

Il existe de nombreuses applications de la technique ELISA, telles que :

- Détection de virus et de bactéries.
- Diagnostic de maladies infectieuses et auto-immunes.
- Suivi de la réponse immunitaire.
- Développement de vaccins.
- Recherche fondamentale en biologie moléculaire.

1.1. Principe du test ELISA :

L'ELISA fonctionne sur un support solide (puits de microplaques, billes, microparticules) recouvert soit d'antigène pour la détection des anticorps, soit d'anticorps monoclonaux pour la détection des antigènes. Le sérum du patient est placé au contact du support ainsi revêtu, un complexe antigène-anticorps se forme, la révélation de ce complexe est réalisée par la fixation d'une enzyme transformant un substrat donné en composé coloré ou émettant un signal, la détection du signal étant assurée par un spectrophotomètre.(53)

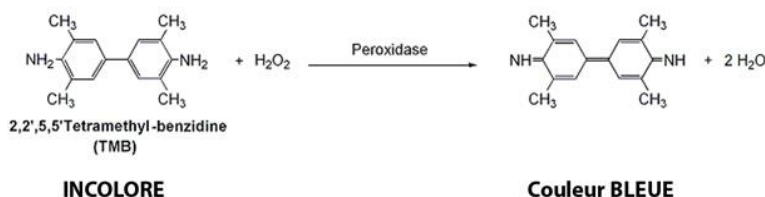


Figure 24 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique par l'enzyme (54).

La peroxydase peut être une enzyme associée à l'anticorps secondaire (figure 01). C'est une enzyme oxydase qui dégrade les peroxydes. En oxydant différents substrats, on obtient un composé chromogénique comme résultat final.

1.2. Les types d'ELISA :

1.2.1. ELISA direct :

En général, on utilise l'ELISA direct comme pour la coloration immunohistochimique de cellules ou de tissus (55).

Il s'agit d'un examen en deux étapes (sans prendre en compte le lavage et le blocage). L'analyte d'intérêt doit être fixé d'abord sur la surface solide du puits. L'étape suivante consiste à introduire un anticorps primaire avec une enzyme dans l'essai. D'après la méthode de détection, le substrat et des agents d'arrêt sont ensuite ajoutés au puits, ce qui permet d'enregistrer le signal de lecture final. Dans ce genre d'essai, il est habituel d'isoler et de purifier l'échantillon (analyte), car d'autres protéines de l'échantillon peuvent interagir avec la phase solide, ce qui peut entraîner une erreur dans l'essai. Il est important de souligner que tous les anticorps peuvent être marqués par une enzyme, ce qui limite ce type de dosage (53).



Figure 25 : Technique ELISA direct (53).

1.2.2. ELISA indirect :

Le principe de l'ELISA indirect consiste à détecter la présence d'un anticorps spécifique dans un échantillon.

Il suit les mêmes étapes que le test direct, à l'exception du test étiqueté anticorps, qui est un anticorps secondaire. Bien qu'il permette d'accéder à une plus grande diversité d'anticorps secondaires marqués (53).

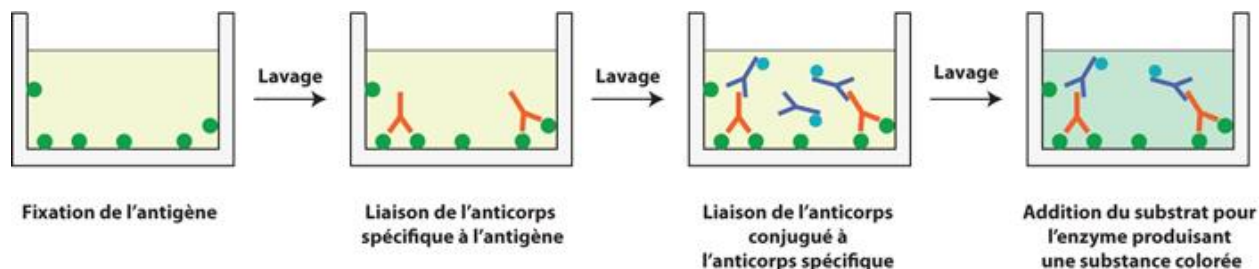


Figure 26 : Principe du test Elisa indirect (54).

1.2.3. Sandwich ELISA :

L'utilisation de cette technique permet de repérer la présence d'antigènes dans un échantillon.

Comme son nom l'indique, le dosage sandwich "enveloppe" l'analyte d'intérêt qui se trouve entre les anticorps primaires et secondaires de part et d'autre. Cette stratégie offre un meilleur contrôle de la spécificité de l'essai en tant que première biomolécule immobilisée (anticorps primaire) qui peut être hautement purifié. Cependant, sans interaction entre l'analyte et l'anticorps primaire, l'anticorps secondaire pourrait se lier à l'anticorps primaire conduisant à un faux (53).

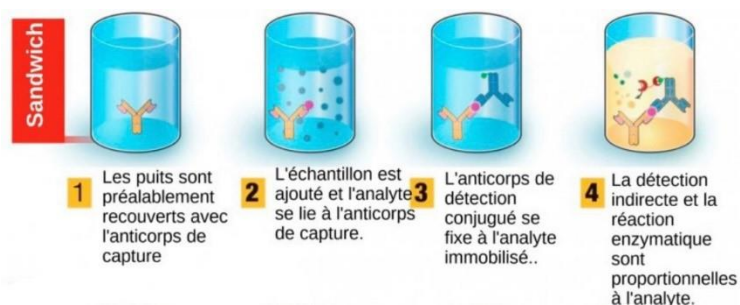


Figure 27 : Technique ELISA sandwich (53).

1.2.4. ELISA compétitif :

L'ELISA compétitif aide à détecter la concentration d'antigènes dans un échantillon, la technique utilise une protéine à rechercher immobilisée sur un support plastique et un anticorps spécifique conjugué à une enzyme qui est révélé par l'addition d'un substrat qui se colore. Ce système de révélation est mis en compétition par une mise en présence préalable d'un échantillon à doser avec l'anticorps conjugué. L'anticorps conjugué est alors bloqué par la protéine recherchée et n'est donc pas révélé sur le support plastique. Ce système fonctionne à l'envers dans le sens où plus il y a de protéine présente moins il y a coloration (56).

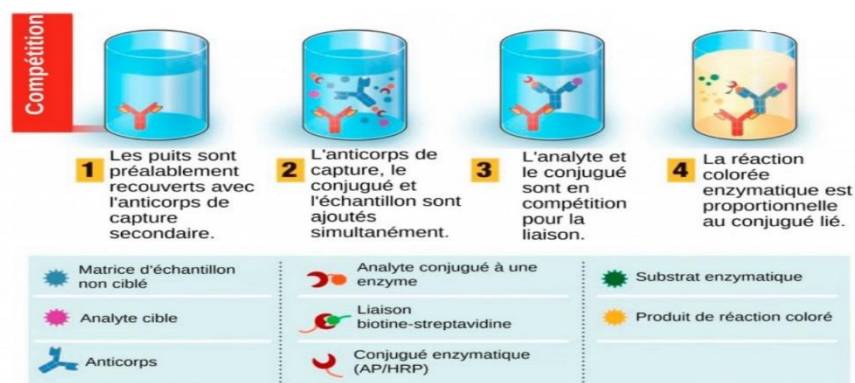


Figure 28 : Principe d'ELISA compétitif (56).

Tableau 6 : Avantages et inconvénients de différents types d'ELISA (51) (52).

	Avantages	Inconvénients
<u>ELISA direct</u>	• Simple et rapide • Moins de possibilités d'erreurs	• Sensibilité limitée • La mise au point du test prend du temps • Risque de réactivité limitée de l'anticorps
<u>ELISA Indirect</u>	• Flexibilité • Sensibilité • Immunoréactivité maximale • Économique	• Flux de travail plus complexe • Potentiel de réactivité croisée
ELISA Sandwich	• Flexibilité et sensibilité • Haute spécificité • Convient aux échantillons	• Flux de travail complexe • Nécessite avantage d'optimisation • Besoin de 2 anticorps
ELISA Compétitive	• La plus grande flexibilité • Spécificité maximale • Très robuste	• Protocole très complexe • Technique longue

2. Test d'inhibition d'hémagglutination:

L'hémagglutination est un processus par lequel l'hémagglutinine, une protéine de surface des virus, se lie aux sites d'acide sialique se trouvant à la surface des globules rouges (GR), entraînant leur agglutination. Lorsque les anticorps dirigés contre une hémagglutinine spécifique se lient aux sites antigéniques de l'hémagglutinine, ces sites se bloquent et par conséquent ne se lient pas aux GR. L'inhibition de l'hémagglutination qui s'ensuit est à la base du test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) (57).

C'est une méthode reconnue et couramment acceptée pour déterminer les titres d'anticorps quantitatifs contre le virus de la grippe (58).

Les tests HA et HAI ont été développés pour la première fois il y a plus de 70 ans par un virologue américain pour quantifier le virus de la grippe et les anticorps induits par le virus de la grippe. Aujourd'hui, les tests HA et HAI sont utilisés non seulement pour caractériser un large éventail de virus et la réponse immunitaire associée, mais ont également été exploités pour sonder les interactions glycane-lectine (59).

Les essais d'IHA sont effectués sur des plaques de microtitration à 96 puits. Une quantité standardisée d'antigène de le HA est mélangée à des antisérums dilués en série, puis mise en incubation. Après l'incubation, une concentration fixe de GR est ajoutée dans chaque puits et le degré de liaison des différents anticorps aux molécules d'HA est évalué (57).

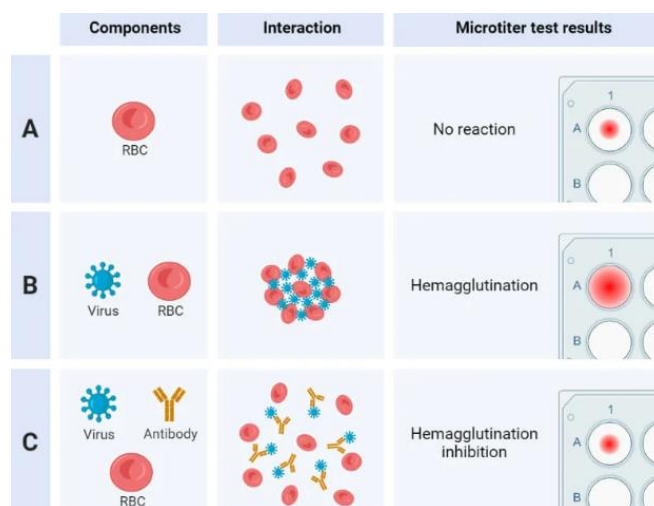
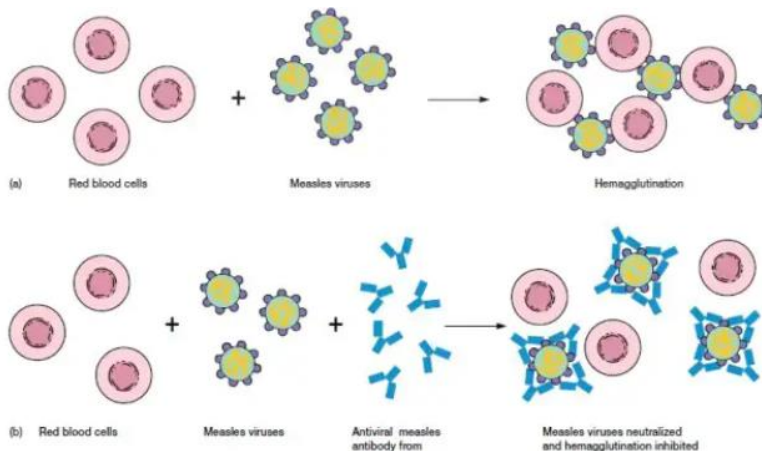


Figure 29 : Test d'hémagglutination (60).

2.1. Principe :

Les tests d'hémagglutination (AH) et d'inhibition de l'hémagglutination (IAH) reposent sur la liaison des protéines de liaison aux glucides (telles que les lectines et les glycoprotéines présentes à la surface du virus de la grippe et de plusieurs autres virus) aux glycoconjugués (tels que les glycoprotéines et les glycolipides) à la surface des globules rouges (GR). Cette liaison se traduit par un réseau, ou structure en treillis de globules rouges agglutinés, qui

maintient les globules rouges dans une distribution suspendue, généralement considérée comme une solution rougeâtre diffuse [59].



*Figure 30 :
Hemagglutination and
hemagglutination
inhibition test (60).*

2.2. Matériels :

2.2.1. Documentation et logiciel : Protocole du test de typage par inhibition de l'hémagglutination (IHA).

2.2.2. Produits chimiques et réactifs :

- Solution saline tamponnée au phosphate.
- Souches virales appropriées pour les besoins du test.
- Sérums de contrôle positif et négatif pour chaque virus à tester.
- Isolats non typés et matériel test
- Panel d'antisérums et contrôle négatif pour le typage d'isolats inconnus.

2.2.3. Animaux / micro-organismes / cellules :

Globules rouges de poulet (GRP) à 1 % provenant de poulets SPF. Les GRP peuvent être conservés à plus 4 °C pendant une durée maximale d'une semaine, mais doivent être examinés quotidiennement avant utilisation pour s'assurer qu'ils ne sont pas hémolysés. Des contrôles d'aptitude à l'usage prévu doivent être réalisés pour chaque nouveau lot de GRP à 1 % préparé, en utilisant des sérums de contrôle positif et négatif [57].

2.3. Procédure :

- Obtenir une préparation de virus (par exemple virus de la grippe) avec un titre HA connu ou déterminer son titre HA
- Préparer des dilutions au double du sérum du patient/test à tester.
- Ajouter une quantité fixe de virus dans chaque puits d'une plaque de 96 puits, équivalente à 4 unités HA (varie selon le virus), à l'exception des puits de contrôle du sérum.
- Laissez la plaque reposer à température ambiante pendant 60 minutes (la durée varie en fonction des besoins spécifiques).

- Ajouter les globules rouges (RBC) et incuber à 4°C pendant 30 minutes.
- Lisez les puits (60).

2.4. Interprétation des résultats du test d'inhibition de l'hémagglutination :

L'interprétation des résultats du test d'inhibition de l'hémagglutination (HI) repose sur l'observation de la présence ou de l'absence d'hémagglutination, qui révèle l'action inhibitrice des anticorps neutralisants présents dans le sérum du patient. Voici comment les résultats peuvent être interprétés :

1. Test positif : L'absence d'hémagglutination dans l'échantillon de sérum indique un test positif. Cela signifie que le sérum du patient contient des anticorps neutralisants spécifiques contre le virus testé. Ces anticorps se lient aux sites du virus, empêchant ainsi son attachement aux globules rouges et inhibant l'hémagglutination.

2. Test négatif : La présence d'hémagglutination dans l'échantillon de sérum indique un test négatif. Cela suggère que le sérum manque d'anticorps neutralisants ou que leur concentration est insuffisante. En l'absence d'anticorps neutralisants, le virus peut se fixer aux globules rouges et provoquer une hémagglutination.

3. Évaluation de la sévérité ou de la quantité d'anticorps : L'observation de l'hémagglutination à différentes dilutions de l'échantillon de sérum fournit des informations supplémentaires. Si l'hémagglutination est visible à des dilutions plus élevées, cela indique une concentration plus faible d'anticorps neutralisants, ce qui peut correspondre à une infection moins sévère ou à une réponse immunitaire plus faible. À l'inverse, si l'hémagglutination est inhibée même à des dilutions élevées, cela indique une concentration élevée d'anticorps neutralisants, suggérant une réponse immunitaire robuste ou une infection plus sévère (61).

Le test HAI peut être compliqué par la présence d'inhibiteurs non spécifiques de l'hémagglutination virale et d'agglutinines naturelles des érythrocytes. Par conséquent, les sérums doivent être traités avant utilisation, sinon des résultats faussement positifs ou négatifs pourraient survenir (60).

3. Dosage radioimmunologique :

Le tout premier test immunologique développé était le test radioimmunologique (Radioimmunoassay), et il est connu comme le prédécesseur de toutes les dernières techniques de tests immunologiques (62). C'est l'une des techniques de dosage immunologique sensibles qui facilite la détermination des antigènes ou des anticorps dans un échantillon à l'aide de radio-isotopes (63).

Des dizaines de millions de tests radio-immunologiques sont effectués chaque année pour mesurer les hormones, les enzymes, les virus, les protéines sériques, les médicaments.....etc (64).

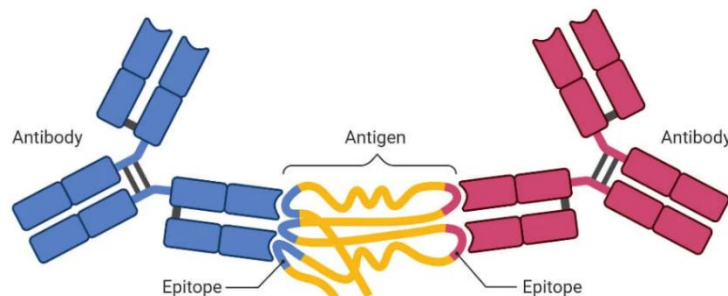
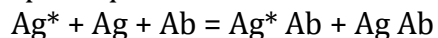


Figure 31 : : Interaction antigène-anticorps (63).

3.1. Principe :

Les dosages radio-immunologiques sont utilisés pour détecter la concentration d'un antigène ou d'un substrat spécifique dans des échantillons à l'aide d'anticorps. Le substrat de l'échantillon et une version radioactivement marquée du substrat sont placés dans le même tube. Lorsque l'anticorps est ajouté, les deux formes de substrat entrent en compétition pour se lier aux anticorps. Les substrats non liés sont lavés et la quantité de rayonnement est détectée dans un compteur gamma. Un nombre élevé de radiations indique qu'il y a moins d'antigènes dans le sérum (65).

La technique originale de BERSON reste encore la plus générale, elle est basée sur la compétition entre un antigène marqué Ag^* et un antigène non marqué Ag pour un anticorps spécifique Ab .



Si l'antigène marqué est ajouté en quantité constante ainsi que l'anticorps, l'antigène non marqué déterminera la quantité d'antigène marqué liée aux anticorps (66).

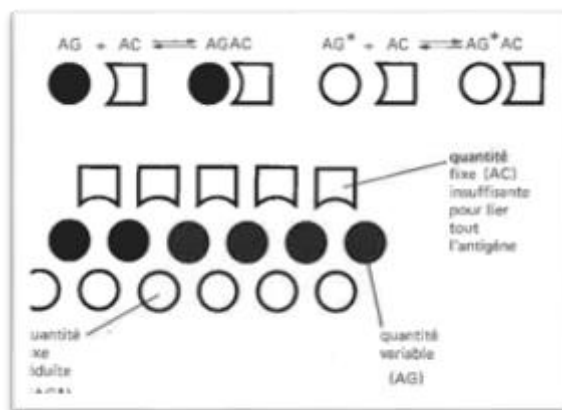


Figure 32 : Principes du dosage radioimmunologique.

3.2. Procédure de dosage radioimmunologique (RIA) :

- 1-Des anticorps spécifiques de concentration connue sont fixés dans le puits de microtitrage.
- 2-Une quantité connue d'antigènes chauds est ensuite ajoutée au puits
- 3-Lavé soigneusement pour éliminer tous les antigènes non liés
- 4-A ce stade, la radioactivité du puits sera maximale.
- 5-Des antigènes non marqués sont ensuite ajoutés au puits
- 6-Les antigènes non marqués se lieront aux anticorps et il y aura des antigènes marqués libres dans le puits.
- 7-Lavé à nouveau soigneusement pour éliminer les antigènes marqués libres.
- 8-La radioactivité des puits est ensuite mesurée par compteur gamma (63).

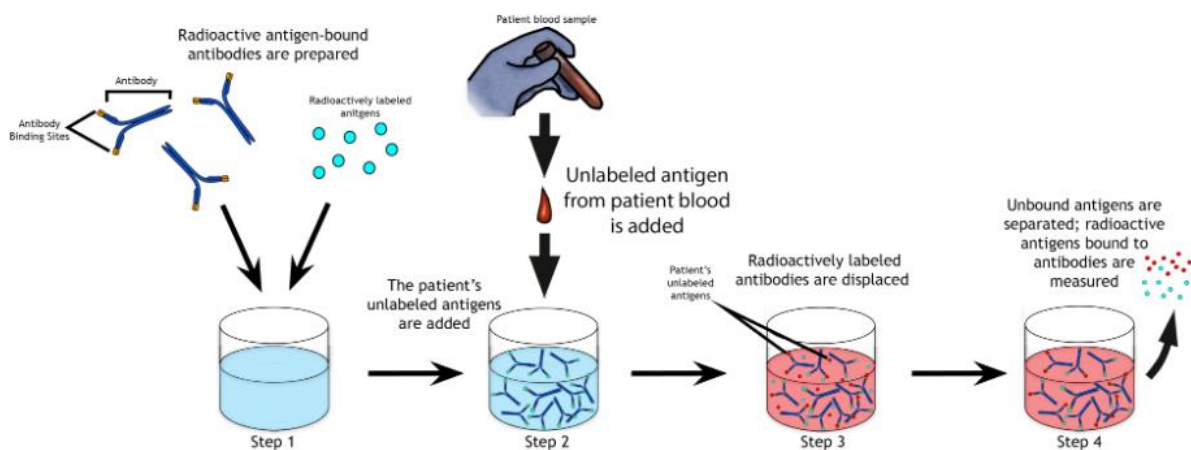


Figure 33 : Radioimmunoassay (64).

3.3. Conditions indispensables à la réalisation d'un dosage radioimmunologique sensible et précis :

- L'antigénicité de l'hormone et la production d'un antisérum spécifique : L'antisérum doit être spécifique, c'est-à-dire qu'il doit être dépourvu d'anticorps dirigés contre les antigènes de structure voisine.
- La possibilité de marquer l'antigène a haute activité spécifique : Pour obtenir une sensibilité suffisante, il est évident que la quantité d'antigène marqué ne doit pas être trop importante comparée à la quantité d'antigène non marqué. Il faut donc marquer l'antigène à une activité spécifique suffisante.
- Une bonne méthode de séparation de l'hormone libre et de l'hormone fixée aux anticorps : différentes méthodes ont été proposées pour séparer l'hormone marquée libre et l'hormone marquée fixée aux anticorps (électrophorèse, précipitation du complexe antigène-anticorps, L'immunoprécipitation...) (66).

3.4. Interprétation des résultats du test radioimmunologique (RIA) :

- Maximisation Initiale de la Radioactivité :

Au début du test, les antigènes marqués se lient aux anticorps disponibles, ce qui entraîne une radioactivité maximale de la solution.

- Présence d'Antigènes Spécifiques :

Si l'échantillon testé contient les antigènes spécifiques d'intérêt, ces derniers se lieront aux anticorps, libérant ainsi les antigènes marqués. Cette libération entraîne une diminution de la radioactivité dans la solution.

- Confirmation de la Présence d'Antigène :

Une diminution de la radioactivité indique la présence de l'antigène d'intérêt dans l'échantillon. Si la radioactivité reste constante, cela signifie que l'antigène n'est pas présent, donc le test est négatif (63).

4. Le test de séroneutralisation :

Le test de séroneutralisation est un outil précieux dans la recherche en immunologie et en virologie, car il permet de déterminer l'efficacité des anticorps pour empêcher les agents pathogènes de se propager et comprendre la réponse immunitaire à diverses maladies (72).

4.1. Principe :

La séroneutralisation est un type de réaction antigène-anticorps qui se produit in vitro et in vivo. La mise en place est plus laborieuse car elle requiert une manipulation en laboratoire P3. Il utilise un virus à dose fixe qui entraîne la destruction de 100 % des cellules. La présence d'anticorps spécifiques permet de neutraliser le virus, ce qui permet d'inhiber la multiplication virale et donc d'empêcher la destruction des cellules après mélange avec différentes dilutions de sérum.

Ces anticorps neutralisants ont la capacité de s'associer de manière efficace à l'agent pathogène et de perturber sa capacité à infecter les cellules hôtes ou à causer des dommages (72).

4.2. Méthode:

- a. Préparation de la souche virale.
- b. Préparation de la cellule sensibles : des cellules sensibles au virus.
- c. La préparation des échantillons de sérum consiste à diluer le sérum à 1/5.
- d. Mélange entre le virus et le sérum.
- e. Inoculation des cellules.
- f. Détection de la cytopathogénèse.
- g. Détermination de la dose neutrale (73).

5. Avantages et inconvénients de chaque méthode (ELISA, HIA, RIA, VN):

Tableau 7 : Récapitulatif des avantages et inconvénients des différentes méthodes du diagnostic sérologique des maladies virales aviaires (ELISA, RIA, HIA, VN).

Méthode	Avantages	Inconvénients
ELISA	-sensibilité élevée (59). -spécificité élevée (59). -rapidité (59). -technique accessible à tous les biologistes (60). - La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé (60).	-la limite de détection est moins bonne que la radio-immuno-assays : RIA. -la réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement (69).
HIA (test de l'inhibition de l'hémagglutination)	- largement utilisé pour la surveillance du virus de la grippe, la caractérisation et les études épidémiologiques (58). - nécessite pas d'équipement ou d'instruments coûteux. -il est très utile en raison de sa réaction croisée étendue à tous les membres d'un groupe de virus (63). -Il mesure également d'autres immunoglobulines, telles que les IgM et les IgA (70).	- long (63). -Demande beaucoup de travail (71). - 5 à 10 % des sérums de test traités présentent des inhibiteurs non spécifiques résiduels qui rendent les résultats difficiles à interpréter (71). -Sa dépendance à des réactifs biologiques difficiles à standardiser, tels que les globules rouges (58).
RIA (Radioimmunoassay)	-l'isotope permet un marquage facile (71). -le signal est spontané, ne faisant pas intervenir une source d'énergie extérieure (71). - peut détecter une très petite quantité (nanogrammes) d'antigène ou d'anticorps (65). -haute spécificité (65). - haute sensibilité (63).	- travailler avec des substances radioactives est un peu risqué (65). - l'élimination des substances radioactives peut être problématique (65). - équipement et les réactifs sont chers (63).

VN (Virus neutralisation)	-Sensibilité plus élevée. -Spécificité supérieure. -Détection de diverses souches. -Évaluation quantitative (74).	-Délai de génération d'anticorps. -Besoin de personnel qualifié. -Processus à forte intensité de main-d'œuvre. -Défis dans la production et la gestion des matériaux. -Exigence de mesures de biosécurité de haut niveau (74).
------------------------------	---	--

PARTIE EXPERIMENTALE

1.Objectif:

Objectif principale de la présente étude est de réaliser un monitoring sérologique post vaccinale contre certaines pathologies virales, la Bursite infectieuse ou maladie de Gumboro, la maladie de Newcastle, l'influenza aviaire faiblement pathogène H9 (IAFP) et la bronchite infectieuse aviaire, qui sont les principales affections dans un élevage de poulettes futures pondeuses.

L'étude sérologique a été conduite par la technique ELISA sur des prélèvements de sang d'un élevage de poulette future pondeuse (PFP) dans la wilaya de Bouira.

2.Matériels et méthodes :

2.1. Zone et période d'étude :

Notre étude sérologique est réalisée dans un centre avicole implanté à El Hachimia au niveau de la wilaya de Bouira. Il s'agit d'un élevage de poulettes futures pondeuses de souche H&N Brown élevées au sol dans deux bâtiments d'une capacité de 144000 sujets. Les prélèvements et analyses ont porté sur 80 volailles. L'étude s'étend sur une période de 9 mois, de Septembre 2023 jusqu'au Juin 2024.



Figure 34 : Une carte géographique montrant la localisation de la ferme avicole de l'étude.

2.2. Matériel :

2.2.1. Matériel animal :

La souche utilisée dans cette étude est la H&N Brown. Les poussins d'un jour proviennent des œufs des reproducteurs du centre Haroun de Reghaia.

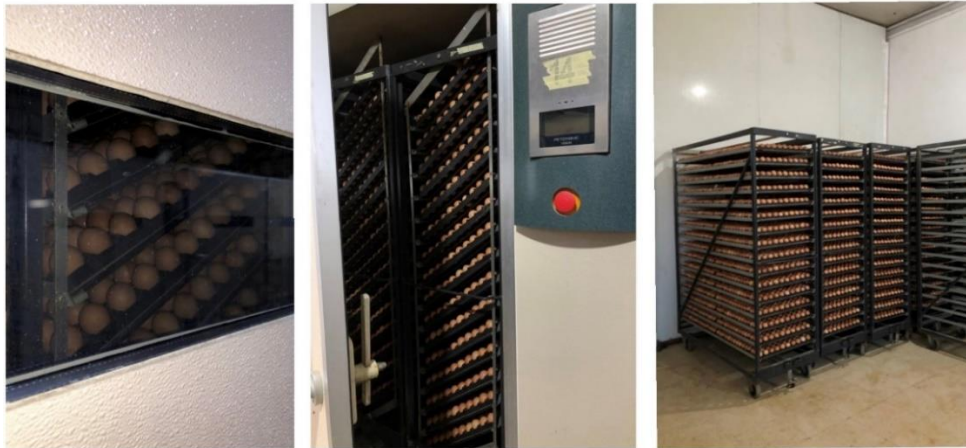


Figure 35 : Origine des poussins PFP de l'étude (Couvoir Haroun, Reghaia, Alger).

Tableau 8 : Effectifs mis en place par bâtiment.

NUMERO DU BATIMENT	DATES DES MISES EN PLACE	EFFECTIF MIS EN PLACE
01	11/12/2023	82000
02	11/12/2023	62000

2.2.2. Matériel de prise de sang:

- Des gants non stériles
- Du coton avec un antiseptique
- Une lame pour l'égorgeage
- Des aiguilles et des seringues
- Des tubes secs
- Des portes tubes
- Une glacière contenant de la carboglace pour la conservation et le transport des échantillons de sang.

2.2.3. Matériel de laboratoire:

- Des gants
- La Centrifugeuse

- Le congélateur
- Des portoirs
- La micropipette Eppendorf
- Des embouts de 20/200 μ l et de 100-1000 μ l
- Des microplaques
- Feutre
- Des kits ELISA de la société ID.vet
- Eau distillée ou désionisée.
- Minuteurs
- Le Système de lavage automatique (Laveur BioTek ELx 50)
- Lecteur de microplaque à 96 puits (Lecteur BioTek ELx 800)
- Agitateur



Figure 36 : Matériel de laboratoire.

2.3. Méthodes :

2.3.1. Méthode de prélèvement de sang :

Nous avons fait quatre séries de prélèvements, à J1, S9, S16 et à S23. Les prélèvements ont été effectués par égorgement des poussins à J1 ou par prélèvement sanguin au niveau de la veine alaire réalisés directement dans l'élevage (20 échantillons par série). Une fois les prélèvements sanguins sont effectués dans des tubes secs préalablement identifiés, 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 récolter les sérums qui ont été par la suite conservés dans des tubes Eppendorf, identifiés et congelés à -20 °C.

2.3.2. Méthode au laboratoire :

La technique Elisa indirecte a été effectuée en utilisant des kits de la société ID.vet Innovative Diagnostics :

Les différents Kits utilisés sont les suivants :

- ❖ ID Screen® IBD Indirect (IBD : virus de la Bursite infectieuse)
- ❖ ID Screen® NDV Indirect (NDV : virus de la maladie de Newcastle)
- ❖ ID Screen® IBV Indirect (IBV : virus de la Bronchite infectieuse)
- ❖ ID Screen® Influenza H9 Indirect
- ❖ ID Screen® Influenza H5 Indirect

Les Composants du kit :

- Réactifs
- Microplaques sensibilisées avec l'antigène spécifique purifié.
- Contrôle négatif.
- Conjugué concentré (10X).
- Tampon de dilution 14.
- Tampon de dilution 9 (pour les kits Influenza H9 Indirect et Influenza H5 Indirect).
- Tampon de dilution 3.

- Solution de lavage concentrée (20X).
- Solution de révélation.
- Solution d'arrêt (0.5M).
- Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (+/- 3°C).
- Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26 °C.
- Les composants portant la même dénomination (solution de lavage, diluants) peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

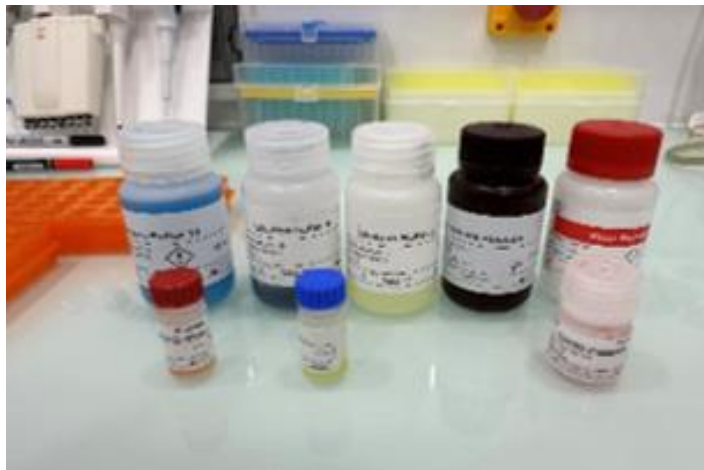


Figure 37 : Les Composants du kit ELISA.

Description et principe de la technique ELISA :

- Les cupules sont sensibilisées avec l'antigène purifié.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques de chaque maladie, 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 spécifiques de la maladie, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt.
 - _ En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.
- La lecture est réalisée à 450 nm.

Mode opératoire :

On a ramené tous les réactifs à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.

La dilution finale des échantillons analysés est de 1/500 pour IBD, IBV, NDV, H9 et de 1/100 pour H5.

1. Dans une plaque de pré-dilution, on a ajouté :

- 5 μl d'échantillons à analysés
- 245 μl de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, à l'exception des puits A1, B1, C1 et D1.

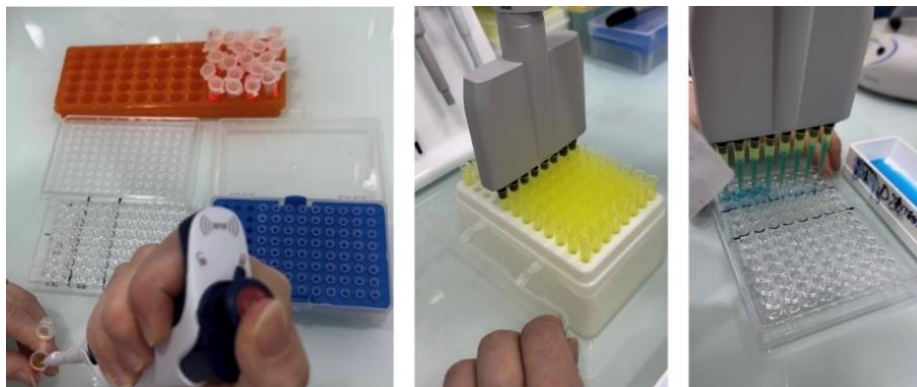


Figure 38 : Phase de pré-dilution.

2. Dans la plaque ELISA, on a ajouté :

- 100 μl du contrôle négatif dans les puits A1 et B1.
- 100 μl du contrôle positif dans les puits C1 et D1.
- 10 μl des échantillons pré-dilués ci-dessus.

– 90 µl de Tampon de dilution qui sont différents :

Tableau 9 : Détermination des tampons différents pour chaque kit.

TAMPON DE DILUTION UTILISE	TAMPON 9	TAMPON 14
LES KITS	Influenza H9 Indirect Influenza H5 Indirect	IBD Indirect NDV Indirect IBV Indirect

3. On a couvert la plaque ELISA et la laissé incuber à température ambiante (21°C+/- 5°C).
La durée de l'incubation est différente :

Tableau 10 : les différentes durées d'incubation pour chaque type de kit ELISA.

DUREE DE L'INCUBATION	60 MINUTES (+/-6MIN)	30 MINUTES (+/-3MIN)
LES KITS	Influenza H9 Indirect Influenza H5 Indirect	IBD Indirect NDV Indirect IBV Indirect



Figure 39 : : Incubation de la plaque ELISA après dilution.

4. Etape de préparation du Conjugué 1X en diluant le conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution T3.

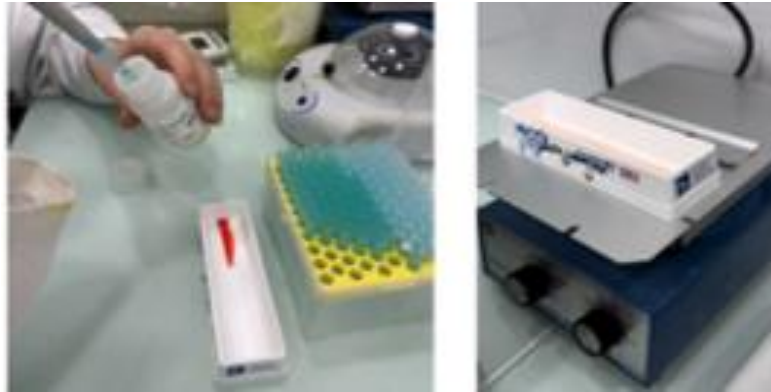


Figure 40 : Préparation et dilution du conjugué.

5. On a réalisé le Lavage à l'aide de la machine de lavage pour microplaques Biotek ELx50.

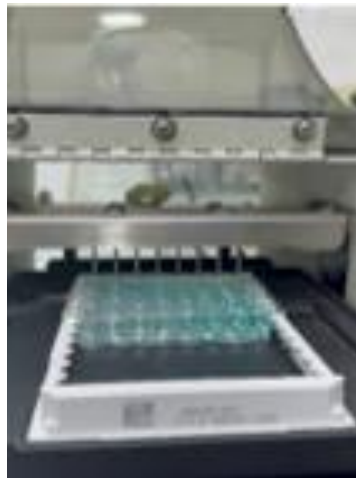


Figure 41 : Lavage automatique des plaques ELISA.

6. Nous avons distribué 100 μ l de Conjugué 1X dans chaque cupule.

7. On a couvré la plaque et la laissé incubé durant 30 minutes (+/-3 min) à température ambiante (21°C +/- 5°C).

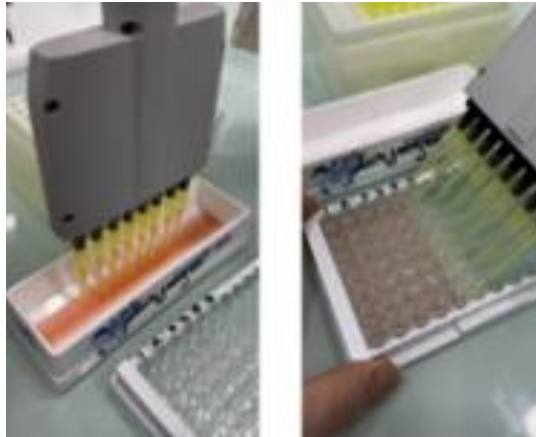


Figure 42 : Dépôt du conjugué et incubation de la plaque ELISA.

8. On a lavé les puits à l'aide de la machine de lavage pour microplaques Biotek ELx50.



Figure 43 : Lavage automatique des plaques ELISA.

9. Dans l'étape qui suit on a distribué 100 μ l de Solution de révélation dans chaque cupule.



Figure 44 : Dépôt de la solution de révélation.

10. Une incubation de 15 min (+/- 2 min) à température ambiante ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) à l'obscurité a été réalisée.

11. On a distribué 100 μl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. et on a ajouté la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape N°9.



Figure 45 : Dépôt de la solution d'arrêt.

12. La lecture des plaques Elisa a été faite à l'aide d'un lecteur de microplaques BioTek ELX 800 muni d'un filtre de 450 nm. La densité optique (DO) obtenue a été transformée en titre d'Ac, la transformation des DO, les tests de validité, les titres moyens, et le coefficient de

variation ont été automatiquement calculés par bande et par série de prélèvements à l'aide d'un logiciel fourni par le laboratoire IDvet. (ID Soft™).



Figure 46 : Résultats de la lecture des plaques (densité optique et titres en anticorps).

3. Résultats :

Le protocole de vaccination appliqué dans l'élevage de l'étude :

Le tableau suivant résume les différents vaccins utilisés dans l'élevage de l'étude ainsi que leurs voies et dates d'administration.

Tableau 11 : Protocole de vaccination appliqué dans l'élevage de l'étude.

AGE	Protocole vaccinal	Type de vaccin	Méthode
J1	ND + MAREK ND+ IB IB 4/91	Vectorisé Vivant atténué Vivant atténué	Injection Nébulisation Nébulisation
S3	IB QX Volvac BEST: ND H5	Vivant atténué Inactivés	Nébulisation Injection SC IM
S4	GUMBORO	Vivant atténué	L'eau de boisson
S5	GUMBORO ND – IB	Vivant atténué Vivant atténué	L'eau de boisson Nébulisation
S7	LTI GOUTTE	Vivant atténué	Oculonasale
S9	Volvac BEST: ND H5	Inactivés	Injection

	ND IB	Vivant atténué	Nébulisation
S10	H9 IB 4/91	Inactivés Vivant atténué	Injection Nébulisation
S11	VARIOLE H5	Vivant atténué	Injection
S12	LASOTA (ND)	Vivant atténué	Nébulisation
S13	ENCEPHALO H9	Inactivés	Injection
S14	SHS	Vivant atténué	Injection
S15	IB 4/91	Vivant atténué	Nébulisation
S16	H9	Inactivés	Injection
S17	Volvac BEST: ND H5	Inactivés	Injection
S19	ND IB EDS	Inactivés	Injection

Les résultats des analyses et leurs interprétations sont décrits pour chacune des maladies en fonction de l'âge de la poule future pondeuse.

3.1. Résultats sérologiques de la vaccination de la bursite infectieuse (IBD):

Tableau 12 : Résultats globales des titres des anticorps du IBD en fonction de l'âge de la poule à J01.

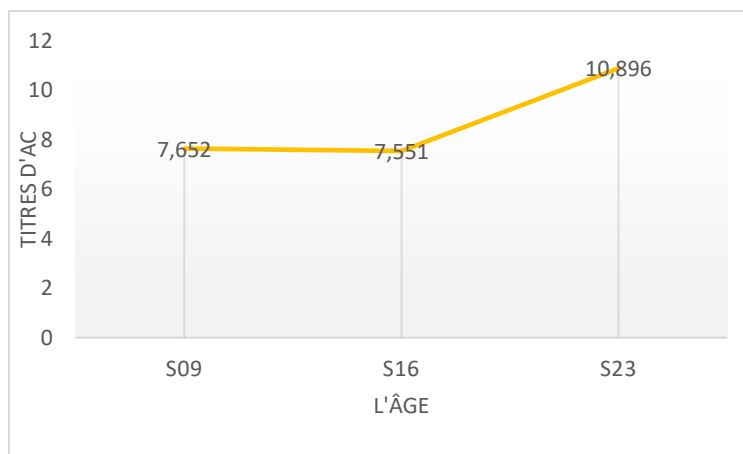
AGE	Moyenne	Minimum	Maximum	cv %	G.M.T	POS%	NEG%
J01	6,093	1,854	9,486	40	5,532	100	0

3.2. Résultats sérologiques de la vaccination de Newcastle (NDV) :

Tableau 13 : Résultats globales des titres d'anticorps du NDV en fonction d'âge de la poule.

AGE	Moyenne	Minimum	Maximum	cv %	G.M.T	POS%	neg%
S09	7,652	1	11,725	31	5,050	95	5
S16	7,551	3,119	14,427	38	7,015	100	0
S23	10,896	5,102	15,636	25	10,532	100	0

Les résultats reportés par le tableau et le graphe suivants des titres d'Ac du NDV en fonction de l'âge de la poule montrent une stabilité de taux des Ac entre la S9 et S16 due a une vaccination dans cette période puis une forte augmentation du titre d'Ac allant de 7,551 jusqu'à 10,886 dans S23 qui explique la vaccination des poulettes par des vaccins inactivés qui sont connue par la lenteur de mise en place d'immunité ainsi que sa durabilité et persistance (Tableau 13).



3.3. Les Résultats sérologiques de la bronchite Infectieuse (IB) :

Tableau 14 : Résultats globales des titres d'anticorps du IBV en fonction d'âge de la poule.

Age	Moyenne	Minimum	Maximum	cv %	G.M.T	POS%	NEG%
S09	4,106	747	17,407	87	3,243	95	5
S16	17,846	6,973	24,986	34	16,609	100	0
S23	21,313	9,488	26,404	21	20,779	100	0

Les résultats reportés par le tableau et le graphe suivants des titres d'Ac du IBV en fonction de l'âge de la poule montrent une augmentation de taux des Ac entre la S9 et S16 due a une vaccination dans la neuvième semaine, dixième et même la quinzième semaine puis une faible augmentation du titre d'Ac allant de 17,846 jusqu'à 21,313 dans S23 due à la prise d'un vaccin inactivé à l'âge de dix-neuf semaines (Tableau 13).

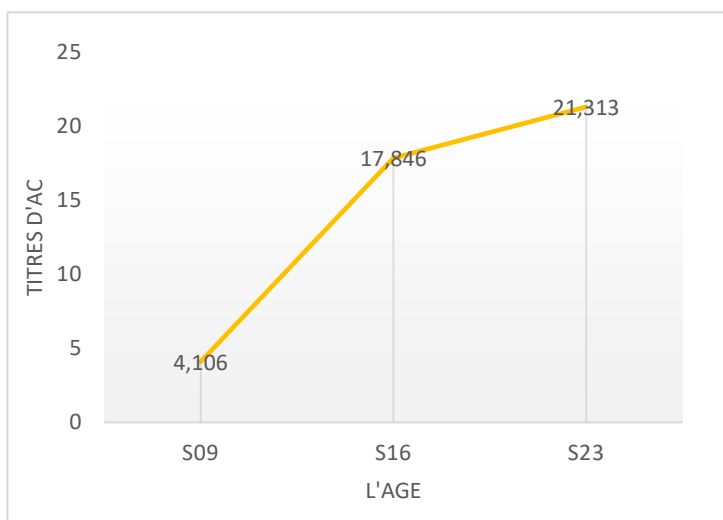


Figure 47 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du IBV en fonction de l'âge.

3.4. Résultats sérologiques de l'influenza H5 :

Tableau 15 : Résultats globales des titres d'anticorps du H5 en fonction d'âge de la poule.

AGE	Moyenne	Minimum	Maximum	cv %	G.M.T	POS%	NEG%
J01	2,824	20	22,027	200	649	40	60
S09	144	9	581	112	77	0	100
S16	23,499	679	30,282	26	20,504	95	5
S23	20,135	53	31,601	55	12,801	95	5

Les résultats reportés par le tableau et le graphe suivants des titres d'Ac du H5 en fonction de l'âge de la poule montrent une diminution de taux des Ac dans la S9 se qui fait que l'immunité né pas encore installé suivie par une augmentation jusqu'à 23,499 dans la S16 due à une vaccination dans la neuvième semaine et une autre dans la onzième suivie par une faible diminution dans la vingt-troisième semaine précède par un vaccin inactivité dans la S17 (Tableau 15).

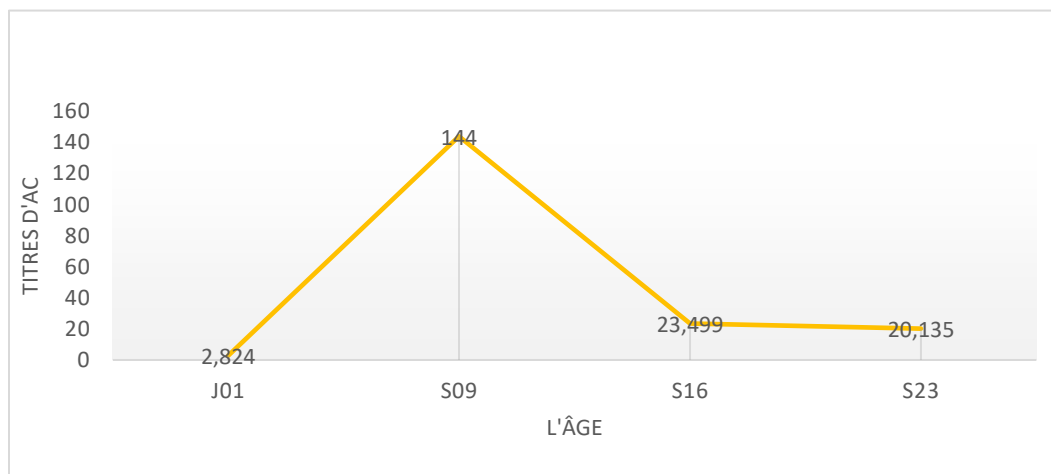


Figure 48 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du H5 en fonction de l'âge.

3.5. Résultats sérologiques de l'influenza IAFP H9 :

Tableau 16 : Résultats globales des titres d'anticorps du H9 en fonction de l'âge de la poule.

AGE	Moyenne	Minimum	Maximum	cv %	G.M.T	POS%	NEG%
J01	15,195	5,414	20,799	32	14,323	100	0
S09	7,733	491	13,402	46	6,529	95	5
S16	17,345	15,551	19,975	6	17,316	100	0
S23	15,707	25	21,324	36	11,291	95	5

Les résultats reportés par le tableau et le graphe suivants des titres d'Ac du H9 en fonction de l'âge de la poule montrent une diminution de taux des Ac dans la S9 par rapport a le premier jour 15,195 qui est due a l'acquisitions d'une immunité passive provenant de sa mère, ce qui est fait que l'immunité né pas encore installé suivie par une augmentation jusqu'à 17,345 dans la S16 due a deux vaccinations par des inactivés dans la S10 et la S13 qui a été par la suite par une faible diminution dans la vingt-troisième semaine qui à été précède par un vaccin inactivité dans la S16 (Tableau 16).

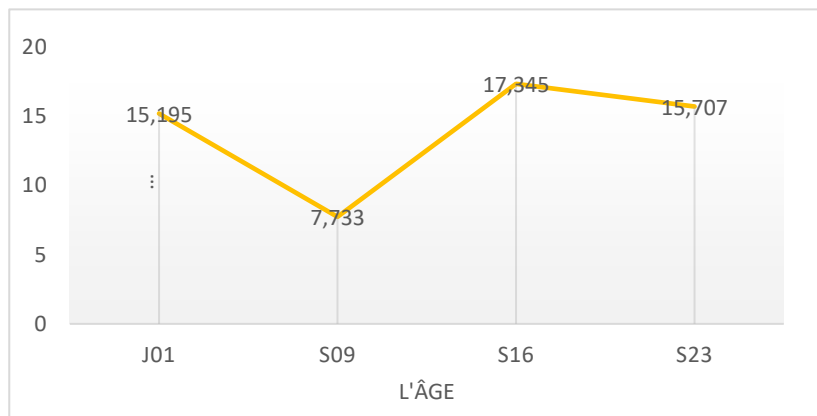


Figure 49 : Représentation graphique de la moyenne des titres en anticorps du H9 en fonction de l'âge de la poule.

4. Discussion :

L'importance d'un monitoring sérologique continu des vaccinations contre des virus tel que L'IAFP H9, IAHP H5, IBV, NDV et IBDV afin de prévenir les épidémies et éventuellement identifier les porteurs potentiels et les réservoirs du virus qui pourraient être inclus dans les futurs programmes de surveillance ne peut être surestimée. Étant donné que les virus cités précédemment ont été signalés comme ayant un impact négatif sur l'approvisionnement alimentaire et l'économie en raison de leurs effets sur l'industrie avicole, la surveillance des troupeaux peut aider à établir les caractéristiques épidémiologiques de l'infection par ces virus qui informeraient le développement de stratégies de prévention et de contrôle, notamment dans des pays comme l'Algérie où la vaccination contre L'IAFP H9, IAHP H5, IBV, NDV et IBDV est actuellement autorisée.

La plupart des aviculteurs dépensent beaucoup d'argent pour vacciner leurs volailles et prennent beaucoup de temps dans la mise en œuvre des programmes de vaccination en vue de protéger leurs cheptels contre des maladies virales économiquement dévastatrices sans rendre compte à la qualité de cette protection ni à le suivi sérologique pour concevoir un calendrier de vaccination appropriée.

Le monitoring sérologique a une importance majeure pour le développement de programmes de vaccination, la surveillance de la réponse immunitaire après vaccination et de détecter les infections par les virus sauvages dans les élevages de volailles.

La technique ELISA est universellement acceptée dans les industries de volailles comme outil de surveillance sérologique le plus fiable. Les tests ELISA commerciaux sont disponibles pour les virus les plus importants (IB, IBD, ND, ...etc).

Dans l'élevage de l'étude, nous avons remarqué que l'évolution des titres d'anticorps contre les différentes viroses a été similaire aux Baseline dicté par le laboratoire fournisseur de Kits. Cela indique que le protocole de vaccination appliqué ainsi que les techniques de vaccination ont été efficace en générant une immunité protectrice pour l'ensemble des pathologies virales de l'étude.

5. Conclusion :

Les élevages avicoles sont malheureusement confrontés à de nombreux problèmes parmi lesquels les maladies infectieuses virales (L'IAFP H9, IAHP H5, IBV, NDV et IBDV) qui sont les plus redoutables et leurs pronostics médical et économique sont souvent catastrophiques. Dans ce contexte le monitoring sérologique de ces principales entités pathologiques apparaît comme un premier recours pour contrôler l'efficacité des programmes de vaccination afin de les réadapter en vue d'une meilleure rentabilité de production.

C'est pour cette raison que nous avons jugé utile de faire un monitoring sérologique des principales pathologies infectieuses virales ((L'IAFP H9, IAHP H5, IBV, NDV et IBDV) dans un élevage avicole de PFP.

La présente étude sérologique a permis de contrôler la qualité de la vaccination des PFP de l'étude. En effet, les résultats obtenus sont en faveur d'une bonne vaccination évitant des pertes en production considérables d'une part, et d'autre part, le fait de savoir le statut immunitaire de ce cheptel nous a permis de valider les dates du protocole vaccinal.

Références :

1. BROWN NICK Pondeuses à œufs roux [En ligne]. Allemagne :H&N International GmbH; Juillet 2020[2020 ; Consulté le 4 mars 2024]. Disponible sur: www.hn-int.com
2. Florian Morin. Adopter les bonnes mesures de biosécurité pour protéger son élevage de volaille [En ligne]. Synthèse Elevage; JUIN 2022 [mise à jour le 28 JUIN 2022; Consulté le Date 4 mars 2024]. Disponible sur: www.syntheseelevage.com
3. Guide-Technique-Pondeuse [En ligne]. Mauritius : MEADERS FEEDS LTD; 2018 [mise à jour Juin 2018; Consulté le 4 mars 2024]. Disponible sur: www.meadersfeeds.com
4. Ibtessam K. Poulets de chair « Élevages et pathologies » [Mémoire]. Blida(Algérie) : Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida 1 ; 2022. 52 p.
5. Abderrahim N. Contribution à l'étude des paramètres zootechniques et sanitaires d'un élevage de poulettes futures pondeuses dans le centre avicole d'Akbou [Mémoire]. Blida(Algérie) : Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida 1 ; 2016. 50 p.
6. Messili NEH. Suivi d'élevage des poulettes future pondeuse au niveau de AVIARIB-BOUIRA-AIN BESSEM [Mémoire]. Blida(Algérie) : Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida 1 ; 2018. 52 p.
7. Techniques d'élevage de poules pondeuses d'œufs de consommation [En ligne]. SlideShare de Scribd; mai 2015 [mise à jour 5 mai 2015; consulté le 16 mars 2024]. Disponible sur: www.avicultureaumaroc.com
8. Berriche S, Berrichi N. suivi zootechnique de poule future pondeuse souche Tetra-SL [Mémoire]. Blida(Algérie) : Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida 1; 2010. 46 p.
9. Eanne Brugère-Picoux, Jean-Pierre Vaillancourt, H.L. Shivaprasad, Daniel Venne, Moncef Bouzouaia. Manuel de pathologie aviaire. Paris: AFAS; 2015. 701p.
10. Nos pondeuses Hy-Line [En ligne]. France :Hy-Line France. [cité 25 mars 2024] Disponible sur: www.hyline-france.com
11. Les souches de Poules Pondeuse [En ligne]. France : Lohmann France; [Consulté le 24 mars 2024]. Disponible sur: www.lohmannfrance.com
12. Brown une poule performante et équilibrée [En ligne]. Novogen Layers ; 2023 [mise à jour le 17 février 2023 ; Consulté le 16 avril 2024]. Disponible sur : www.novogen-layers.com
13. Cheick Saidou. Le bien-être et la protection des poules pondeuses [En ligne]. France : Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire ; [mise à jour le 28 février 2019; Consulté le Date 28 avril 2024]. Disponible sur : www.legifrance.gouv.fr

14. Farid L. Prix des œufs : l'État autorise l'importation de poules pondeuses [En ligne]. Algérie : Algérie 360 ; [mise à jour le 18 janvier 2023 ; Consulté le 28 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie360.com
15. Stéphanas Assocle. Algérie : le gouvernement autorise l'importation de 400 000 poules pondeuses par mois depuis l'Espagne [En ligne]. Genève : Agence Ecofin ; [mise à jour le 29 janvier 2024 ; Consulté le 28 avril 2024]. Disponible sur : www.agenceecofin.com
16. Khadidja D, Ghaniyya N. Caractérisation morpho-pondérale et qualité nutritionnelle des œufs de poules locales comparés avec les œufs des souches sélectionnées [Mémoire]. Blida (Algérie) : Sciences Agronomiques Spécialité : Production Animale, Université Saad Dahleb-Blida 1 ; 2020. 102p.
17. Azouz Ikram, Larbi Saidi Cherifa. Etude de courbe d'évolution de la ponte chez la poule pondeuse. Cas du complexe KAOUAS Mourad, Djelida – wilaya de Ain Defla [Mémoire]. Algérie : Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre, Université de Khemis-miliana ; 2020. 34p.
18. LA PRODUCTION AGRICOLE Campagne 2019/2020 [En ligne]. Algérie : Ministère de l'agriculture et du développement rural ; 2023 [mise à jour le 12 octobre 2023 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.agrialgerie.com
19. campagne agricole algérienne 2022-2023 enregistre des performances exceptionnelles [En ligne]. Algérie : Ministère de l'agriculture et du développement rural ; 2023 [mise à jour le 10 octobre 2023 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.agrialgerie.com
20. Agriculture : les chiffres de la production en 2022 [En ligne]. Algérie : Algérie Eco. 2023 [mise à jour le 23 novembre 2023 ; Consulté le 28 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie-eco.com
21. Production alimentaire : œufs (naturels) (tonnes), Algérie [En ligne]. Canada : [Perspective Monde](http://www.PerspectiveMonde.com) [Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.PerspectiveMonde.com
22. Alloui N. Etat des lieux du secteur avicole en Algérie [En ligne]. Algérie : researchgate ; 2018 [mise à jour le Novembre 2018 ; Consulté le 28 avril 2024]. Disponible sur : www.researchgate.net
23. Imene A. Poulets et œufs : Les prix ne risquent pas de baisser [En ligne]. Algérie : Algérie Eco ; 2022 [mise à jour le 20 janvier 2022 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie-eco.com
24. Algérie : Les prix des œufs battent tous les records [En ligne]. Maghreb : Maghreb Emergent ; 2022 [mise à jour le 14 Octobre 2022 ; Consulté le 2 mai 2024]. Disponible sur : www.maghrebemergent.net

25. Lamia F . Le prix des œufs s'envole à 25 DA, les éleveurs accusent les commerçants [En ligne]. Algérie : Algérie 360 [mise à jour le 24 août 2023 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie360.com
26. A. Mehdid. Marché des œufs : L'équilibre sera atteint en janvier 2024 [En ligne]. Algérie : Horizons [mise à jour le 24 septembre 2023 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.horizons.dz
27. Ania.B. Légumes, viandes, œufs... : le ministère de l'Agriculture communique les prix [En ligne]. Algérie : Algérie 360 [mise à jour le 11 février 2024 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie360.com
28. Aouadi A. Les prix des œufs en chute libre : 1000 DA pour trois plateaux [En ligne]. Algérie : Algérie 360 [mise à jour le 24 mars 2024 ; Consulté le 30 avril 2024]. Disponible sur : www.algerie360.com
29. Lamraoui H, Ouchefoun A. Situation De L'élevage Des Poules Pondeuses Dans Quelques Elevages Avicoles Dans La Région De La Mitidja [Mémoire]. Blida (Algérie) : Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida 1 ; 2020. 72 p.
30. Van Den Berg BTP, Eterradosi N, Toquin D, Meulemans G. REVUE DE LITTÉRATURE La Bursite Infectieuse (Maladie de Gumboro). Rev Sci Tech OIE. 1 août 2000 ;19 Suppl 2: S509-43.
31. Kegne T, Chanie M. Review on the Incidence and Pathology of Infectious Bursal Disease. 03 mar 2014; 3 Suppl 3: S68-77.
32. Bouazza Maarouf S, Chenafi S. Etude bibliographique de la Bursite infectieuse [Mémoire]. Tiaret (Algérie) : Institut des Sciences vétérinaires, Université Ibn Khaldoun ; 2019. 56 p.
33. Teshome M, Admassu TFB. Infectious Bursal Disease (GUMBORO Disease) in Chickens. British J. Poultry Sci. 01 avr 2015 ; 4 Suppl : S22-28.
34. Guérin JL, Balloy D, Villate D. Maladies des volailles. Edition 3. Paris : Éd. France agricole ; 2011. 579p.
35. Benrekia M. Enquête sur la maladie de gumboro en élevage de poulet de chair dans la région de Bouira [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida ; 2019. 46p.
36. Getachew Y, Fesseha H. Infectious Bursal Disease in Poultry Production - A Review. Pathologie aviaire. 17 jun 2010 ;29 Suppl 3 : S175-94.
37. Molinet A. Contribution au génotypage et au pathotypes de souches vaccinales et issues du terrain de l'avibimavirus de la bursite infectieuse aviaire [Thèse]. Ploufragan (France) : l'Institut Supérieur des Productions Animales et des Industries Agro-alimentaires (ISPAIA), Université de Rennes, le 30 mai 2023. 242p.

38. Karoun A, Boubezoul N. Evaluation de l'impact de la vaccination au couvoir contre la maladie de gumboro sur les performances de croissance chez le poulet de chair [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida; 2012.72p.
39. Dey S, Pathak D, Ramamurthy N, Maity HK, Chellappa MM. Infectious bursal disease virus in chickens: prevalence, impact, and management strategies. Vet Med Res Rep. Août 2019; 10: S85-97.
40. Emmanuel S. R. J. TOTIN. Etat de lieux de certaines maladies aviaires virales et évaluation de la cinétique d'anticorps de la maladie de Gumboro dans les élevages de poulets dans les Départements de l'Atlantique et de l'Ouémé, Bénin [Mémoire]. Abomey Calavi (République du Bénin) : Université d'Abomey-Calavi, Département de Production et Santé Animales ;2018.69p.
41. Benhamida H, Bourouba O. Suivi d'élevage poulet de chair « Revue bibliographique » [Mémoire]. Blida (Algérie): institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida; 2021. 44p.
42. Mohamed Belkabar A, Ralemi Z. Enquête sur la Bronchite Infectieuse en élevage de poulet de chair dans les régions de Blida et Bouira [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida ; 2018. 61p.
43. Hiba B, Marwa B. Etude sur les pathologies aviaires les plus fréquentes dans deux cabinets vétérinaires au niveau des wilayas Alger et Blida [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida ;2018.90p.
44. Nzamba T. L'influenza aviaire A virus A (H5N1) chez les oiseaux domestiques et sauvages[thèse]. Nancy (France) : Université Henri Poincaré - Nancy 1 Faculté de pharmacie ; 20 mars 2018.162p.
45. Barategui C. Étude épidémiologique du virus de l'influenza aviaire et du virus de la maladie de Newcastle chez l'avifaune sauvage aux Emirats Arabes Unis[thèse]. Toulouse (France) : Ecole nationale de vétérinaire à Toulouse, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse ; 2018.106p.
46. Abdelnour K, Abdenmour G. Principales pathologies aviaires présentées dans un cabinet vétérinaire Région de ksar el Boukhari [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida ;2016.62p.
47. Nawel DL, de Conférences M. MANUEL D'AUTOPSIE ET DE PATHOLOGIE AVIAIRES. Institut des Sciences Vétérinaires Département de Médecine et de Chirurgie, Université des Frères Mentouri Canstantine.
48. Oumennoune T. Impact lésionnel de la maladie de Newcastle dans les proventriculites hémorragiques chez le poulet de chair [Mémoire]. Blida (Algérie) : institut des Sciences vétérinaires, Université Saad Dahleb-Blida ;2016.50p.

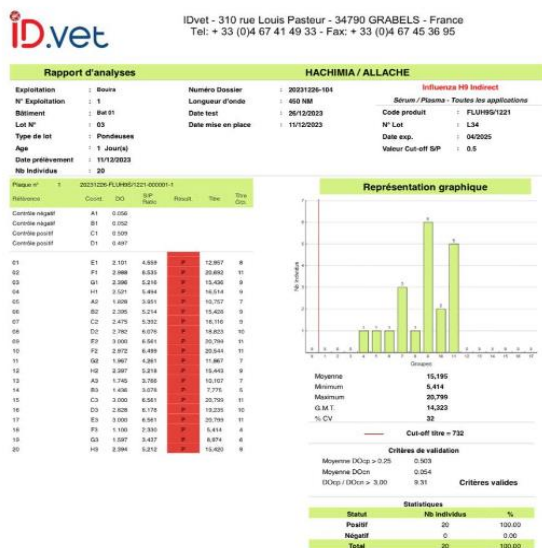
49. Fellahi S, Boudouma F. Virus de la maladie de Newcastle chez la volaille : Perspectives actuelles et émergentes. Rev Mar Sci Agron. 2021 ; 9 Suppl 3 : 453-60.
50. Suivi d'élevage de poulet de chair [Mémoire]. Disponible sur : <https://di.univ-blida.dz/jspui/>.
51. Les différentes techniques ELISA [En ligne]. Blagnac Cedex (France) : diagomics; [cité 18 mai 2024]. Disponible : www.diagomics.com
52. Technique ELISA [En ligne]. Darmstadt (Allemagne) : Merck KGaA ; 2024[Consulté le 18 mai 2024]. Disponible : www.sigmaaldrich.com
53. Maghraoui Khadidja, Ramdane Soumia. Contrôle de qualité de vaccination des élevages aviaires par technique d'ELISA dans quelques wilayas de l'Est d'Algérie [Mémoire]. bordj bou arreridj (Algérie) : Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi; 2022. 33 p.
- 54 Le test ELISA [En ligne]. Genève (Suisse) : BiOutils ; [cité 18 mai 2024]. Disponible : www.bioutils.ch.
55. Rebia Maroua, Ben Hamani Marwa. Etude sérologique de l'influenza aviaire faiblement pathogène [Mémoire]. MEDEA (Algérie) : Faculté des sciences, Université Dr. Yahia Fares; 2021. 72 p.
56. Alejandro Ramirez, Le test ELISA comme outil de diagnostic [En ligne]. Ripoll (Espagne) : 3trois3 ; 2022 [cité 18 mai 2024]. Disponible sur : www.3trois3.com
57. Protocol Hemagglutination [En ligne]. Laboratoire de référence international OIE/FAO pour l'IA ;17mar 2020 [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur : https://science.vla.gov.uk/flu-labnet/Documents/french/protocol_Haemagglutination_fr.pdf
58. C. Bibby D, Savanovic M, Zhang, J. Interlaboratory Reproducibility of Standardized Hemagglutination Inhibition Assays [En ligne]. mSphere ; 2 févr 2022 [consulté le 23 juin 2024]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S2379504222000649>
59. Zhao W, Baudouin E, Cameron R. A digital data interpretation method for hemagglutination inhibition assay by using a plate reader. Anal Biochem. 15 avr 2019;571: S37-9.
60. Tankeshwar A. Hemagglutination Inhibition Test: Principle, Procedure, Uses [En ligne]. Microbe Online ; 2014 [consulté le 23 juin 2024]. Disponible sur : <https://microbeonline.com/hemagglutination-inhibition-test-hai-principle-procedure-result-interpretations/>

61. HIA and neutralisation assays [En ligne]. Biology notes online ; 2024 [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur: <https://biologynotesonline.com/fr/neutralization-test-definition-principle-types-procedure-results-applications/>
62. Khan R, Arshad F, Hassan IU, Naikoo GA, Pedram MZ, Zedegan MS, et al. Advances in nanomaterial-based immunosensors for prostate cancer screening. Biomed Pharmacother. nov 2022;155: S1-12.
63. Dwivedi B. Dosage radioimmunologique (RIA): principe, procédure, résultats, utilisations [En ligne]. Microbe notes ; 2024 [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur: <https://microbenotes.com/radioimmunoassay-principle-uses-and-limitations/>
64. Choppin G, Liljenzin J, Ryderberg J. Uses of Radioactive Tracers [En ligne]. Butterworth-Heinemann ; 2002 [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780750674638500091>
65. Template Radioimmunoassay [En ligne]. EH&S Harvard ; [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur : https://www.ehs.harvard.edu/sites/default/files/sop_template_radioimmunoassay_with_i_125.pdf
66. Reuter A, Hendrikx J, Franchimont P. Radioimmunoassay principes et techniques. [En ligne]; 1973. consulté le [consulté le 2 juin 2024].
67. INGRAND J. la chimie de la vie RIA.pdf. L'actualité chimique ;
68. Dosage radioimmunologique - Image | Encyclopédie du projet Embryon [En ligne]. 22 jan 2022 [consulté le 24 juin 2024]. Disponible sur : <https://embryo.asu.edu/pages/radioimmunoassay-image>
69. Comment ça marche la technique ELISA : histoire, principe [En ligne]. Technobio.fr ; 02 jan 2022 [consulté le 13 juin 2024]. Disponible sur: <https://www.technobio.fr/comment-ca-marche-la-technique-elisa-histoire-principe/>
70. Goro K. Hemagglutination Test - an overview [En ligne]. ScienceDirect Topics ; 2003 [consulté le 22 juin 2024]. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/hemagglutination-test#definition>
71. Meegan JM, Evans BK, Horstmann DM. Comparison of the latex agglutination test with the hemagglutination inhibition test, enzyme-linked immunosorbent assay, and neutralization test for detection of antibodies to rubella virus. J Clin Microbiol. oct 1982;16 Suppl 4 :S644-9.
72. Développement et évaluation de quatre tests sérologiques de détection d'anticorps anti SARS-CoV-2 et deux tests de détection d'anticorps neutralisants [En ligne]. Paris (France) : Institut Pasteur ; 2020 [Consulté le 24 juin 2024]. Disponible : www.pasteur.fr

73. Abdessamed. Les réactions de neutralisation [En ligne]. SlideShare de Scribd ; 2017 [Consulté le 24 juin 2024]. Disponible : fr.slideshare.net

74. Thullier P, Sesardic DT. antibody engineering. 3ème édition. Heidelberg (Allemagne) : Humana Press ; 2018. 543 p

Annexes :



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2





IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel : +33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : +33 (0)4 67 45 36 95

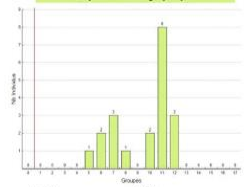
Rapport d'analyses		HACHIMIA / ALLACHE	
Bâtiment	: Bat 02	Numéro Dossier	: 20240414-28
Lot N°	: 06	Longueur d'onde	: 450 NM
Type de lot	: Pouleuses	Date test	: 14/05/2024
Age	: 29 Jour(s)	Date mise en place	: 05/12/2023
Date prélèvement	: 12/01/2024	N° Lot	: K15
Nb Individus	: 29	Date exp.	: 06/02/25
		Valeur Cut-off SP	: 0.2

Plaque N° : 20240414-28-000001-1

Référence	Cont.	DO	SP	Résult.	Titre	Titre Exp.
Contrôle négatif	A1	0.340				
Contrôle négatif	B1	0.340				
Contrôle positif	C1	0.342				
Contrôle positif	D1	0.362				

01	E1	0.702	0.745	P	8.945	8
02	F1	0.881	0.272	P	6.350	8
03	G1	0.739	0.840	P	23.041	11
04	H1	0.685	0.836	P	10.291	11
05	A2	0.900	0.805	P	24.455	12
06	B2	0.939	0.472	P	18.039	10
07	C2	0.500	0.756	P	24.688	12
08	D2	0.365	0.602	P	20.775	11
09	E2	0.648	0.479	P	22.371	11
10	F2	0.501	0.603	P	19.971	5
11	G2	0.892	0.905	P	24.986	12
12	H2	0.708	0.483	P	11.928	7
13	A3	0.748	0.851	P	15.487	8
14	B3	0.850	0.274	P	11.495	7
15	C3	0.848	0.124	P	23.037	11
16	D3	0.389	0.602	P	20.789	11
17	E3	0.833	0.278	P	11.328	7
18	F3	0.449	0.781	P	21.107	11
19	G3	0.857	0.834	P	16.887	10
20	H3	0.342	0.402	P	20.552	11

Représentation graphique



Moyenne : 17,046
Minimum : 6,873
Maximum : 24,986
G.M.T. : 16,669
% CV : 34

Critères de validation
Moyenne DOcp > 0.25 : 0.952
Moyenne DOcn : 0.045
DOcp / DOcn > 3.00 : 7.82

Statut	Nb individus	%
Positif	20	100.00
Négatif	0	0.00
Total	20	100.00

www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel : +33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : +33 (0)4 67 45 36 95

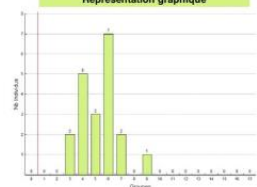
Rapport d'analyses		HACHIMIA / ALLACHE	
Bâtiment	: Bat 02	Numéro Dossier	: 20240414-12
Lot N°	: 06	Longueur d'onde	: 450 NM
Type de lot	: Poulets de chair	Date test	: 16/04/2024
Age	: 29 Jour(s)	Date mise en place	: 05/12/2023
Date prélèvement	: 12/01/2024	N° Lot	: J26
Nb Individus	: 20	Date exp.	: 01/02/24
		Valeur Cut-off SP	: 0.3

Plaque N° : 20240414-NDV5-CV410-000001-1

Référence	Cont.	DO	SP	Résult.	Titre	Titre Exp.
Contrôle négatif	A1	0.550				
Contrôle négatif	B1	0.552				
Contrôle positif	C1	0.558				
Contrôle positif	D1	0.540				

01	E1	1.529	2.230	P	7.400	8
02	F1	0.824	1.761	P	4.008	4
03	G1	1.424	2.217	P	8.005	8
04	H1	2.326	4.237	P	14.427	9
05	A2	0.724	1.186	P	3.923	3
06	B2	0.620	1.271	P	4.528	4
07	C2	1.029	1.711	P	5.886	4
08	D2	0.686	0.943	P	5.119	3
09	E2	1.488	2.548	P	8.402	6
10	F2	1.634	2.797	P	9.228	6
11	G2	1.693	1.833	P	6.989	5
12	H2	1.483	2.877	P	9.513	6
13	A3	1.847	2.556	P	8.375	5
14	B3	3.014	3.014	P	9.980	6
15	C3	1.198	3.429	P	11.351	7
16	D3	1.442	2.441	P	9.159	6
17	E3	1.329	2.828	P	8.675	6
18	F3	1.840	3.351	P	11.029	7
19	G3	0.929	1.546	P	5.719	4
20	H3	0.875	1.451	P	4.884	4

Représentation graphique



Moyenne : 2,851
Minimum : 3,118
Maximum : 14,427
G.M.T. : 5,819
% CV : 38

Critères de validation
Moyenne DOcp > 0.25 : 0.819
Moyenne DOcn : 0.351
DOcp / DOcn > 3.00 : 12.14

Statut	Nb individus	%
Positif	20	100.00
Négatif	0	0.00
Total	20	100.00

Commentaires

Attention !
La date d'expiration de votre kit est dépassée

www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



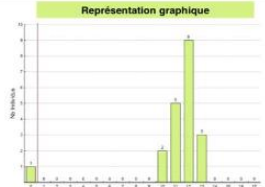
IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel : +33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : +33 (0)4 67 45 36 95

Rapport d'analyses		HACHIMIA / ALLACHE	
Exploitation	: ELKORCHANE	Numéro Dossier	: 20240402-12
N° Exploitation	: 1	Longueur d'onde	: 450 NM
Bâtiment	: Bat 02	Date test	: 02/04/2024
Lot N°	: 06	Date mise en place	: 05/12/2023
Type de lot	: Pouleuses	N° Lot	: K75
Age	: 29 Jour(s)	Date exp.	: 07/02/24
Date prélèvement	: 12/01/2024	Valeur Cut-off SP	: 0.5
Nb Individus	: 20		

Plaque N° : 20240402-FLHM5/1221-000001-1

Référence	Cont.	DO	SP	Résult.	Titre	Titre Exp.
Contrôle négatif	A1	0.504				
Contrôle négatif	B1	0.501				
Contrôle positif	C1	0.405				
Contrôle positif	D1	0.400				

01	E1	3.030	7.430	P	34.707	13
02	F1	0.235	0.472	N	479	3
03	G1	2.898	7.231	P	23.602	11
04	H1	2.726	6.970	P	20.501	11
05	A2	3.746	6.881	P	21.877	11
06	B2	3.530	8.759	P	30.382	13
07	C2	2.536	7.527	P	24.010	12
08	D2	2.480	6.203	P	19.306	10
09	E2	2.245	7.350	P	24.108	12
10	F2	2.883	7.192	P	22.441	11
11	G2	3.220	6.104	P	27.482	12
12	H2	2.254	7.373	P	24.208	12
13	A3	2.893	7.214	P	22.547	11
14	B3	2.501	6.233	P	19.417	10
15	C3	3.042	7.047	P	20.582	12
16	D3	3.098	7.733	P	20.780	12
17	E3	3.167	7.864	P	26.758	12
18	F3	3.224	8.238	P	28.404	13
19	G3	3.450	8.384	P	29.582	13
20	H3	3.512	7.520	P	24.936	12



Moyenne : 23,499
Minimum : 679
Maximum : 36,232
G.M.T. : 26,504
% CV : 26

Critères de validation
Moyenne DOcp > 0.25 : 0.443
Moyenne DOcn : 0.049
DOcp / DOcn > 3.00 : 9.04

Statut	Nb individus	%
Positif	19	95.00
Négatif	1	5.00
Total	20	100.00

www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



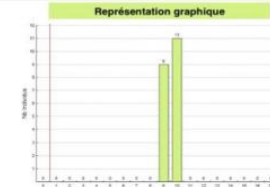
IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel : +33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : +33 (0)4 67 45 36 95

Rapport d'analyses		HACHIMIA / ALLACHE	
Exploitation	: ELKORCHANE	Numéro Dossier	: 20240402-12
N° Exploitation	: 1	Longueur d'onde	: 450 NM
Bâtiment	: Bat 02	Date test	: 02/04/2024
Lot N°	: 06	Date mise en place	: 05/12/2023
Type de lot	: Pouleuses	N° Lot	: L34
Age	: 29 Jour(s)	Date exp.	: 04/02/25
Date prélèvement	: 12/01/2024	Valeur Cut-off SP	: 0.5
Nb Individus	: 20		

Plaque N° : 20240402-FLHM5/1221-000001-1

Référence	Cont.	DO	SP	Résult.	Titre	Titre Exp.
Contrôle négatif	A1	0.583				
Contrôle négatif	B1	0.581				
Contrôle positif	C1	0.589				
Contrôle positif	D1	0.581				

01	E1	2.848	5.206	P	15.051	9
02	F1	2.898	5.937	P	16.443	9
03	G1	3.090	5.931	P	16.808	9
04	H1	3.104	5.726	P	17.428	10
05	A2	3.098	5.713	P	17.382	10
06	B2	3.051	5.908	P	16.140	10
07	C2	3.142	5.741	P	17.485	10
08	D2	3.065	5.653	P	17.138	10
09	E2	3.000	5.531	P	16.858	9
10	F2	3.443	6.360	P	18.670	10
11	G2	3.234	5.970	P	16.387	10
12	H2	3.000	5.531	P	16.858	9
13	A3	2.955	5.263	P	15.860	9
14	B3	3.045	5.815	P	16.388	9
15	C3	3.127	5.766	P	17.088	10
16	D3	3.140	5.887	P	16.883	10
17	E3	3.011	5.552	P	16.741	9
18	F3	3.089	5.717	P	17.280	10
19	G3	3.392	6.154	P	16.128	10
20	H3	3.032	5.591	P	16.094	9



Moyenne : 17,345
Minimum : 15,851
Maximum : 18,875
G.M.T. : 17,318
% CV : 6

Critères de validation
Moyenne DOcp > 0.25 : 0.585
Moyenne DOcn : 0.052
DOcp / DOcn > 3.00 : 11.25

Statut	Nb individus	%
Positif	20	100.00
Négatif	0	0.00
Total	20	100.00

www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



2/2



IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95



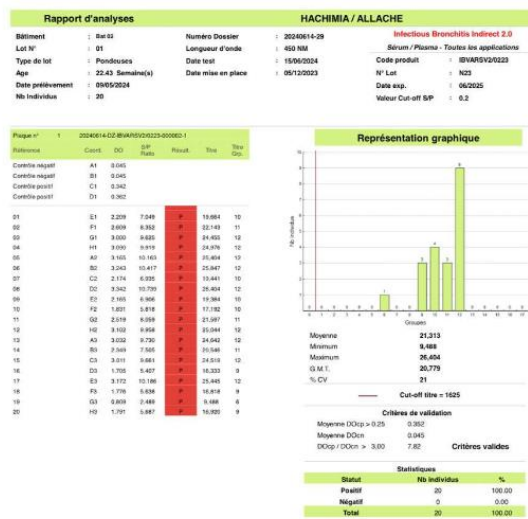
www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



22



IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



22



IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



22



IDvet - 310 rue Louis Pasteur - 34790 GRABELS - France
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95



www.id-vet.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com



22

© SIFT 2019, S2.1

9. Distribuer 100 µl de Solution de révélation dans chaque puits.

10. Couvrir la plaque et 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 puits pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape 9.

12. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est valide si :

- ✓ la valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.250.
- ✓ le rapport entre la moyenne des Contrôles Positifs (DO_{CP}) et la moyenne des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieur à 3.

$DO_{CP} > 0.250$

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

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps.

1. Calcul du rapport S/P

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

2. Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1.00 \times \log_{10}(S/P) + 3.630$$
$$\text{titre} = 10^{\log_{10}(\text{titre})}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante:

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

Note: Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@innovative-diagnostics.com

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des lots de volailles ainsi testés.

Page 4
IBVS ver 0416 FR

ID.vet

Système de management certifié 

ID Screen®

Infectious Bronchitis Indirect



ELISA Indirect pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de la Bronchite Infectieuse dans le sérum de poulet.

Usage in vitro

Avril 2016

➤ Nouveau protocole avec des contrôles positif et négatif prêt à l'emploi.

IBVS ver 0416 FR

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tél: +33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: +33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com

11587

Information Générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la bronchite infectieuse (IBV).

Il permet d'évaluer la quantité d'anticorps spécifiques présents dans les sérums de poules.

Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec l'antigène IBV purifié.

Des échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques IBV, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poule marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-IBV, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blavage.
- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Page 2
IBVS ver 0416 FR

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec l'antigène IBV 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 (0.5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

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 +25°C.
3. Les composants portant la même dénomination (solution de lavage, diluants) peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 µl, 10 µl, 100 µl, 300 µl.
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Lecteur de microplaques à 96 puits.
4. Eau distillée ou déionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.
6. Plaque de pré-dilution format 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La solution de révélation peut être irritante pour la peau.
3. La solution d'arrêt (0.5M) peut être nocive en cas d'ingestion et peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau (R22-43). Eviter le contact avec la peau (S24-37).
4. Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Eliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

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 transférer dans la plaque ELISA avec une 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/déionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande à info@innovative-diagnostics.com

Mode opératoire

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

➤ Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons quant à eux, sont analysés à la dilution finale 1/500 en Tampon de dilution 14 (pré-dilution au 1/50 suivie d'une dilution au 1/10 dans la microplaque).

1. Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 µl de l'échantillon à analyser.
 - 245 µl de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits. A L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.
- Note : il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puits.
2. Dans la plaque ELISA, ajouter :
 - 100 µl du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 µl du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 90 µl de Tampon de dilution 14 dans autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
 - 10 µl des échantillons pré-dilués tel que préparés ci-dessus.
3. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante 21°C (± 5°C).
4. Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 3.
5. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
6. Distribuer 100 µl de Conjugué 1X dans chaque puits.
7. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante 21°C (± 5°C).
8. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.

Page 3
IBVS ver 0416 FR

Validation

Le test est validé si :

- ✓ la valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.250.

$$OD_{PC} > 0.250$$

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

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

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps :

1- Calcul du rapport S/P

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

2- Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1,00 \times \log_{10}(S/P) + 3,520$$

$$\text{titre} = 10^{(\log_{10}(\text{titre}))}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire Newcastle
$S/P \leq 0,3$	TITRE ≤ 993	Négatif
$S/P > 0,3$	TITRE > 993	Positif

Nota : Le logiciel de traitement des données ID Soft™ est disponible en téléchargement gratuit sur notre site internet : <http://www.id-vet.com/support/software/>

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des lots de volailles ainsi testés.



Système de management certifié 

ID Screen® Newcastle Disease Indirect



ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de la Maladie de Newcastle dans le sérum de poulet ou de dinde traité par vaccins recombinants de type HVT-ND

Usage *in vitro*

Avril 2016

➤ **Nouveau protocole avec des contrôles positif et négatif prêt à l'emploi.**

NDVS ver 0416 FR

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.id-vet.com - E-mail: info@id-vet.com

Information Générale

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

Ce test peut être utilisé pour quantifier le niveau d'anticorps spécifiques présents dans les sérums de poulets ou de dindes et de faire un suivi de vaccination par vaccins recombinants (de type HVT-ND).

Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec l'antigène NDV purifié.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques de NDV, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poule marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-NDV, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blanchage.
- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec l'antigène NDV 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 (0,5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
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 mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 µl, 10 µl, 100 µl et 200 µl.
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Lecteur de microplaques à 96 puits.
4. Eau distillée ou déionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. La solution de révélation peut être irritante pour la peau.
3. La solution d'arrêt (0,5M) peut être nocive en cas d'ingestion et peut entraîner une sensibilisation par

contact avec la peau (R22-R43). Eviter le contact avec la peau (S24-S37).

4. Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
5. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Eliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

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 transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.

Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante (21°C $\pm$ 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/déionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande à info@id-vet.com.

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C $\pm$ 5°C) avant l'emploi, et les homogénéiser par retournement ou au vortex.

Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons quant à eux, sont analysés à la dilution finale 1/500 en Tampon de dilution 14 (pré-dilution au 1/50 suivie d'une dilution au 1/10 dans la microplaque).

1. Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 µl de l'échantillon à analyser.
 - 245 µl de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, A1, B1, C1 et D1.

Note : Il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puit.
2. Dans la plaque ELISA, ajouter :
 - 100 µl du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 µl du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 90 µl de Tampon de dilution 14 dans chaque puit qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
 - 10 µl des échantillons pré-dilués tel que préparés ci-dessus.
3. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante (21°C $\pm$ 5°C).
4. Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 3.
5. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
6. Distribuer 100 µl de Conjugué 1X dans chaque puits.
7. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante (21°C $\pm$ 5°C).
8. Laver 3 fois chaque puits avec environ 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
9. Distribuer 100 µl de Solution de révélation dans chaque puits.
10. Incuber 15 min (± 2 min) à température ambiante (21°C $\pm$ 5°C) à l'obscurité.
11. Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque puits pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape 9.
12. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

test est validé si :

- ✓ la valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0,250.

$$DO_{CP} > 0,250$$

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

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

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps :

Calcul du rapport S/P

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

Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 0,97 \times \log_{10}(S/P) + 3,449$$

$$\text{titre} = 10^{0,97 \times \log_{10}(S/P) + 3,449}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire IBD
S/P ≤ 0,3	TITRE ≤ 875	Négatif
S/P > 0,3	TITRE > 875	Positif

Note: Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@innovative-diagnostics.com.

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des lots de volailles ainsi testés.



Système de management certifié 

ID Screen® IBD Indirect



ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de la Bursite Infectieuse dans le sérum ou le plasma de poulet.

Usage in vitro

Avril 2016

➔ Nouveau protocole avec des contrôles positif et négatif prêt à l'emploi.

IBDS ver 0416 FR

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com

Information Générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de la Bursite infectieuse (maladie de Gumboro) (IBD).

Il permet d'évaluer la quantité d'anticorps dirigés contre IBDV présents dans le sérum ou le plasma de poulet.

Pour une utilisation dans d'autres espèces, veuillez nous contacter.

Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec de l'antigène purifié du IBDV.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques du IBDV, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué qui se fixe sur les immunoglobulines de poulet fixées sur les plaques est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blanchage.
- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec l'antigène purifié du IBDV
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 3
Tampon de dilution 14
Conjugué concentré (10X)
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

- Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (± 3°C).
- Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +25°C.
- Pour plus de détails sur les conditions de conservation des composants ouverts et/ou dilués, veuillez consulter <https://www.id-vet.com/fr/support/faq>.
- Les solutions de lavage et d'arrêt peuvent être utilisées pour toute la gamme de produits IDvet. Les solutions de révélation et les tampons de dilution avec les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 µl, 10 µl, 100 µl et 500 µl.
- Embouts de pipette à usage unique.
- Plaques de pré-dilution format 96 puits.
- Eau distillée ou déionisée.
- Système de lavage manuel ou automatique.
- Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Contient des composants pouvant être nocifs pour la

peau et les yeux et pouvant entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le contact avec la peau et les yeux. Utiliser une blouse de laboratoire protectrice, des gants à usage unique et des lunettes de sécurité. La solution d'arrêt (acide 0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion.

- Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
- Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Éliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Pour plus d'informations, veuillez vous référer à la fiche de données de sécurité, disponible sur demande à l'adresse info@innovative-diagnostics.com.

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 transférer dans la plaque ELISA avec une 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/déionisée.

La qualité de l'équipement de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande.

Mode opératoire

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

➔ Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux

puits contrôlés A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons quant à eux, sont analysés à la dilution finale 1/500 en Tampon de dilution 14 (pré-dilution au 1/50 suivie d'une dilution au 1/10 dans la microplaque).

- Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 µl de l'échantillon à analyser.
 - 245 µl de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, À L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.
- Dans la plaque ELISA, ajouter :
 - 100 µl du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 µl du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 90 µl de Tampon de dilution 14 dans autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôlés A1, B1, C1 et D1).
 - 10 µl des échantillons pré-dilués tel que préparés ci-dessus.
- Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à 21°C (± 5°C).
- Préparer le Conjugué 1X en diluant le Conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 3.
- Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au moins 300 µl de Solution de lavage 1X. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de Conjugué 1X dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante 21°C (± 5°C).
- Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au moins 300 µl de Solution de lavage 1X. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de Solution de révélation dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber 16 min (± 2 min) à température ambiante 21°C (± 5°C) à l'obscurité.
- Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque puits dans le même ordre qu'en étape 9, pour arrêter la réaction.
- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Page 3
IBDS ver 0416 FR

Validation

Le test est validé si :

- ✓ la valeur moyenne de densité optique des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0,250
- ✓ le rapport entre la moyenne des densités optiques des Contrôles Positifs (DO_{CP}) et la moyenne des densités optiques des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieur à 3.

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

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps :

Calcul du rapport S/P

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

Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1.3 \times \log_{10}(S/P) + 3.256$$

$$\text{titre} = 10^{\log_{10}(\text{titre})}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire FLUH9
S/P ≤ 0.5	TITRE ≤ 732	Négatif
S/P > 0.5	TITRE > 732	Positif

Note : Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@innovative-diagnostics.com.

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des animaux testés.



Système de management certifié 

ID Screen® Influenza H9 Indirect



ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés contre l'hémagglutinine H9 du virus Influenza A dans les sérums ou plasmas de poulets ou de dindes.

Utilisation pour le monitoring de vaccination par vaccins H9.

Usage in vitro

Décembre 2021

➤ Tampon de dilution 9 maintenant fourni pour la dilution des échantillons en microplaque ELISA

Juin 2020

➤ Nouveau temps d'incubation du conjugué (30 min au lieu de 60 min)

FLUH9S ver 1221 FR

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCE
Tel : + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : + 33 (0)4 67 45 38 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail : info@innovative-diagnostics.com

Information Générale

Cet ELISA indirect est destiné à la mise en évidence d'anticorps anti-H9 du virus Influenza A dans le sérum ou le plasma de poulets ou de dindes. Il peut être utilisé pour le monitoring de la vaccination par des vaccins H9.

Pour une utilisation dans d'autres espèces, veuillez nous contacter.

Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec une hémagglutinine H9 recombinante.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps anti-H9, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poulet marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-H9, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt.
- en absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec une protéine recombinante H9
Conjugué concentré (10X)
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Tampon de dilution 9
Tampon de dilution 3
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0.5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

- Le **Tampon de dilution 9**, le conjugué, les contrôles, les plaques et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (± 3°C).
- Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.
- Pour plus de détails sur les conditions de conservation des composants ouverts et/ou dilués, veuillez consulter <https://www.id-vet.com/fr/supportfaq>.
- Les solutions de lavage concentrée et d'arrêt peuvent être utilisées dans l'ensemble de la gamme IDvet. Les solutions de révélation et les tampons de dilution portant les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 µl, 100 µl et 500 µl.
- Embouts de pipette à usage unique.
- Plaque de pré-dilution format 96 puits.
- Eau distillée ou déionisée.
- Système de lavage manuel ou automatique.
- Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Contient des composants pouvant être nocifs pour la peau et les yeux et pouvant entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le contact avec la peau et les yeux. Utiliser une blouse de laboratoire protectrice, des gants à usage unique et des lunettes de sécurité. La solution d'arrêt (acide 0.5 M) peut être nocive en cas d'ingestion.
- Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
- Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Éliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Pour plus d'informations, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité, disponible sur demande à l'adresse info@innovative-diagnostics.com.

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/déionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande.

Mode opératoire

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

➤ Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons, quant à eux, sont analysés à une dilution finale au 1/500^{ème} (pré-dilution au 1/50^{ème} suivie d'une dilution au 1/10^{ème} dans la plaque ELISA).

- Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 µl de l'échantillon à analyser.
 - 245 µl de **Tampon de dilution 14** dans chacun des puits. À L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puits.
- Dans la plaque ELISA, ajouter :
 - 100 µl du **Contrôle Négatif** dans les puits A1 et B1.
 - 100 µl du **Contrôle Positif** dans les puits C1 et D1.
- 90 µl de **Tampon de dilution 9** dans autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
- 10 µl des **échantillons pré-dilués** tels que préparés ci-dessus.
- Couvrir la plaque et incuber **60 min (± 5 min)** à 21°C (± 5°C).
- Préparer le **Conjugué 1X** en diluant le **Conjugué concentré 10X** au 1/10^{ème} en **Tampon de dilution 3**.
- Vider les puits. **Laver 3 fois** chaque puits avec au minimum 300 µl de **Solution de lavage 1X**. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de **Conjugué 1X** dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber **30 min (± 3 min)** à 21°C (± 5°C).
- Vider les puits. **Laver 3 fois** chaque puits avec au minimum 300 µl de **Solution de lavage 1X**. Éviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber **15 min (± 2 min)** à 21°C (± 5°C) à l'obscurité.
- Distribuer 100 µl de **Solution d'arrêt** dans chaque puits en suivant le même ordre qu'en étape 9, pour arrêter la réaction.
- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est validé si :

- ✓ la valeur moyenne des densités optiques des Contrôles Positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0,250.

$$DO_{CP} > 0,250$$

- ✓ le rapport entre la moyenne des densités optiques des Contrôles Positifs (DO_{CP}) et la moyenne des densités optiques des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieur à 3.

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

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps :

Calcul du rapport S/P

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

Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1,3 \times \log_{10}(S/P) + 3,256$$
$$\text{titre} = 10^{1,3 \times \log_{10}(S/P) + 3,256}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire FLUHS
$S/P \leq 0,5$	TITRE ≤ 732	Négatif
$S/P > 0,5$	TITRE > 732	Positif

Note : Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@innovative-diagnostics.com

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P ou S/N, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des animaux testés.

ID.vet

Système de management certifié

ID Screen®

Influenza H5 Indirect



ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés contre l'hémagglutinine H5 du virus Influenza A dans le sérum ou le plasma de poulet, dinde, canard ou oie.

Utilisation pour le monitoring de vaccination par vaccins H5 (conventionnel et recombinant).

Usage in vitro

Décembre 2021

- Tampon de dilution 9 maintenant fourni pour la dilution des échantillons en microplaque ELISA
- Nouveau temps d'incubation du conjugué (30 min au lieu de 60 min)

FLUHSS ver 1221 FR

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCE
Tel: + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax: + 33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail: info@innovative-diagnostics.com

Information Générale

Cet ELISA indirect est destiné à la mise en évidence d'anticorps anti-H5 du virus Influenza A dans le sérum ou le plasma de poulet, dinde, canard ou oie.

Pour une utilisation dans d'autres espèces, veuillez nous contacter.

Il peut être mis en application pour le monitoring de la vaccination par des vaccins H5 (conventionnel et recombinant).

Description et Principe

Les puits sont sensibilisés avec une hémagglutinine H5 recombinante.

Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps anti-H5, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poulet marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-H5, 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 apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la solution d'arrêt.
- en absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec la protéine recombinante H5
Conjugué concentré (10X)
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Tampon de dilution 9
Tampon de dilution 3
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

- Le **Tampon de dilution 9**, le conjugué, les contrôles, les plaques et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
- Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.
- Pour plus de détails sur les conditions de conservation des composants ouverts et/ou dilués, veuillez consulter <https://www.id-vet.com/fr/supportfaq>
- Les **solutions de lavage et d'arrêt** peuvent être utilisées pour toute la gamme de produits IDvet. Les solutions de révélation et les tampons de dilution avec les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 µl, 100 µl et 500 µl.
- Embouts de pipette à usage unique.
- Plaque de pré-dilution format 96 puits.
- Eau distillée ou déionisée.
- Système de lavage manuel ou automatique.
- Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Contient des composants pouvant être nocifs pour la peau et les yeux et pouvant entraîner une

sensibilisation par contact avec la peau. Eviter le contact avec la peau et les yeux. Utiliser une blouse de laboratoire protectrice, des gants à usage unique et des lunettes de sécurité. La solution d'arrêt (acide 0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion.

- Ne pas exposer la solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
- Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Eliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Pour plus d'informations, veuillez vous référer à la fiche de données de sécurité, disponible sur demande à l'adresse info@innovative-diagnostics.com.

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 transférer dans la plaque ELISA avec une pipette multicanaux.

Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) 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/déionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les puits soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande.

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$), avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.

- Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons, tant à eux, sont analysés une dilution finale au 1/100^{ème} (pré-dilution au 1/50^{ème} suivie d'une dilution au 1/10^{ème} dans la plaque ELISA).

- Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 µl de l'échantillon à analyser.
 - 245 µl de **Tampon de dilution 14** dans chacun des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : Il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puits.
- Dans la plaque ELISA, ajouter :
 - 100 µl du **Contrôle Négatif** dans les puits A1 et B1.
 - 100 µl du **Contrôle Positif** dans les puits C1 et D1.
 - 90 µl de **Tampon de dilution 9** dans autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
 - 10 µl des **échantillons pré-dilués** tels que préparés ci-dessus.
- Couvrir la plaque et incuber 60 minutes (± 5 min) à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
- Préparer le **Conjugué 1X** en diluant le **Conjugué concentré 10X** au 1/10^{ème} en **Tampon de dilution 3**.
- Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de **Conjugué 1X** dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).
- Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum 300 µl de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
- Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque puits.
- Couvrir la plaque et incuber 15 min (± 2 min) à température ambiante 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) à l'obscurité.
- Distribuer 100 µl de **Solution d'arrêt** dans chaque puits pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape N°8.
- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.