

REPUBLIQUE ALGERIENNE DE



885THV-2

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche scientifique

Université Blida 1

Institut des sciences vétérinaires



Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

Thème

Etude bibliographique sur la bronchite infectieuse aviaire

Présenté par :

MELOUK AMEL

Membre de Jury:

Président : Dr. HAMMAMI N.....MAA.....ISV.

Examineur : Dr .BELLALA RIDA.....MAA.....ISV

Promoteur : Dr.LOUNAS .A.....MAA.....ISV

Promotion : 2013-2014

Remerciements

Au terme de ce travail :

Nous tenons à remercier tout d'abord, LE Dieu Pour nous avoir préservé, donné la santé, le courage, et la volonté Pour la réalisation de ce mémoire.

je remercie également mon promoteur Dr LOUNES ABD EL -AZIZ de me avoir aidé, et guidé au long de notre travail et ses directions avec beaucoup de patience .

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude aux honorables

Membres de jury : Dr.BELALA RIDA.....MAA

Dr.HAMMAMI .N.....MAA

A toute L'équipe de la clinique de l'institut des sciences vétérinaires de Blida.

A tous les professeurs du l'institut des sciences vétérinaire s du Blida

Nous adressons nos vifs remerciements aux personnes ayant coopéré de Prés ou de loin à l'élaboration de ce travail

MERCI !!!

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir, et un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie mon travail à :

- ❖ Mon très cher père « ALI » a qui je dis grand merci pour ton soutien ,ta patience pour ma formation et mon éducation merci pour tous ce qu'il a fait pour moi et a qui je souhaite une très longue vie et bonne santé.*
- ❖ Ma très chère belle mère « rekaya » pour son soutien et son encouragement et surtout pour sa patience et sa tendresse et pour tout ce qu'elle a fait pour moi et a qui je souhaite une très longue vie et bonne santé.*
- ❖ A mes très chers frères : Mohamed, Hmida, Mehdi, Saïd, Rabeh, Yassine, Faress.*
- ❖ A ma très chère soeure: Nessrine, sons mari, et son petit « haytham »*
- ❖ A mes chères soeures :Siham, Wassila.*
- ❖ A tout la famille Melouk petit et grand.*
- ❖ A tout mes aimais : Chahra ,Nabila, Asma ,Hassiba .*
- ❖ A tout la promotion vétérinaire2014 sans exception.*
- ❖ A tous ceux qui ont contribués de prêt ou de loïn à la réalisation de mon travail.*

MELOUK AMER

Résumé

Résumé :

Les Coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire sont reconnus comme étant l'un des agents pathogènes des poulets de chair et des poules pondeuses les plus fréquents dans le monde. Si le terme générique de bronchite infectieuse indique le tropisme respiratoire des premières souches isolées, il est apparu dès les années 1940 que les Coronavirus aviaires étaient capables de se multiplier dans le tractus génital des poules, causant des chutes de ponte et des anomalies des oeufs. Plus récemment, un tropisme de certaines souches pour les reins et le tube digestif a aussi été mis en évidence. L'autre caractéristique remarquable des Coronavirus aviaires est leur grande capacité de mutation donnant naissance à des familles de variants stables dont le pouvoir pathogène peut présenter certaines spécificités.

Mots-clés : Coronavirus, pondeuses, variants

Summary

Summary :

Infectious bronchitis coronaviruses are recognized as one of the most frequent pathogens of chickens and layers worldwide. Although the generic term of infectious bronchitis reflects the respiratory tropism of the first isolated strains, the added tropism of avian coronaviruses for the genital tract of hens, leading to a drop in egg production and abnormal eggshells, was demonstrated in the 1940s. More recently, a tropism for kidneys and the digestive tract has also been shown. The other remarkable characteristic of avian coronaviruses is their strong capacity for mutations, leading to stable variants with a specific pathogenicity in some cases.

Key words: Coronavirus, layers, variants.

ملخص

ملخص

التهاب الشعب الهوائية المعدية الفيروسية المكللة الطيور تعتبر واحدة من مسببات أمراض الدواجن الأكثر شيوعا في العالم . إذا كان مصطلح التهاب الشعب الهوائية المعدية يشير إلى اتلاف الطبقات الأولى للجهاز التنفسي ، فقد ظهرت في سنة 1940 أن الكورونا الطيور كانت قادرة على التكاثر في المسالك الدجاج الأعضاء التناسلية، مما تسبب في انخفاض في البيض والبيض غير الطبيعية . في الآونة الأخيرة، سلط الضوء أيضا على استهداف لبعض سلالات الكلى والجهاز الهضمي. من جهة أخرى ميزة كبيرة من طيور التاجي هو قدرتها الكبيرة على التحول إلى أسر متكونة من عدة فيروسات مستقرة و التي قد تسبب عدة اختلافات مرضية.

الكلمات الرئيسية: الفيروسية المكللة، الدجاج، انخفاض البيض.

Liste des figures

Liste des figures :

Figure 1 : Morphologie du virus du SARS (d'après Stadler et al., 2003)..

Figure 2 : Génome du virus de la BI

Figure 3 : Destruction des cils par les coronavirus

Figure 4 : une altération des œufs. (déformation de la coquille, minceur de la coquille, liquéfaction de l'albumen).

Figure 5 : Néphrite aigue

Figure 6 : Trachéite nécrotico-hémorragique

Figure 7 : dilatation de l'oviducte

Figure 8 : muscles oedémateux

Liste des tableaux

Liste des tableaux :

Tableau I : classification des souches isolés

Listes des abréviations

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

BI: Bronchite infectieuse

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

IDG : Immunodiffusion en gélose

IHA : Inhibition de l'héماغglutination

SARS: Severe acute respiratory syndrome

SN : Séroneutralisation

VBI: Virus de la Bronchite Infectieuse

Introduction :

L'élevage avicole en algérie est habituellement la plus importante production animale destinée à la consommation alimentaire ,qui a enregistré le développement le plus remarquable au cours de ces dernières années .Cette production animale intensive est assujettie à de nombreuses contraintes zootechniques et sanitaires, face auxquelles les vétérinaires avicoles se doivent d'être particulièrement vigilants.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés particulièrement à la bronchite infectieuse aviaire, maladie identifiée depuis longtemps en production de volailles, ré-émerge régulièrement en élevage, malgré des programmes de contrôles sanitaires et médicaux stricts.

La bronchite infectieuse (BI) est une des dominantes pathologiques de l'espèce *Gallus gallus* en raison de sa grande contagiosité, de sa fréquence et de son incidence économique élevée malgré la vaccination. Le coronavirus, du fait de la taille et de la nature ARN de son génome, a une grande variabilité entraînant l'apparition de nombreux variants et compliquant la prévention par la vaccination.

Le tableau clinique de la BI est pléomorphe et non pathognomonique. Les symptômes peuvent être des troubles respiratoires de sévérité variable, des atteintes rénales parfois létales, des chutes de ponte. Des signes généraux tels que chute de la consommation d'eau et d'aliments, prostration sont fréquemment associés et sont à l'origine de la baisse des performances économiques des élevages. Les lésions causées par le virus BI peuvent être aggravées par des infections bactériennes secondaires à l'origine de traitements antibiotiques coûteux.

La prévention des infections cliniques au virus de la BI repose sur la vaccination largement pratiquée en élevage. Elle confère une protection homologue mais la protection hétérologue est très variable et souvent insuffisante. Par conséquent, dans le but d'adapter les programmes vaccinaux, il est nécessaire de connaître les sérotypes circulant dans la zone géographique des élevages en question.

En général, les infections au virus de la BI peuvent être diagnostiquées par la recherche d'anticorps spécifiques de sérotypes, par la mise en évidence d'antigènes ou par le séquençage. La mise en évidence d'une séroconversion est classiquement utilisée en routine lors d'infections cliniques. Les tests sérologiques disponibles sont l'inhibition de l'hémagglutination, la précipitation en milieu gélosé et l'ELISA. L'interprétation de ces tests sérologiques est compliquée par la faible documentation sur leur performance et sur l'exploitation des résultats. Le coût et la complexité de la neutralisation virale en font un test

rarement utilisé en routine. La recherche antigénique est effectuée par l'isolation virale (méthode de référence coûteuse, laborieuse et chronophage) et l'immunofluorescence (méthode peu sensible et peu spécifique).

La majorité des recherches actuellement mises en oeuvre sont des études de génotypage trop peu standardisées et dont les résultats sont difficilement comparables. De plus, les études actuellement disponibles sur la distribution des différents variants en France sont réalisées lors de signes cliniques. Très peu de données sur la prévalence réelle des différents sérotypes sont donc actuellement disponibles.

Ce document va s'attacher à effectuer une étude bibliographique du virus de la BI en insistant sur l'existence de différents variants et sur les méthodes de diagnostic ainsi les méthodes de lutte .

Chapitre I :

Généralité

I. Historique :

La bronchite infectieuse aviaire a pour la première fois, été observée dans le Nord Dakota (Etats-Unis) en 1930. Initialement, cette maladie était décrite comme une atteinte respiratoire des jeunes poulets, d'où son nom. Ce n'est que plus tard qu'elle fut décrite sur des animaux âgés, notamment des poules pondeuses (9). D'autres manifestations cliniques de la bronchite infectieuse furent décrites ultérieurement, telles que les chutes de pontes (années 40) ou des lésions rénales (années 60). Ainsi l'étiologie virale a été décrite en 1936, les premières cultures sur les oeufs embryonnés ont été réussies en 1937 par Beaudette et Hudson. L'absence de protection croisée entre les souches pathogènes Massachusetts (découverte en 1941) et Connecticut (découverte en 1951) a été découverte en 1956 par Jungherr et ses collègues ; c'est la découverte de l'existence de plusieurs sérotypes du virus de la bronchite infectieuse.

II. Définition :

Synonymie : coronavirose / en anglais : Infectious bronchitis.

La bronchite infectieuse est une maladie virale affectant la poule, plus particulièrement les poules pondeuses et les poussins. Elle est due à un Coronavirus. Elle est caractérisée sur le plan clinique par des signes généraux de fièvre, d'apathie et d'anorexie associés aux signes respiratoires(26)

III. Importance :

La bronchite infectieuse est une des maladies aviaires les plus problématiques en élevage, les conséquences désastreuses de la bronchite infectieuse sont de nature économique, non par pertes directes en élevage (mortalité), mais le plus souvent par à pertes indirectes : diminution de la production d'oeufs chez les poules pondeuses, retard de croissance ou saisies à l'abattoir chez les poulets de chair, enfin a une mortalité due aux agents pathogènes secondaires tels E. Coli, M.galliseoticum.(20)

IV. Etiologie :CORONAVIRUS DE LA BRINCHITE INFECTIEUSE AVIAIRE.

Le virus responsable a été identifié par Beaudette et Hodson en 1937 qui le nommèrent « le virus de la bronchite infectieuse » .

Chapitre II :

Etude du virus

IV. Etiologie : CORONAVIRUS DE LA BRINCHITE INFECTIEUSE AVIAIRE.

A. Classification :

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) appartient à la famille des *Coronaviridae* (virus à ARN). et au genre coronavirus.

Les coronavirus affectent de nombreuses espèces mammifères (virus de la Péritonite Infectieuse Féline, Virus du Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu « SARS » de l'Homme, virus de l'entérite transmissible du porc), et aviaires (Coronavirus de la dinde, du pigeon). Ce genre est divisé en trois groupes, selon des critères historiquement antigéniques. Depuis, le séquençage du génome a confirmé cette classification. Ainsi, IBV appartient au Groupe 3, qui ne comprend que des coronavirus aviaires (10).

B. Caractéristiques :

1. Morphologie :

Il s'agit d'un virus enveloppé, pléomorphe mais d'allure grossièrement sphérique et d'un diamètre moyen de 120 nm. Il présente à sa surface des projections en forme de massue (20 nm), correspondant à la glycoprotéine S (10) ; ces projections sont nettement séparées, ce qui le différencie des paramyxovirus, et forment une couronne à l'origine du nom de la famille.

Image a : image par microscopie électronique du virus cultivé sur cellules Véro.

Image b : Représentation schématique du virus. La bicouche lipidique comprend les spicules protéiques (S). Les glycoprotéines membranaires (M) ainsi que les protéines d'enveloppe (E) protègent la nucléocapside protéique (N). Dans le cas des coronavirus, la membrane lipidique est dérivée de membranes intracellulaires.

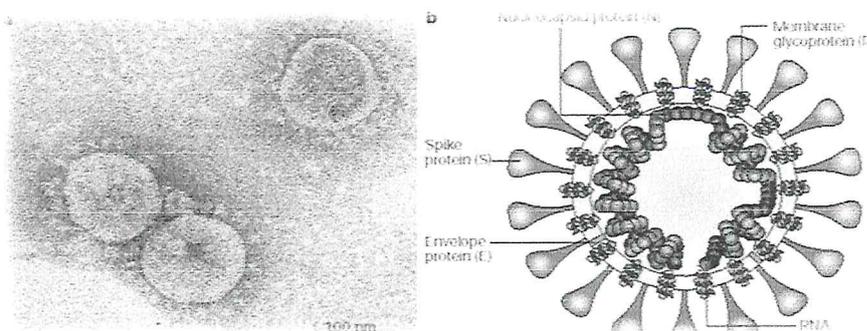


Figure 1 : Morphologie du virus du SARS (d'après Stadler et al., 2003)

Les souches du virus de la BI diffèrent par leur densité en gradients de sucrose, densité allant de 1,18 g/ml (particules avec le nombre maximal de protéines S) à 1,15 g/ml (particules avec le moins de protéines S) (16).

2. Composition chimique :

Le virus de la BI contient un ARN monocaténaire de polarité positive qui comprend environ 27 600 nucléotides. Le génome a été entièrement séquencé pour plusieurs souches.

Le virus possède trois protéines structurales majeures (16) :

- La protéine M transmembranaire (à l'origine d'anticorps neutralisants et précipitants), d'environ 230 acides aminés et N-glycosylée. Seulement 10% de la protéine M est exposée à la surface du virus (16). Elle participe à la formation de la particule virale.
 - La protéine N, nucléocapside d'environ 420 acides aminés, est étroitement liée au génome ARN et forme ainsi une structure hélicoïdale : la ribonucléoprotéine (RNP). Elle est très conservée chez tous les Coronavirus aviaire. Elle constitue un antigène immunodominant induisant la formation d'anticorps, neutralisants et précipitants, de réactions croisées à des titres élevés (41).
 - La glycoprotéine S comprend deux à trois copies de deux glycopeptides, les sous-unités, S1, amino-terminale (90 kDa soit environ 520 acides aminés) et S2, carboxy-terminale (84 kDa soit environ 625 acides aminés). S2 permet l'ancrage de S1 dans la membrane, S1 forme le bulbe (10). Il n'y a pas de pont disulfures dans la protéine S et la liaison de S1 à S2 est non covalente (9, 16). La protéine S a 2 fonctions connues : elle se lie aux récepteurs des cellules hôtes et permet la fusion des membranes de la cellule hôte et du virus permettant l'entrée du génome viral au sein de la cellule hôte. S1 est à l'origine de l'induction d'anticorps neutralisants et inhibant l'hémagglutination et a ainsi un rôle majeur dans l'induction de l'immunité humorale protectrice (12), (16). Elle induit la formation d'anticorps spécifiques de sérotypes et d'anticorps de réactions croisées. Elle est donc à la base de la classification en sérotypes (51). La sous unité S1 est la région la plus variable génétiquement, en particulier au niveau de deux zones hypervariables, HVR1 et 2 (situées dans le premier et le troisième quartier) (14). Elle est à la base de la diversité génétique du virus de la bronchite infectieuse.
- Une quatrième protéine, E, petite protéine membranaire d'environ 100 acides aminés, présente en très faible quantité au niveau de l'enveloppe, est essentielle à la formation de la particule virale.

L'hémagglutinine estérase, présente au niveau de la membrane, est un antigène prédominant.

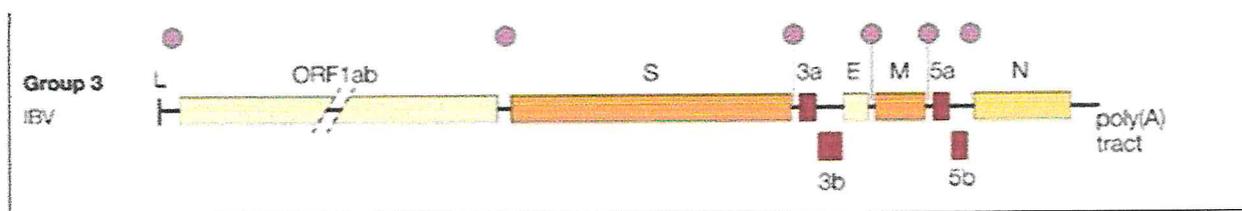


Figure 2 : Génome du virus de la BI (62)

3. Réplication et Variabilité :

Après reconnaissance de la protéine S par le récepteur cellulaire et fusion du virus et de la cellule hôte, le matériel génétique viral est relargué dans la cellule hôte. La réplication du virus de la BI est intra-cytoplasmique et utilise le métabolisme de cellules actives des épithéliums. Cinq ARN messagers sont produits par un mécanisme de transcription discontinu. Trois de ces ARNm, 2, 4 et 6, sont à l'origine de la production des protéines virales S, M et N respectivement, alors que les ARNm 3 et 5 codent respectivement trois et deux protéines. L'une de celle codée par l'ARNm 3 est la protéine E, les autres sont des protéines non structurales non incorporées dans la particule virale (16). La formation du virion s'effectue par bourgeonnement de la membrane du réticulum endoplasmique et non à la surface de la cellule. Les virions s'accumulent dans des vésicules mais le mécanisme de sortie de la cellule est inconnu. De nouveaux virus commencent à apparaître trois à quatre heures après l'infection, avec une production maximale atteinte dans les douze heures suivant l'infection à 37°C (17).

Lors du processus de réplication, de nouvelles souches apparaissent périodiquement. Deux mécanismes sont possibles : la mutation simple et la recombinaison lors de co-infections à différents variants.

a) Variabilité par mutation :

Lors de la réplication, des substitutions, délétions ou insertions de nucléotides dans la séquence peuvent survenir. Or, la réplication par l'ARN polymérase ARN dépendante est infidèle car il n'existe pas de domaine exonucléase 3'-5' à activité « correction-réparation ». Par conséquent, le taux moyen d'erreurs atteint 10^{-3} à 10^{-5} mutations par nucléotide copié, soit en moyenne, étant donné la grande taille du génome des coronavirus (environ 30 kb), l'apparition d'un mutant à chaque cycle de réplication. Les mutations ponctuelles jouent donc un rôle très important dans la variabilité du virus de la bronchite infectieuse.

b) Variabilité par recombinaison homologue :

La recombinaison homologue nécessite une co-infection de l'hôte par différents variants (vaccinaux ou sauvages) du virus de la bronchite infectieuse. Cette recombinaison serait due à des épissages, c'est à dire des sauts de phases de la polymérase lors de la réplication de l'ARN viral. Ces variants du virus de la bronchite infectieuse issus de recombinaison sont fréquemment isolés (13, 48).

Ce mécanisme de recombinaison serait favorisé par l'application répandue de programmes vaccinaux à souches vivantes et différentes et par la persistance longue du virus dans certains tissus des animaux infectés

Les recombinaisons sont plus susceptibles d'entraîner l'apparition de nouveaux variants si elles se produisent dans les régions hypervariables du gène de la protéine S. Alors que de nombreux variants sont capables de se répliquer et de survivre sur seulement une courte période, certains émergent et deviennent d'importance économique à travers le monde ou dans des zones géographiques restreintes.

4. Résistance aux agents physiques et chimiques :

Il s'agit de virus relativement fragiles, sensibles à la chaleur, aux solvants des lipides, aux détergents non ioniques et aux désinfectants.

a) Thermostabilité :

La plupart des souches du virus de la BI sont inactivée après quinze minutes à 56°C et quatre-vingt-dix minutes à 45 °C. Le stockage à -20°C doit être évité mais le virus reste viable à -30°C dans du liquide allantoïdien pendant plusieurs années (17).

b) Lyophilisation :

Le fluide allantoïque infectieux, lyophilisé et conservé au réfrigérateur reste viable pendant plus de 30 ans. Le virus de la BI lyophilisé ou congelé peut être stabilisé par l'ajout de 10% de glucose (17).

c) Le pH :

Lors de culture cellulaire, le virus de la BI est en moyenne plus stable à un pH compris entre 6 et 6,5. Certaines souches sont plus stables à pH 3. (17)

d) Agents chimiques :

Le virus de la BI est sensible à l'éther mais il n'y a pas d'inactivation complète du virus. Une perte du pouvoir infectieux est obtenue par utilisation de solution à 50% de chloroforme à température ambiante pendant 10 minutes et par 0,1% de deoxycholate de sodium à 4°C pendant 18 heures (17).

Du fait de son enveloppe lipidique, le virus de la BI est sensible aux désinfectants usuels (17).

La survie du virus dans l'eau a été étudiée du fait de l'importance de la mise en place de vaccins distribués par l'eau de boisson. Le cuivre (0,2mg/L) et les ions chlorures (5 ppm) inactivent le virus rapidement. L'ajout de poudre de lait écrémé aide à la survie du virus (47).

C. Classification des souches :

La classification en sérotypes et génotypes est fondée sur les caractéristiques de la protéine S, la sous-unité S1 amino-terminale de cette protéine étant la plus variable génétiquement et jouant un rôle majeur dans l'induction de la réponse immunitaire en induisant les anticorps spécifiques de sérotypes.

Les différentes souches du virus de la BI peuvent donc être classées en sérotypes et génotypes.

De nombreux sérotypes ont été identifiés bien qu'il en existe certainement de nombreux autres. Traditionnellement, les sérotypes sont définis par neutralisation virale, les anticorps neutralisants étant induits par la sous unité S1 de la protéine S. Les tests d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et l'ELISA avec anticorps monoclonaux (dirigés contre les épitopes formés par la protéine S1) sont actuellement également utilisés pour la classification en sérotypes.

Les génotypes sont définis par la technique de RT-PCR (production de copies ADN des gènes du virus, généralement la partie S1 du gène de la protéine S) associée soit au séquençage soit à une deuxième PCR à amorces spécifiques, ou plus rarement par détermination des sites de clivage (RFLP) (16). Ce terme « génotype » n'a pas de signification précise et est défini arbitrairement par chaque auteur. Cependant, les souches d'un sérotype donné, tendent à avoir une homologie de la séquence en acides aminés de la protéine S1 d'environ 90% ou plus. Toutefois, il est possible pour deux souches d'appartenir au même génotype S1 mais d'être de deux sérotypes différents (16).

La classification en sérotypes est donc basée sur l'utilisation de tests fonctionnels, en rapport avec la biologie du virus. La classification en génotypes est plus précise et intéressante d'un point de vue épidémiologique mais ne fournit que peu d'information sur la biologie du virus. Le séquençage génétique permet la mise en place d'arbres phylogénétiques.

Les différentes souches du virus de la BI peuvent enfin être classées en protectotypes : ils correspondent aux spectres de protections conférés par les différents vaccins.

✓ Plusieurs types de virus IB isolés :(BIOLAB MSD Santé animal)

IB VIRUS	Origine	Date
MASS M41	USA	1941
Connecticut(46)	USA	1951
IB V10	Allemagne	1967
IB Uccle 75	Belgique	1976
D207	Pays-Bas	1979-80
D3896	Pays-Bas	1979-80
D1466	Pays-Bas	1980-81
D274	Pays-Bas	1980-81
HV6/82	Royaume-Uni	1982
793/B	Royaume-Uni	Groupe88
4/91	Royaume-Uni	Groupe88
CR88121	France	Groupe 88
QX	CHINE	2000

D. Méthodes de culture :

I. Œuf embryonné :

La culture sur oeufs embryonnés SPF est le plus souvent utilisée, par inoculation d'un homogénat de tissus infectés dans le liquide allantoïdien à 10 jours d'âge. Lors des premiers passages, certains embryons infectés présentent des retards de croissance et une position recroquevillée au 19ème jour, mais peu de mortalité. On peut aussi voir une diminution du volume du sac vitellin dont la membrane est affinée. A l'autopsie des embryons, on observe très souvent des dépôts d'urates sur les reins. Plus le nombre de passages sur oeufs

embryonnés augmente, plus le taux d'embryons mal formés et la mortalité augmentent. On obtient généralement 80% de mortalité au 20ème jour d'incubation après 10 passages (9).

II. Culture d'organe :

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

III. Culture cellulaire :

La culture cellulaire de l'IBV est difficile à réaliser en pratique, et se déroule généralement sur des cellules rénales ou hépatiques d'embryons de poulets. Le temps minimal de production de virions est de 3 à 4h, mais les titres maximaux en virions sont atteints vers 14 à 36h (temps variable selon la souche d'IBV et la dose infectante). Toutefois ce titre viral est généralement 10 à 100 fois moins élevé que ceux susceptibles d'être obtenus par culture sur oeufs embryonnés (28). Les cellules rénales infectées commencent à former des syncytia dès 6h post-inoculation. Après 18 à 24h, les syncytia contiennent 20 à 40 noyaux et deviennent vacuolisés. Les noyaux sont pycnotiques.

E. Pathogénicité :

1. Tropisme tissulaire :

Le virus infecte initialement les cellules ciliées et mucosales de l'appareil respiratoire supérieur. Le virus est majoritairement ré-isolé dans le système respiratoire supérieur (cavités nasales, trachées), pendant 2 à 5 jours post infection. 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 peut de plus être retrouvé dans les poumons et les sacs aériens (à de mêmes titres viraux). Ainsi l'IBV est responsable de la perte des cils des cellules de l'appareil respiratoire, voire de pneumonies peu sévères, secondairement suivies par des surinfections bactériennes, responsables directes du tableau pathologique.

L'IBV possède aussi un tropisme pour d'autres tissus non respiratoires : le rein, l'oviducte, le testicule, ainsi que certaines portions du tube digestif (oesophage, proventricule, duodénum, jéjunum, rectum, cloaque), L'infection virale du tube digestif n'entraîne pas de manifestation clinique, Les néphrites occasionnées par l'infection rénale de certains sérotypes d'IBV sont dues au tropisme pour les cellules épithéliales du bas de l'appareil rénal, L'infection de l'oviducte, par l'IBV est responsable d'une diminution de la ponte.

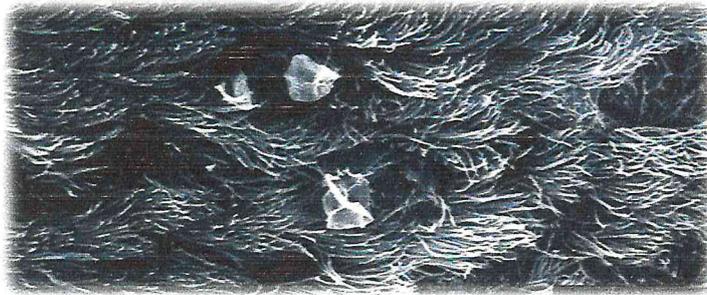


Figure 3 : Destruction des cils par les coronavirus.(62)

Les titres en virus retrouvés dans chaque organe ne correspondent pas forcément avec la pathogénicité engendrée. Ainsi, une même souche répliquée à de mêmes titres dans la trachée et le rein peut n'entraîner qu'une trachéite sans néphrite (3). 31

L'aptitude de l'IBV à se répliquer dans des cellules épithéliales de tissus respiratoires, entériques, rénales ou ovariens pourrait, entre autres, être due au fait que l'attachement de l'IBV à la cellule hôte est dépendant de la présence d'acide Nacétylneuraminique(acide sialique) à la surface de cette dernière (10). De plus, si ce récepteur (ose à 10 atomes de carbone fréquemment rencontré dans les membranes cellulaires) présente une liaison $\alpha 2,3$ entre la fonction acide et le corps de l'oligo-saccharide, le tropisme de l'IBV pour la cellule est plus important (52).

2. Déterminants du pouvoir pathogène :

Le déterminisme du pouvoir pathogène de l'IBV n'est pas encore clairement élucidé. La protéine S semble être indispensable dans le déterminisme de celui-ci, probablement par reconnaissance spécifique de récepteurs de la cellule cible. Balesteros a montré qu'une différence d'un ou deux acides aminés dans la composition de la protéine S du coronavirus de l'entérite transmissible du porc, déterminait si celui-ci était ou non pathogène (6). De même Haijema a montré que l'inversion du gène de la protéine S du virus de l'hépatite de la souris (MHV) avec celui du coronavirus du chat, a permis de créer un virus capable de se répliquer dans les cellules de chats (39). Toutefois, le rôle déterminant du pouvoir pathogène de la protéine S n'est pas encore totalement élucidé, et le fait de posséder une protéine S d'une souche pathogène ne semble pas être une condition suffisante pour exprimer un pouvoir pathogène.

Le rôle des protéines non structurales (3a, 3b, 5a, 5b) est encore non élucidé, mais il

est possible que celles-ci soient, entre autre, responsables d'un contournement de l'immunité de l'hôte, et donc du pouvoir pathogène d'IBV. Cette hypothèse n'est encore qu'une pure conjecture (10).

Enfin, la présence d'acide N-acetylneuraminique sur la membrane des cellules réceptrices semble être une condition favorable au tropisme du virion (*cf supra*).

Chapitre III :

Epidémiologie

V.Epidémiologie :

A. Spectre d'hôtes et variation de la sensibilité de l'hôte au virus de la BI:

Bien que la sensibilité à la maladie varie selon la race ou la souche de poulets, il est généralement considéré que le poulet est le seul oiseau naturellement infecté par le virus de la bronchite infectieuse et le seul à exprimer la maladie.

Des coronavirus, génétiquement très proches du virus de la BI (autant que les variants du virus de la BI entre eux) ont été isolés chez le faisan lors de troubles respiratoires et rénaux. Toutefois, l'inoculation des isolats de faisans à des poulets exempts de pathogènes spécifiques n'entraîne pas l'apparition de symptôme. De la même manière, des inoculations expérimentales par aérosol du virus de la bronchite infectieuse aviaire à des dindes n'entraînent aucune manifestation clinique, mais des inoculations par voie intra veineuse peuvent produire des phases de virémie jusqu'à 48 heures post inoculation. De la même manière, l'inoculation de coronavirus de dinde à des poulets entraîne la réplication du virus dans les tissus du tube digestif mais aucun signe clinique n'est exprimé.

B. Transmission :

1. Sources :

Les poulets infectés sont les sources principales de virus via le jetage nasal et les fèces. L'excrétion virale dure environ 10 jours par le jetage à la faveur de la toux ou des éternuements, et peut atteindre 20 semaines dans les déjections. La réceptivité au virus de la BI est élevée quelque soit l'âge. La nourriture et l'eau de boisson contaminées par les fèces sont également des sources d'infection. Le virus peut survivre longtemps dans les fèces ce qui peut représenter une source de réinfection continue dans la phase de guérison de la maladie (44).

2. mode de Transmission

La transmission est uniquement horizontale par voie aérienne essentiellement. La voie digestive est cependant possible.

La transmission aérienne au sein d'une bande est très rapide. Elle se fait directement entre des poulets distants de 1,5 m. Des poulets sensibles au contact de poulets infectés développent des signes cliniques dans les 36 heures (32, 44).

Sur un site, la transmission de bâtiment à bâtiment peut se faire en un ou deux jours, et de ferme à ferme en trois ou quatre jours (44). La transmission de bâtiment en bâtiment est possible par le vent sur une distance de 1,2 km (44) et sur de plus longues distances par le matériel et le personnel contaminés.

Le virus a été isolé de la semence et des oeufs de poulets infectés mais la transmission verticale semble n'avoir qu'un très faible rôle (36).

3. Persistance chez l'hôte

La fréquence d'isolement du virus décline avec le temps et varie selon la souche de virus infectante. Le virus peut être isolé en routine de la trachée et des poumons entre un et sept jours post infection à des titres très élevés. Il peut aussi être isolé du contenu cloacal de un à vingt quatre jours après l'infection (44). Une réelle latence, comme celle observée dans le cas des infections à Herpesvirus, n'est pas suspectée dans le cas de la BI. Cependant, dans certains cas, le virus semble persister chez les oiseaux infectés dans certains sites privilégiés tels que le rein, l'appareil digestif et notamment les amygdales caecales.

La persistance et l'excrétion prolongée du virus dans les fèces de 49 à 227 jours après l'infection ont été démontrées chez un faible nombre de poulets (19, 44). Une autre étude montre que le virus peut être isolé dans les amygdales caecales et dans les fèces respectivement jusqu'à 14 semaines et 20 semaines post infection (2, 17). Le virus vaccinal peut persister dans plusieurs organes internes jusqu'à 163 jours ou plus et durant cette période, le virus peut être excrété dans les sécrétions nasales et les fèces (17). D'autre part une étude a été réalisée sur 28 560 oiseaux vaccinés avec un vaccin vivant H120 (souche Mass) par nébulisation à l'âge d'1 jour et un vaccin vivant 4/91 à l'âge de 14 jours. Des écouvillons trachéaux ont été réalisés à intervalle régulier afin de retrouver le virus vaccinal. La souche Mass est isolée jusqu'à 4 semaines après la vaccination et la souche 4/91 jusqu'à 6 semaines (communication personnelle, B. Robineau). Une seconde étude réalisée sur une population de poules vaccinées avec des vaccins H120 à l'âge d'1 jour, 4/91 à l'âge de 14 jours et H120 à 5 semaines d'âge, montre la persistance des souches vaccinales jusqu'à 9 semaines après la dernière vaccination homologue pour chacune des deux souches.

4. Période d'incubation :

L'incubation est courte de 18 à 36 h mais dépend de la voie et de la dose d'inoculation.

5. Facteurs intrinsèques et extrinsèques influençant la pathogénie de l'infection

a) Age

Les poulets sont sensibles à tout âge mais la maladie est plus sévère chez les jeunes poulets. La mortalité, la néphropathogénicité, et les lésions de l'oviducte diminuent avec l'âge (17, 36).

b) Génétique

L'expression de la maladie dépend de la race de poulets infectés. Bien que le virus de la BI se réplique dans l'épithélium trachéal à des niveaux similaires quelque soit la race de poulet, le taux de mortalité varie grandement. Ceci a été étudié lors d'infections simples mais également lors d'infections concomitantes avec *E.coli*. Le virus prédispose les oiseaux à une infection bactérienne, entraînant une augmentation de la mortalité. Des infections mixtes *E.coli*/virus de la bronchite infectieuse, entraînent des taux de mortalité différents selon la lignée de poulets White Leghorn infectée.

Il a été démontré que l'haplotype (B) MHC des poulets influence leur résistance génétique au virus de la BI (4, 10). De la même manière, les races légères sont plus sensibles aux souches néphropathogènes que les races lourdes. Ces souches entraînent également des taux de mortalité plus élevés en élevages de chair qu'en poudeuses bien que le virus se multiplie autant chez ces deux types d'oiseaux. Enfin, les mâles sont deux fois plus sensibles aux souches néphropathogènes que les femelles (36).

c) Alimentation

La mortalité due aux souches néphropathogènes est augmentée lors d'alimentation hautement protéinée (36).

d) Environnement

Les faibles températures augmentent la mortalité due aux souches néphropathogènes : une diminution de température de 20 à 16°C augmente la mortalité de 8 à 50% et les lésions histopathologiques rénales sont plus sévères.

Les stress froids augmentent également la sévérité des lésions trachéales et provoquent plus d'aérosacculites lors d'infections mixtes avec *Mycoplasma synoviae*.

e) Infections intercurrentes

Plusieurs pathogènes respiratoires agissent en synergie avec le virus de la BI et augmentent la sévérité et la durée de la maladie. Dans de nombreux cas, l'intervalle entre les infections est important, tout comme les doses infectantes. Cependant, on ne sait pas si cette synergie est due à une immunosuppression transitoire ou simplement aux lésions de l'épithélium causées par un agent pathogène favorisant le développement des autres.

Adler *et al.* ont montré que l'inoculation intranasale de la souche Massachusetts ou de *Mycoplasma gallisepticum* n'engendre que peu de signes cliniques alors que l'infection combinée entraîne coryza, trachéite et aérosacculite. De même, chez les poules, une infection

de ponte et sur la qualité des oeufs que l'inoculation d'un seul des deux agents (36). De même, Cook *et al.* ont montré que l'infection combinée par le virus de la BI et *Mycoplasma synoviae* ou *Escherichia coli* entraîne une forte mortalité contrairement à une infection simple. Les lésions de l'épithélium trachéal causées par le virus de la BI favorisent l'invasion et la multiplication d'*E.coli* entraînant des lésions sévères ou la mort (36). Raggi *et al.* ont également montré que lorsque le virus de la bronchite infectieuse et *Haemophilus paragallinarum* sont administrés ensemble par voie intranasale, la période d'incubation est plus courte, la mortalité est plus élevée et les lésions plus sévères.

L'action immunosuppressive humorale du virus de la maladie de Gumboro favorise le développement du virus de la BI. Giambrone *et al.* ont montré que les titres sérologiques sont plus faibles et que les lésions des sacs aériens sont plus sévères chez des poulets infectés à un jour par le virus de la bursite infectieuse et à 14 jours par le virus de la bronchite infectieuse que chez des poulets infectés par le virus de la bronchite infectieuse seul.

Chapitre IV :

Bronchite infectieuse

VI. Pathogénie :**1. Signes cliniques :****a) Troubles respiratoires :**

Chez les jeunes oiseaux, des troubles respiratoires tels que gêne respiratoire, râles trachéaux, toux, halètement, jetage nasal et oculaire sont caractéristiques mais non pathognomoniques. Parfois, une conjonctivite marquée et des sinus gonflés peuvent être observés. Ces troubles sont associés à des signes généraux tels que fièvre, apathie, entassement des oiseaux près des sources de chaleur, diminution de la consommation d'eau et de nourriture. Le gain de poids est ainsi significativement diminué trois jours après l'infection.

Sans complications, ces signes persistent cinq à sept jours et disparaissent en dix à quatorze jours. La mortalité est alors généralement faible et attribuée à l'asphyxie par blocage des voies respiratoires par le mucus et les sécrétions.

Chez les oiseaux de plus de six semaines, les signes cliniques sont moins sévères et les exsudats presque absents. Seul un retard de croissance est observé.

b) Atteintes de l'appareil reproducteur**Poules pondeuses :**

Des chutes de ponte d'intensité (de quelques % à 50%) et de durée variables (de deux semaines à dix semaines), d'autant plus sévères que la période de ponte est avancée, sont caractéristiques d'un passage du virus de la BI. Si l'infection intervient avant le pic de ponte, la montée en ponte est arrêtée pendant environ une semaine puis reprend, avec cependant des oeufs de mauvaise qualité. Si l'infection a lieu peu de temps après le pic de ponte, les conséquences économiques sont beaucoup plus graves avec des chutes de ponte pouvant atteindre 50% durant cinq à six semaines sur des animaux non immunisés. La sévérité de la chute de ponte peut également varier selon la souche de virus impliquée. Le taux de ponte peut réaugmenter après deux à trois semaines mais reste dans la plupart des cas inférieur au niveau atteint avant l'infection. Une baisse marquée de la fertilité et de l'éclosabilité peut également être notée en élevage de reproducteurs. Plus tardivement, une baisse de la qualité de la coquille (amincissement, décoloration, déformation : coquille en virgule, aplatie ou cerclée..., rugosité) et de la qualité interne de l'oeuf (amincissement et liquéfaction de l'albumen..., effacement de la démarcation entre les albumens épais et fin, diminution en proportion de l'albumen épais et de l'albumen fin interne contre une augmentation de l'albumen fin externe, taches de sang dans le vitellus) peuvent être relevées. Certaines souches entraînent uniquement une décoloration de la coquille (22). De tels signes peuvent être accompagnés ou non de troubles respiratoires. En effet, le virus de la BI a été

isolé d'écouvillons cloacaux ou d'échantillons d'amygdales caecales issus d'élevages de pondeuses ou de reproducteurs présentant une légère baisse de production et produisant des oeufs à coquilles pâles, sans trouble respiratoire associé ou antérieur.

Enfin en élevage de pondeuses, la mortalité reste relativement faible.

Des différences de virulence entre les souches ont été montrées. La souche D274 est la moins virulente alors que les souches M41 et PL84084 ont un fort degré de pathogénicité (36). De nombreuses souches variantes entraînent seulement une faible chute de ponte mais une décoloration marquée de la coquille (22). Parsons *et al.* (56) ont cependant montré le contraire pour le variant 793B.

Chez les futures reproductrices ou futures pondeuses (de moins de 2 semaines d'âge), le passage de l'IBV bloque définitivement le développement anatomique de la grappe ovarienne, créant ainsi de « fausses pondeuses ».

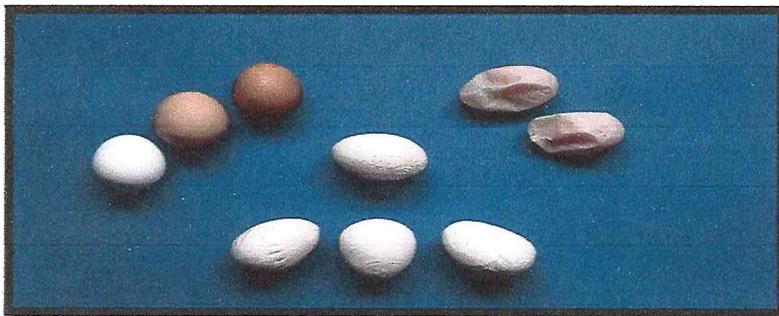


Figure 4 : une altération des œufs. (déformation de la coquille, minceur de la coquille, liquéfaction de l'albumen).(62)

Poulettes :

L'infection de poulettes avant deux semaines d'âge peut entraîner des lésions irréversibles sur l'appareil reproducteur en développement, à l'origine de « fausses pondeuses » qui ne pondront pas à maturité. Il s'agit de poules ayant des caractères sexuels secondaires normalement développés mais une impossibilité de pondre du fait de la perte de fonctionnalité de l'oviducte.

les poules de type chair (produisant des poulets de chair) sont plus sensibles que les souches de type ponte (produisant des oeufs de consommation).

En conclusion, le virus de la BI, même les sérotypes reconnus pour leur tropisme respiratoire primaire, se multiplie dans le tractus génital femelle. Les lésions sont d'autant plus sévères que les animaux sont jeunes et dépourvus de protection humorale d'origine maternelle (57).

c) Atteinte rénale :

Bien que certaines souches considérées comme affectant principalement l'appareil respiratoire, peuvent occasionnellement entraîner des lésions rénales, la néphropathogénicité a seulement été associée à certaines souches. Les souches du virus de la BI néphropathogènes entraînent initialement des symptômes respiratoires suivis par des signes d'atteintes rénales avec augmentation de la consommation d'eau et des fientes humides (en cause dans le syndrome litière humide). La mortalité suit un schéma constant : elle débute dans les six jours suivant l'infection, puis augmente pour atteindre un pic vers dix jours avec les derniers morts dans les seize jours après l'infection. Les jeunes poulets semblent plus sensibles aux effets néphropathogènes.

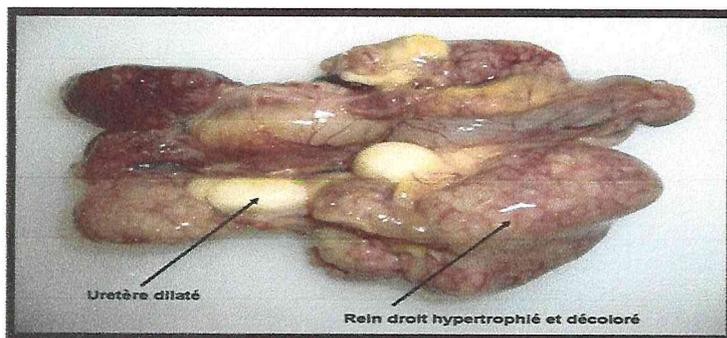


Figure 5 : Néphrite aiguë.(63)

Les lésions des cellules épithéliales tubulaires entraînent une insuffisance rénale aiguë. L'augmentation des pertes hydriques urinaires sont associées à une baisse de la densité urinaire et une augmentation des pertes urinaires en sodium, potassium et calcium. L'hématocrite est diminué et l'urémie augmente.

d) Atteinte digestive

Plusieurs souches du virus de la BI ont été isolées d'écouvillons cloacaux, des fèces et des amygdales caecales. S'il est avéré que le virus se multiplie dans l'intestin, il est rarement associé à des signes cliniques.

Le variant 793 B a été associé à des épisodes de diarrhée chez des poulets de chair.

En 1996, le variant chinois Qx a été associé à une atteinte du proventricule. Les poulets atteints présentaient, en plus de signes de détresse respiratoire, des fientes humides laiteuses.

e) Myopathie pectorale :

Le variant 793 B peut entraîner une myopathie pectorale bilatérale affectant les muscles pectoraux superficiels et profonds (40).

2. Lésions :

Aucune de ces lésions macroscopiques ou histologiques n'est pathognomonique.

1. Appareil respiratoire :

a) Lésions macroscopiques :

Dans les premiers jours post infection, les animaux présentent une légère inflammation de la muqueuse trachéale associée à une légère exsudation catarrhale et à une aérosacculite d'apparition plus tardive (à partir de onze jours post inoculation (7)). Les sacs aériens sont opalescents ou contiennent un exsudat jaunâtre caséux (36). Quelques foyers de pneumonies peuvent être observés, notamment s'il y a surinfection bactérienne.



Figure 6 : Trachéite nécrotico-hémorragique(63)

b) Lésions microscopiques :

Le virus de la BI se multiplie, au niveau de la trachée, dans les cellules épithéliales ciliées, dans les cellules mucipares, parfois dans les cellules sous épithéliales mais jamais dans les cellules basales (47).

Dans la trachée, les taux viraux les plus élevés sont atteints du cinquième au dixième jour après l'infection et on peut retrouver le virus occasionnellement jusqu'à vingt-huit jours (3, 36). Aucun virus n'a été retrouvé plus de quarante-neuf jours post infection (50). la nature des lésions est similaire quelque soit la souche du virus de la BI (étude menée avec cinq souches Qx-like, une M41 et une 793B) impliquée mais la sévérité et la persistance des lésions différent. Les lésions sont déjà développées quatre jours après l'infection.

L'évolution des lésions trachéales avec le temps peut être divisée en trois phases :

□ La phase dégénérative : dégénérescence généralisée, déciliation et desquamation des cellules épithéliales ciliées. Dégénérescence des cellules sécrétrices de mucus. Des cellules mononucléées infiltrent la lamina propria et dans les cas sévères, un exsudat inflammatoire, associé aux cellules épithéliales détachées et au mucus, obstrue la lumière trachéale.

□ **La phase hyperplasique** : l'infiltration lymphohistiocytaire de la lamina propria accompagnée d'une métaplasie épithéliale devient prédominante.

□ **La phase de réparation** : à la fin de cette phase, le processus inflammatoire a régressé et la couche épithéliale est entièrement réparée. l'épithélium muqueux est normal vingt et un jours après le début de l'infection.

Le virus entraîne un arrêt de l'activité ciliaire au niveau de la trachée : le test de ciliostase permet d'évaluer la sévérité de l'infection respiratoire et est utilisé pour comparer la pathogénicité de différentes souches.

Le virus se multiplie également dans les cellules épithéliales des poumons et des sacs aériens. Les titres viraux les plus élevés sont observés dans ces tissus entre quatre et onze jours post infection (36).

Des lésions microscopiques sont observées dans les bronches primaires et secondaires et dans l'interstitium. Ces lésions ne sont toutefois ni constantes ni spécifiques (7).

2. Appareil reproducteur

a) Lésions macroscopiques

Jeunes poulettes

Chez les jeunes femelles, les lésions peuvent aller d'un oviducte sous développé à un oviducte en cul de sac sans abouchement cloacal. Le deuxième tiers de l'oviducte est le plus touché. Caudalement à ces régions, des kystes remplis d'un fluide séreux peuvent se former (24, 25).

une dilatation de l'oviducte avec l'accumulation d'un fluide séreux. Ces modifications macroscopiques de l'oviducte deviennent évidentes à partir de quatorze jours après l'inoculation et sont plus fréquemment observées dans le groupe infecté avec le variant chinois. Les ovaires sont fonctionnels.

Poules pondeuses : Un matériel jaunâtre peut être observé dans la cavité abdominale (36).



Figure 7 : dilatation de l'oviducte.(62)

Les mâles : Aucune lésion macroscopique n'a été rapportée

b) Lésions microscopiques :

Jeunes poulettes :

Le deuxième tiers de l'oviducte est le plus sévèrement touché avec des zones d'hypoplasie localisées.

On observe une diminution de taille et une perte de la ciliature des cellules épithéliales, une dilatation des glandes tubulaires, une infiltration d'hétérophiles, de lymphocytes et de cellules plasmiques, un oedème et une fibroplasie de la lamina propria.

Poules pondeuses :

Des zones d'hypoplasie glandulaire entraînent une réduction de la synthèse des protéines de la partie épaisse de l'albumen, notamment l'ovomucine et le lysozyme (36).

On note aussi une réduction de taille des cellules épithéliales de l'oviducte et du nombre de cellules ciliées (souvent complètement absente), une dilatation des glandes et une infiltration cellulaire et lymphocytaire focale de la lamina propria et du stroma intertubulaire.

Le virus reste présent dans l'épithélium de l'oviducte entre six et neuf jours après l'infection (36, 46).

Les mâles :

Une infiltration lymphohistiocytaire est parfois observée dans l'interstitium des testicules ou de l'épididyme. L'antigène viral n'a pas été mis en évidence dans l'appareil reproducteur mâle. Aucune différence n'a été notée selon les souches.

3. Reins**a) Lésions macroscopiques**

Les lésions macroscopiques rénales sont observées à partir de onze jours après l'infection. Les reins atteints sont légèrement hypertrophiés, pâles et parfois des dépôts d'urates dans les tubules et les uretères sont observés.

b) lésions microscopiques :

Les lésions microscopiques apparaissent à partir de quatre jours post infection et touchent les tubules et les canaux. Un léger oedème interstitiel et une légère dilatation du tube collecteur sont initialement observés puis l'interstitium est infiltré par les lymphocytes et les histiocytes. La sévérité de l'inflammation varie de légère à sévère et l'étendue de ces lésions est focale à diffuse. Une infiltration sévère de la lamina propria de la muqueuse des canaux collecteurs et des uretères est observée. Quelques dégénérescences vacuolaires, nécroses et desquamation des cellules épithéliales sont observées dans la phase aiguë de la maladie (7, 36). Les altérations structurales des cellules épithéliales tubulaires entraînent une fuite d'eau et d'électrolytes à l'origine de l'insuffisance rénale aiguë (36).

L'antigène viral est détecté entre quatre jours et quatorze jours post infection (36). La réplication virale a été observée dans les tubes contournés, proximaux et distaux, et dans les tubes collecteurs (36).

Les types de lésions rénales produits par les différentes souches du virus de la BI néphropathogènes sont similaires mais leur sévérité varie. La souche australienne T induit les lésions les plus rapides et les plus sévères. A une moindre échelle la

4. Appareil digestif :

a) Lésions macroscopiques :

Les lésions macroscopiques de l'appareil digestif sont essentiellement des proventriculites.

b) Lésions microscopiques :

Une infiltration de cellules mononucléées est parfois observée et l'antigène viral a été mis en évidence sur des prélèvements issus de poulets infectés par les souches chinoise et hongroise Qx like (7).

5. Myopathie pectorale :

les muscles pectoraux superficiels et profonds sont pâles et suintant avec parfois des zones hémorragiques et un oedème en surface. Cette lésion n'est pas due directement à l'action du virus mais à une réaction d'hypersensibilité de type III par dépôts de complexes immuns sur l'endothélium des capillaires (36).



Figure 8 :muscles oedémateux(62)

3. Immunité :

A. Protéine de l'immunité du virus de la bronchite infectieuse :

La sous unité S1 de la glycoprotéine S induit les anticorps neutralisant et inhibant l'hémagglutination (36, 51) et est considérée comme étant le plus probable inducteur de protection (15, 36, 42). Cependant la sous unité S2 et la protéine N jouent également un rôle important puisqu'elles portent les épitopes induisant les anticorps de réactions croisées (36, 43). Le délai d'apparition des anticorps (détectés par ELISA) induits par S1, S2 et N est similaire et est de deux semaines suite à une vaccination à virus vivant (36, 43). Ce délai coïncide avec l'apparition des anticorps neutralisants (36, 53). Les épitopes des protéines S2 et N qui entraînent la formation des anticorps de réactions croisées ont le même degré de conservation alors que les épitopes portés par S1 se sont avérés être moins conservés (43).

B. Immunité innée :

L'immunité innée, présente à la naissance constitue la première ligne de défense contre les microorganismes. Elle se caractérise par une reconnaissance non spécifique de l'élément étranger, une réponse immédiate, sans adaptation au cours du temps ni mémoire. Elle est constituée de barrière physique (peau et muqueuses), de cellules (phagocytes, Natural Killer, mastocytes, granuloocytes) et de molécules (complément et cytokines).

Chez des poulets infectés par le virus de la BI, les hétérophiles sont les cellules inflammatoires les plus nombreuses et les plus précocement représentées dans les liquides de lavage respiratoire (38). En utilisant des poulets déléétés en hétérophiles, il a été démontré que ces cellules n'avaient aucune action sur la multiplication du virus et qu'au contraire elles étaient en grande partie responsables des lésions de l'épithélium trachéal.

Le rôle des macrophages lors d'infection par le virus de la BI est inconnu, et aucune modification dans l'activité des cellules Natural Killer n'a été mise en évidence. Le taux sérique d'une protéine de la phase aigue de l'inflammation, $\alpha 1$ acide glycoprotéine, présente un pic six jours suivant l'infection par le virus de la BI (55).

C. Immunité acquise :

L'immunité acquise, adaptative ou spécifique se caractérise par une reconnaissance spécifique de l'élément étranger, par une réponse tardive qui se manifeste quelques jours

après la pénétration de l'antigène et par le développement d'une mémoire immunitaire. Les réponses immunitaires ont deux propriétés fondamentales : spécificité et diversité. Les mécanismes effecteurs de l'immunité spécifique ne préexistent pas : ils s'acquièrent spécifiquement face à un agent pathogène donné, s'y adaptent et permettent souvent sa destruction. Le système immunitaire adaptatif se construit donc au cours de la vie de l'individu en fonction des micro-organismes rencontrés. Elle résulte en l'activation de mécanismes effecteurs antigène spécifique incluant les lymphocytes B (immunité humorale), les lymphocytes T (immunité cellulaire) ainsi qu'en la production de cellules mémoires.

1. Immunité humorale :

Les poulets développent une bonne réponse humorale contre l'infection par le virus de la BI, mesurée par les techniques d'inhibition de l'hémagglutination (IHA), ELISA et par neutralisation virale (31). Les immunoglobulines G (IgG) sont majoritaires et sont les anticorps détectés par les techniques IHA et ELISA. Elles apparaissent quatre jours après l'infection, atteignent leur taux maximal après vingt et un jours et peuvent rester à des taux sériques élevés pendant plusieurs semaines (36, 53). Les IgG sont les anticorps mesurés par les tests sérologiques pour évaluer l'infection ou la prise vaccinale.

Les immunoglobulines M (IgM), présentes transitoirement après une infection, atteignent un pic de concentration dans les huit jours suivant une infection par le virus de la BI puis leur taux décline (36).

Le rôle des lymphocytes B dans l'infection par le virus de la BI a été étudié par des expériences de déplétion utilisant le cyclophosphamide ou des poulets bursectomisés. Les poulets traités au cyclophosphamide présentent des signes cliniques exacerbés et des lésions rénales plus sévères à l'histopathologie attribuables à la persistance prolongée du virus. De même, le virus de la BI inoculé à des poulets de lignée résistante bursectomisés provoque des signes cliniques plus sévères et persistants mais pas de mortalité (21, 36).

Les anticorps spécifique du virus de la BI préviennent probablement la diffusion du virus par virémie de la trachée aux autres organes sensibles tels que les reins ou l'oviducte (36).

2. Immunité maternelle :

Les poussins naissent avec un taux d'IgG circulant proportionnel à celui de leurs mères. Il confère aux poussins une bonne protection mais de courte durée (3 à 4 semaines voire moins en cas d'infection) (27, 36). Ces anticorps d'origine maternelle ne semblent pas altérer

l'efficacité de la vaccination systématique à virus vivant atténué des poussins de un jour (23). Des IgG d'origine maternelle ont été isolées dans des lavages trachéaux (52).

Le taux d'anticorps sériques d'origine maternelle reste inchangé durant les deux premières semaines de vie alors que ceux du système respiratoire diminuent de 50% entre l'âge de un et sept jours. De plus une épreuve virulente, par inoculation intra oculaire, réalisée sur des poussins non vaccinés à un jour, montre que la protection diminue de 95% à un jour d'âge contre moins de 30% à sept jours d'âge. Mondal *et al.* (54) en ont conclu que les anticorps maternels localisés au niveau de l'appareil respiratoire, contrairement aux sériques, sont à l'origine de la protection.

3. Immunité locale :

La production locale d'IgA et la présence d'IgG issues du sérum, au niveau de la trachée, de l'oviducte, de la glande de Harder joue un rôle fondamental dans la protection contre le virus de la bronchite infectieuse (36). En effet, en plus d'une production locale d'anticorps au niveau des muqueuses (essentiellement IgA), les anticorps transsudent depuis le sérum au cours de l'infection

Chez les poulets, c'est au niveau de la glande de Harder que sont produites les IgA contenues dans les larmes. Elle joue un rôle important dans le développement de l'immunité vaccinale depuis l'administration des vaccins vivants par nébulisation et par voie intra oculaire

4. Immunité cellulaire :

Les études concernant le rôle de l'immunité cellulaire dans la protection contre le virus de la BI sont limitées. La prolifération de lymphocytes T spécifiques chez des poulets infectés ou vaccinés a été prouvée (69-61). L'immunité locale au niveau de la trachée est médiée par les lymphocytes T. Toutefois la proportion de lymphocytes CD8+ et CD4+ semble varier selon la souche de virus de la BI utilisée (36, 45). De récentes études ont montré que le transfert de cellules T effectrices, en particulier les cellules T CD8+ CD4- se liant aux récepteurs T $\alpha\beta$, prélevées sur des poulets dix jours après infection par le virus de la BI, contrôle une infection aigue chez des poulets naïfs (18)

L'immunité cellulaire joue donc un rôle non négligeable dans la protection contre ce virus.

Chapitre V :

Diagnostic et méthode de lutte

VII.Diagnostic :

A. Diagnostic clinique :

Les signes cliniques observés lors de BI ne sont pas pathognomoniques et ne permettent pas de poser un diagnostic. En effet, d'autres agents pathogènes aviaires tels que la maladie de Newcastle, la laryngotrachéite infectieuse ou les pneumovirus aviaires produisent des symptômes semblables. L'implication du virus de la BI doit donc être confirmée par des analyses de laboratoire.

Elles consistent soit à mettre en évidence le virus, soit à rechercher la présence d'anticorps.

B. Diagnostic de laboratoire :

1. Virologie :

a) Isolement viral :

L'isolement viral peut se faire sur oeufs embryonnés SPF ou sur cultures de cellules ou d'organes tels que la trachée. L'utilisation de cultures d'organes issus de tissus autres que le tractus respiratoire n'est pas recommandée à cause de leur sensibilité plus faible (29).

b) Détection des antigènes :

La détection des antigènes peut se faire soit après l'isolement viral soit directement sur les tissus prélevés. On utilise alors soit des anticorps dirigés contre différents épitopes (localisés essentiellement au niveau de la protéine S1), soit des anticorps monoclonaux. Cette dernière technique a l'avantage d'être spécifique pour les différents sérotypes testés .

Différentes techniques existent :

• Test de précipitation en milieu gélosé :

Il s'agit d'un test économique et rapide. Il bénéficie d'une bonne sensibilité lorsqu'il est réalisé directement sur les organes.

• Test d'immunofluorescence (IFA) :

Il est réalisé grâce à un microscope à ultraviolet et peut être spécifique de sérotype lorsqu'il est associé à l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Il s'agit d'un test relativement sensible (sensibilité de 70 à 80% comparée à l'isolement viral lors d'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de groupes) bien qu'il perde en sensibilité lors d'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de sérotypes. Il s'agit d'un test peu coûteux et rapide pour la détection du virus de la BI lors de symptômes respiratoires aigus (29, 33).

• Test d'immunopéroxydase (IPA) :

Après fixation et inclusion en paraffine de sections d'organes ou tissus, un anticorps spécifique anti virus de la BI se fixe sur l'antigène du prélèvement. Un autre anticorps permettra la révélation par l'action d'une peroxydase. L'IPA permet l'évaluation des cellules porteuses d'antigènes ainsi que de la morphologie globale des tissus. Il s'agit d'une technique plus longue que l'IFA et moins spécifique.

• **ELISA antigène :**

Les anticorps anti virus de la BI reconnaissent les antigènes, puis des anticorps couplés à une enzyme se fixent sur l'ensemble et déclenchent une réaction colorée. La sensibilité de cette réaction est faible lorsqu'elle est réalisée directement sur organe car elle nécessite une grande quantité d'antigène. En revanche ce test est performant pour détecter l'antigène dans du liquide allantoïdien d'oeufs inoculés.

c) Détection du génome :

(1) Techniques :

Les techniques utilisées pour la détection du génome ne distinguent pas les particules virales infectieuses des non infectieuses. La détection de l'ARN génomique se déroule en trois étapes.

La première étape consiste en l'extraction de l'ARN. L'étape de purification est extrêmement importante car les échantillons cliniques contiennent des inhibiteurs non spécifiques de la polymérase utilisée dans la PCR.

La seconde étape est la PCR temps réel qui est très sensible et permet l'amplification. On utilise des amorces communes à tous les virus de la BI (et autres Coronavirus).

On lui associe, dans un deuxième temps, une PCR nichée, avec des amorces spécifiques des génotypes (dirigées contre des régions variables de la protéine S1) appliquées sur le produit de la PCR temps réel.

Lorsque la PCR nichée est négative, on réalise une RT PCR avec des amorces dirigées contre des régions conservées du génome.

Une partie de la protéine S1 est séquencée (zones de tailles et de localisation variables selon les laboratoires) car elle porte la plupart des épitopes neutralisant dont les épitopes spécifiques de sérotypes qui sont généralement conformation dépendant (59). La séquence nucléotidique est transcrite afin d'obtenir la séquence en acides aminés.

Les caractéristiques d'hydrophobicité des acides aminés issus des mutations permettent d'identifier les changements de conformation dans la structure tertiaire des épitopes permettant d'extrapoler le comportement biologique du virus.

(2) Interprétation et relation entre génotype, sérotype et protectotype.

Les résultats du séquençage sont exprimés en pourcentage d'homologies par rapport aux séquences de souches connues et présentés en arbres phylogénétiques.

Un faible pourcentage de mutations au niveau de la protéine S1 peut aboutir à un nouveau sérotype si elles sont à l'origine d'un changement de conformation des épitopes spécifiques de sérotypes, alors qu'un plus grand pourcentage de mutations sur d'autres parties de la protéine S1 n'entraîne pas de changement d'antigénicité du virus. D'autre part des sérotypes et génotypes différents partagent des épitopes communs qui ont de l'importance dans l'immunité croisée et la réponse immunitaire cellulaire. La translation des données du séquençage (réalisé en général sur une partie du génome) vers les fonctions biologiques ou antigéniques du virus n'est pas sans risque. En effet, plus l'homologie de séquence de la protéine S1 de deux souches est faible, plus le risque d'avoir des mutations significatives au niveau des épitopes sérotypes spécifiques est important ce qui peut être à l'origine d'une diminution de protection croisée (49, 59). Toutefois ceci n'est pas la règle et certaines souches dont la protéine S1 ne diffère que de quelques pourcents peuvent ne présenter qu'une faible protection croisée. L'inverse est également possible.

Un autre frein à l'analyse de séquences est le manque de standardisation de la méthode avec des zones et des tailles de séquençage variable selon les laboratoires. Certains séquentent une partie de S1 qui inclut les deux régions hypervariables 1 et 2, d'autres non. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage d'homologies ne sont donc pas comparables selon les études.

d) Facteurs influençant la détection du virus :

• Temps écoulé entre l'infection et le prélèvement :

Nous avons vu que le virus pouvez persister environ dix jours dans le tractus respiratoire alors qu'il pouvait persister jusqu'à vingt semaines au niveau cloacal.

Par conséquent, lors d'infection récente (inférieure à dix jours), des écouvillons trachéaux peuvent être réalisés afin d'isoler le virus. Pour des infections anciennes (supérieures à dix jours), des écouvillons cloacaux pourraient être réalisés, cependant la probabilité d'isoler du virus vaccinal est très élevé notamment chez les animaux poly vaccinés(29).

• Degré d'immunité des oiseaux et persistance du virus sauvage :

La persistance du virus sauvage est plus faible chez des animaux vaccinés. Par conséquent, les prélèvements devront être réalisés rapidement après l'infection (moins de cinq jours) (29).

• **Détection du virus sauvage chez des animaux « poly vaccinés » :**

Les virus vaccinaux issus des vaccins à virus vivants persistent, comme les virus sauvages, au niveau cloacal. Par conséquent, chez les animaux poly vaccinés (poulettes, poules reproductrices et poules pondeuses), le risque de mettre en évidence du virus vaccinal est très important (29).

• **Nombres d'échantillons à réaliser :**

Dans la phase aigüe de l'infection chez des poulets non protégés, un grand nombre d'oiseaux produira de fortes quantités du virus de la BI dans la trachée. Cependant, dans le cas d'infections chroniques, ou d'animaux vaccinés, tels que les pondeuses ou les reproducteurs, une faible quantité de virus sera présente et chez peu d'individus. Une prévalence faible implique donc de répéter les prélèvements sur un nombre plus important d'individus. Multiplier les échantillons résulte en de plus grandes chances de détecter le virus mais augmente également le risque d'obtenir de faux positifs, lorsque la spécificité de la technique utilisée n'est pas de 100% (cas de quasiment tous les tests), et le coût de l'étude. La taille de l'échantillonnage peut être calculée par la formule de Cannon and Roe. Lorsque les oiseaux peuvent être prélevés lors de symptômes attribuables au Coronavirus de la BI, le nombre d'individus à prélever diminue (29).

• **Type d'organe à prélever :**

Lorsque des signes respiratoires aigus sont identifiés, l'appareil respiratoire sera préférentiellement prélevé. Le rein, les tonsilles caecales ou le cloaque seront prélevés lors d'infections chroniques ou d'infections sur des animaux vaccinés tels que les pondeuses ou les reproducteurs où de faibles quantités de virus sont attendues au niveau du tractus respiratoire (29). Toutefois, le risque de mettre en évidence du virus vaccinal est élevé.

• **Conservation des prélèvements :**

Les écouvillons ou les organes prélevés pour isolement viral doivent être réfrigérés à une température comprise entre 0 et 4°C le plus précocement possible afin de préserver la viabilité du virus. Si l'isolement viral est réalisé dans les 24 heures suivant le prélèvement, aucune

autre précaution de conservation ne doit être mise en oeuvre. Pour un stockage plus long, les échantillons doivent être congelés à une température inférieure à -20°C (29).

• **Souche de poulet:**

Les résultats de plusieurs études montrent que des considérations génétiques influencent la sensibilité de différentes souches de poulets au virus de la BI (29). L'expression clinique plus fruste des souches de poulets résistantes peut compliquer la détection d'un éventuel passage de BI et ainsi retarder le moment des prélèvements.

• **Logement des poulets :**

En principe la période durant laquelle le virus de la BI peut être détecté dans un lot de poulets peut être prolongée lorsque le virus circule au sein du lot. Il est par conséquent possible que le système de logement et la densité influence la circulation du virus au sein d'un lot (29).

• **Immunosuppression :**

Giambrone *et al.* (1977), Winterfield *et al.* (1978) et Pejkovski *et al.* (1979) ont montré qu'une infection par le virus de la bursite infectieuse à un âge précoce peut diminuer la réponse à la vaccination contre le virus de la bronchite infectieuse aviaire, entraînant une augmentation de la sensibilité au Coronavirus de la bronchite infectieuse. Comme le niveau d'immunité acquise influence la durée et la quantité de virus de la bronchite infectieuse qui peut être détectée après un challenge (58), l'immunosuppression causée par une infection précoce par le virus de la bursite infectieuse pourrait améliorer la détectabilité des infections au virus de la bronchite infectieuse (29). Cette hypothèse est supportée par l'étude de Cook *et al.* (1991) (21), qui ont démontré que la quantité de virus de la BI retrouvée après un challenge augmente quantitativement et durablement chez des poulets bursectomisés au stade embryonnaire.

C. Sérologie :

L'infection peut être détectée par l'apparition ou l'augmentation du taux d'anticorps spécifiques. En général, une cinétique est effectuée. Les premiers prélèvements étant réalisés à l'apparition des signes cliniques et les seconds quatre semaines plus tard.

1. Les techniques :

Deux tests spécifiques du virus de la BI mais non spécifiques de sérotypes, sont disponibles : la précipitation sur gel d'agarose et l'ELISA anticorps.

L'interprétation du test de précipitation sur gel d'agarose repose sur l'évaluation du pourcentage d'animaux réagissant, un pourcentage élevé en l'absence de vaccination dans les quatre semaines précédentes étant considéré révélateur d'une infection récente. Ce test est très spécifique mais sa sensibilité est faible (40%) du fait du manque de standardisation du test et du caractère très transitoire des anticorps précipitants.

L'ELISA anticorps permet de détecter les anticorps très précocement (dès la première semaine suivant l'infection ou la vaccination). Il est nécessaire de mettre en évidence une séroconversion. Une technique détectant les IgM est décrite et permet de ne faire qu'un seul prélèvement du fait du caractère très transitoire de ces anticorps. Ces tests non spécifiques Trois tests spécifiques de sérotypes existent : la Séroneutralisation (SN), l'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et l'ELISA spécifique de sérotypes.

Le test de séroneutralisation est la méthode de référence mais il est fastidieux, couteux et non réalisable en routine.

Le test d'inhibition de l'hémagglutination est plus rapide et moins couteux. Il est donc plus facilement utilisable en routine bien que sa spécificité soit moins bonne que la SN.

• **Test de séroneutralisation (SN) :**

Les épitopes à l'origine des anticorps neutralisant se trouvent principalement au niveau de la protéine S1. Lors de la réalisation de ce test, la méthode β (variation de la concentration en anticorps à dose virale constante) est préférable à la méthode α (variation de la dose virale à concentration d'anticorps constante) car la précision et la sensibilité obtenues sont meilleures (29).

Le test de séroneutralisation est le test de référence pour la détection des anticorps spécifiques de sérotype du virus de la BI.

La spécificité de ce test est très élevée lors d'infection unique au virus de la BI. L'apparition de réactions croisées est rapportée, notamment lors de multiples contacts avec différents sérotypes du virus de la BI, bien que de plus faibles réactions croisées puissent également apparaître suite à des inoculations répétées du même sérotype. Gelb et al. (1987) (39) ont montré que le test de séroneutralisation pour les sérotypes Ark, JMK, Florida and Massachusetts, réalisé sur cellules rénales embryonnaires, est fortement spécifique de sérotype après une inoculation à des poulets SPF de trois semaines. Après une inoculation répétée à l'âge de onze semaines, avec M41 ou Ark, quelques anticorps de réactions croisées, dirigés contre des sérotypes auxquels les poulets n'avaient jamais été exposés, ont été induits. Lorsque la seconde inoculation est réalisée avec une souche hétérologue, la production

d'anticorps est largement dirigée contre le sérotype utilisé pour la première inoculation. De plus, les poulets inoculés successivement avec des sérotypes hétérologues tendent à produire de plus hauts taux d'anticorps de réactions croisées dirigés contre des sérotypes avec lesquels ils n'ont jamais été en contact, comparé aux oiseaux ayant reçu des inoculations homologues. Le taux d'anticorps de réactions croisées est inférieur au taux correspondant aux anticorps spécifiques dirigés contre le type viral utilisé pour l'inoculation.

De Wit et al. (1997) (34) ont réalisé des épreuves virales avec quatre sérotypes européens chez des poulets vaccinés et non vaccinés. La séroneutralisation est 100% spécifique de sérotype suite à un challenge de poulets non vaccinés. Cependant, après une épreuve virulente à sérotype hétérologue sur des poulets vaccinés, des anticorps dirigés contre des sérotypes auxquels les oiseaux n'ont jamais été exposés, sont détectés.

• **Test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) :**

Les anticorps inhibant l'hémagglutination sont induits principalement par la sous unité S1 de la protéine S (42, 29). L'IHA commence à détecter les anticorps dès une à deux semaines après l'infection (34). En général, la corrélation entre le test de séroneutralisation et l'IHA est meilleure pour des titres sériques élevés. L'IHA est spécifique de sérotype lorsqu'elle est utilisée après une unique inoculation.

Bien que, dans ces conditions, la corrélation entre ces deux tests est élevée, la spécificité de l'IHA est considérée comme inférieure à celle de la séroneutralisation (34)

D'autre part, plusieurs auteurs rapportent que l'IHA est plus spécifique de souches que de sérotypes, ce qui a été notamment montré pour les souches M41 et H120 appartenant au même sérotype. En effet Brown et Bracewell (8) montrent qu'une inoculation avec une souche hollandaise (notamment H120) n'est que faiblement détectée par l'IHA utilisant M41 comme antigène alors qu'elle l'est bien par un test utilisant l'antigène hollandais.

De la même manière, l'IHA utilisant M41 comme antigène n'est pas capable de détecter une vaccination H120 (34, 29) bien que De Witt (1997) ait démontré le contraire (30). Ceci montre que le choix de la souche virale utilisée pour produire l'antigène est important, tant pour la sensibilité du test que pour l'analyse des résultats.

La spécificité sérotypique de l'IHA est diminuée lors de ré-infection, notamment lorsque le sérotype est hétérologue (29). Des inoculations successives du virus la BI peuvent induire des anticorps qui réagissent lors de l'IHA avec des sérotypes auxquels les poulets n'ont jamais été en contact.

L'interprétation de ces tests est délicate sur les animaux à durée de vie longue ayant reçu de nombreuses vaccinations du fait des réactions croisées.

Afin de rendre possible l'interprétation des tests IHA, une séroconversion doit être réalisée. Une séroconversion correspond à une augmentation significative et d'au moins 2 log₂ de la réciproque de la plus haute dilution sérique montrant une inhibition de l'hémagglutination. Les séroconversions sont détectées entre 7 et 14 jours post infection chez les non vaccinés et 14 et 18 jours post infection chez les vaccinés (H120 à 0 jours). Pour certains sérotypes, tel que D1466, la séroconversion n'est toujours pas détectée 21 jours post infection bien que les anticorps homologues continuent d'augmenter. L'augmentation moyenne des titres IHA de 0 à 21 jours post infection sont de 2,7 log₂ chez les vaccinés et de 5,4 log₂ chez les non vaccinés (34). D'autre part, les titres moyens pour l'IHA M41, chez des poulets vaccinés H120 à 1 jour d'âge et non challengés sont compris entre 3,5 et 5,3 log₂ entre 28 et 49 jours d'âge (34).

La sensibilité et la spécificité du test IHA pour chaque souche testée varient avec la valeur seuil choisie. Pour un diagnostic spécifique de sérotype, une valeur seuil de 7 log₂ est conseillée pour éliminer l'effet des réactions croisées. La sensibilité et la spécificité varient également si les oiseaux sont vaccinés ou non vaccinés (34). Dans cette étude, la sensibilité de chaque test IHA spécifique de sérotype correspond au pourcentage de positifs entre 7 et 21 jours après une infection à virus de la BI homologue. La spécificité de chaque test IHA a été calculée comme le pourcentage de négatifs chez les poulets challengés par un virus de la BI hétérologue. Par exemple, la spécificité du test IHA M41 a été déterminée en calculant le pourcentage de négatifs après un challenge D274, D1466, et D8880 (34).

ELISA spécifique de sérotype :

Une ELISA sérotype-spécifique utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des régions de la protéine S1 spécifiques de souches a été développée. Cependant la valeur seuil de l'analyse n'est pas décrite et aucune étude sur les réactions croisées après infection par des souches hétérologues n'a été effectuée.

2. Délai de détection de la séroconversion :

La séroconversion peut être détectée plus ou moins précocement selon la méthode employée.

Suite à un challenge, on peut voir apparaître la réponse immunitaire :

- Dès 6 jours pour 5 animaux sur 6 pour l'ELISA recherchant les IgG.
- A partir de 9 jours par l'IHA, avec un pic entre 14 et 17 jours post infection

□ Entre 9 et 21 jours après l'infection avec un pic à 35 jours par la SN (53)

Ce syndrome est décrit depuis longtemps : dès 1956 Broadfoot *et al.* montrent l'influence de l'âge à l'inoculation sur l'incidence des fausses ponteuses. Crinion & Hofstad en 1972 comparent la pathogénicité de différentes souches selon l'âge des poussins à l'inoculation et montrent l'effet sur le tractus génitale de souches initialement connues pour leur tropisme.

3. Facteurs influençant la détection des anticorps :

• Age lors de l'infection ou de la vaccination :

Le degré de réponse immunitaire humorale suite à une infection ou à une vaccination peut être diminué chez des animaux très jeunes non encore immunocompétents. (43)

• Présence d'anticorps d'origine maternelle (AOM) au moment de l'infection ou de la vaccination

La présence d'AOM lors de la vaccination ou de l'infection peut retarder ou diminuer la réponse sérologique.

• Diminution de la réponse humorale chez les animaux vaccinés :

L'immunité issue des vaccinations ou infections précédentes influence le degré de la réponse humorale à une vaccination ou une infection. Par conséquent, la sensibilité des tests sérologiques peut être beaucoup plus faible chez les animaux vaccinés que chez les non vaccinés. L'augmentation moyenne des titres de neutralisation virale et d'inhibition de l'hémagglutination sur une période de 0 à 21 jours après un challenge avec un virus homologue étaient de 3 versus 5 log₂ chez les vaccinés et les non vaccinés respectivement. D'autre part, le délai entre le challenge et la séroconversion détectée par IHA était augmenté chez les animaux vaccinés : de 7 à 14 jours chez les non vaccinés contre 14 à au moins 21 jours chez les animaux vaccinés (29, 34).

• Réactions croisées entre les sérotypes :

Les réactions croisées ont lieu chez des animaux ayant été en contact avec plusieurs souches différentes (par la vaccination ou l'infection par des souches sauvages). Il s'agit essentiellement d'animaux à durée de vie longue (poules pondeuses et reproducteurs) bien que le problème se pose également chez les poulets de chair étant donné le rappel de vaccination à vaccin vivant hétérologue vers l'âge de 14 jours de plus en plus fréquent. En effet, un animal infecté par un sérotype donné va produire des anticorps dirigés contre les

épitopes spécifiques de ce sérotype mais également des anticorps non spécifiques dirigés contre des épitopes communs à différents sérotypes (29). Pour une interprétation correcte des résultats sérologiques, ces réactions croisées hétérologues doivent être différenciées de la réponse homologue. Quand les réactions croisées sont importantes, ce qui est observé chez les animaux à durée de vie longue, vaccinés et probablement infectés plusieurs fois par différents sérotypes, l'interprétation des résultats sérologiques peut être très difficile voir même impossible (29). De plus, un sérotype particulier ne pourra être identifié que s'il est inclut dans les sérotypes testés sinon, le résultat de plus forte réaction croisée pourrait être interprété, et ce de manière erronée, comme positif.

D. Objectifs et stratégies diagnostiques :

Selon les objectifs de l'étude, les stratégies diagnostiques et les tests employés seront différents.

La détection des infections au virus de la BI peuvent être réalisée pour :

- Corréler des signes cliniques avec une infection aigue au virus de la BI. Il s'agira alors de détecter les antigènes ou le virus (par PCR par exemple) ou encore d'identifier une séroconversion.
- Surveiller les infections au virus de la BI, qui peuvent être sub cliniques ou anciennes. Il faudra alors rechercher les anticorps induits par l'infection.
- Evaluer la vaccination malgré la présence des anticorps maternels.

De nombreuses stratégies sont disponibles pour corréler un épisode clinique à une infection aigue au virus de la BI, telle que l'immunofluorescence ou l'isolation virale, la détection des IgM, le test de précipitation sur gel d'agarose ou encore l'étude d'une séroconversion par les tests ELISA, IHA ou de séroneutralisation.

En revanche, une réelle étude de prévalence nécessite de mettre en évidence non seulement les infections cliniques mais également les sub cliniques, qui pourront éventuellement, lors du lot suivant, causées des signes cliniques. Pour surveiller ces infections (sub cliniques), le test ELISA conventionnel, l'IHA ou la séroneutralisation peuvent être utilisés. La séroneutralisation est cependant un test fastidieux et cher. Il est recommandé d'utiliser le test IHA combiné à un ELISA conventionnel, cette dernière étant utilisée comme test de dépistage préalable. Cependant, les infections tardives seront souvent manquées à cause du faible délai entre l'infection et l'abattage, notamment dans les élevages de poulets de chair standards. Le sérotypage des infections dans les dernières semaines avant l'abattage sera rendu difficile

notamment chez les poulets vaccinés à cause des réactions croisées et de la faible réponse sérologique.

VIII. Méthode de lutte :

Les conséquences économiques de cette maladie sont très importantes. Une atteinte respiratoire débilante entraînant une chute de consommation et donc un faible gain de poids sont observées. On note également une augmentation des saisies à l'abattoir (de 8% suite à un passage de BI contre moins de 1% pour les lots où la maladie est maîtrisée). Enfin, une mortalité importante est rapportée lors de néphrites (de 10 à 25%).

En ponte, la perte principale réside en la non réalisation du plein potentiel de ponte due aux fausses pondeuses, à la chute de production durant l'infection (variant de 3 à 50%) et à la production sous optimale après guérison. D'autres pertes s'ajoutent telles que le déclassement des oeufs ou une chute de la fertilité en élevage de reproducteur.

Mc Martin estime qu'un passage de BI, dans un lot de poulets de chair avec les meilleures pratiques possibles, réduit les revenus de 3% par rapport à un lot hypothétique sain.

A. Traitement:

Aucun traitement spécifique n'existe. Le but du traitement étant de limiter au maximum les facteurs aggravants, il faudra éviter les stress froids en augmentant la température au sein du bâtiment, en veillant à une bonne répartition de la chaleur, tout en conservant une ventilation suffisante. Il faudra veiller au maintien de la consommation d'eau et d'aliments. Des électrolytes pourront être ajoutés à l'eau de boisson afin de compenser les pertes en sodium et potassium dues aux néphrites. On conseille une concentration de 72mEq de sodium et potassium avec au moins le tiers sous forme de sel de citrate ou de bicarbonate.

Un traitement antibiotique adapté peut être indiqué pour réduire les pertes dues aux aérosacculites lors d'infections bactériennes secondaires (17).

B. Prophylaxie :

1. Prophylaxie sanitaire :

a) Active :

Etant donné, la haute contagiosité du virus de la BI, l'éradication est impossible. Seules les strictes mesures de quarantaines, comme celles utilisées pour maintenir les volailles SPF, et qui ne sont pas justifiées commercialement dans les élevages industriels, sont en mesure d'exclure le virus. Dans les conditions normales de conduite des lots en « tout plein/ tout vide », le lavage, la désinfection du bâtiment et du matériel, le vide sanitaire entre les lots, les bonnes pratiques de l'éleveur et le repeuplement avec des poussins d'un jour peuvent limiter

la pression virale. Toutefois, l'arrivée des vaccins recombinants, qui pourraient remplacer les vaccins vivants, pourraient réduire le taux de virus infectieux dans l'environnement.

b) Passive :

Il faut éviter les conduites d'élevage à risque, c'est à dire une forte densité d'animaux, le mélange d'animaux d'âges différents au sein d'une bande ou d'un élevage.

Ces mesures sont toutefois insuffisantes, le seul moyen de contrôler la BI est donc la vaccination.

2. Prophylaxie médicale :

Les points suivant sont caractéristiques de la vaccination contre la BI :

- L'immunité vaccinale n'est pas de longue durée et les rappels sont nécessaires
- Le choix d'un type antigénique adapté à la situation épidémiologique régionale est essentiel, étant donné l'existence d'une large variation antigénique
- La notion de protectotype et de protection hétérologue : protection totale ou partielle à l'égard d'un sérotype différent de celui ayant permis l'immunisation.
- Les programmes et les méthodes de vaccination peuvent varier selon les troupeaux et peuvent nécessiter un ajustement selon les expériences de terrain.

a)types de vaccins :

Des vaccins vivants et inactivés sont utilisés. Les vaccins vivants sont utilisés chez les poulets de chair et en primovaccination chez les reproducteurs et les pondeuses. Les vaccins inactivés sont principalement utilisés avant l'entrée en ponte chez les reproducteurs et les pondeuses.

Les vaccins vivants sont préparés à partir de souches atténuées par passages successifs sur oeufs embryonnés. Le nombre de passage ne doit pas être trop élevé pour éviter une perte d'immunogénicité. Il a été montré que la virulence de certains vaccins peut réaugmenter après passage sur les poulets. C'est pourquoi, le protocole et la méthode de vaccination en élevage doivent être maîtrisés par l'éleveur afin que l'ensemble des poulets du lot reçoive le vaccin. Le cas échéant, les poulets non vaccinés, pourront être infectés par le virus vaccinal ayant réacquit certains facteurs de virulence par passage sur les poulets vaccinés.

Les souches vaccinales sont sélectionnées de manière à couvrir au mieux le spectre antigénique d'un pays ou d'une région et les vaccins de sérotype Massachusetts, H120 et autres sont les plus couramment utilisés étant donné la distribution mondiale de ce sérotype. Par conséquent si un virus de ce type est isolé sur un lot présentant des signes respiratoires et vacciné par ce sérotype, il est possible que le virus vaccinal ait été isolé et qu'un autre sérotype soit responsable des signes cliniques. Cependant, il est également possible que la

virulence du virus vaccinal ait augmenté et qu'il soit à l'origine d'une rupture d'immunité vaccinale.

Des sérotypes variants peuvent être inclus dans les programmes de vaccination, lorsque la prévalence de ces nouveaux sérotypes est établie. En Europe, les souches D274, D1466, 4/91(793B), et dernièrement Qx sont utilisées. Les différentes souches vaccinales présentes en France sont : Mass (H120, Ma5, MM, B48, 82828, H52), PL84, CR88 (alias 793/B et 4/91), D274, D14

b) Méthodes d'application et programmes vaccinaux :

Les vaccins contre le virus de la BI peuvent être utilisés avec le vaccin contre la maladie de Newcastle (NDV). S'il a été démontré qu'une trop forte proportion du virus de la BI pouvait interférer avec la réponse immunitaire au NDV, le contraire n'a jamais été rapporté (17).

Les vaccins vivants contre les virus à tropisme respiratoire, tel que le virus de la BI, sont principalement administrés par nébulisation, permettant une stimulation à la fois de l'immunité locale et générale. La vaccination in ovo au couvoir, réalisée pour la maladie de Marek notamment, n'est pas encore pratiquée pour le virus de la BI.

Les vaccins inactivés sont administrés par injection sous cutanée ou intra musculaire.

Une injection unique d'un vaccin à virus inactivé conduit à la protection de moins de 50 % des poulets vaccinés. Deux injections entraînent la protection de 90 à 100 % des poulets dans certaines études mais reste inférieure à 50 % dans d'autres. C'est pourquoi en pratique, les vaccins inactivés sont utilisés chez les poules pondeuses ou les reproducteurs qui ont antérieurement reçu deux ou trois vaccinations à virus vivant atténué. Ceci permet d'augmenter la protection des poules pondeuses contre les chutes de ponte et permet de Maintenir un niveau élevé d'anticorps sériques qui seront transmis à la progéniture.

En France, les poulets de chair sont très généralement vaccinés avec un vaccin vivant type Mass au couvoir par nébulisation. La protection croisée étant faible, un rappel avec un vaccin variant vers l'âge de 14 jours est couramment réalisé, notamment en production Label où la protection conférée par le vaccin réalisé au couvoir est trop courte (environ huit à neuf semaines) (11). Le rappel avec un vaccin à virus variant permet d'élargir le spectre de protection.

Si lot à risque, vaccination à virus vivant atténué.

Ces différents protocoles sont adaptés selon les situations épidémiologiques régionales. Il confère une protection contre les principales souches circulant le rappel hétérologue réalisé en poulet de chair à l'âge de 15 jours permet d'élargir le spectre de protection.

3. Effets indésirables :

Chez les jeunes non pré immunisés (anticorps maternels en faible quantité), des réactions vaccinales sont possibles (légers signes respiratoires).

D'autre part, lorsque la méthode d'application du vaccin n'est pas complètement maîtrisée notamment lors d'application par nébulisation, certains poussins peuvent ne pas recevoir le vaccin. En effet, lors de vaccination hétérogène, des infections roulanges peuvent entraîner le passage du virus vaccinal multiplié et excrété par les animaux correctement vaccinés vers les animaux non immunisés. Le passage sur l'espèce cible peut faire réacquérir certains caractères pathogènes résiduels pouvant être à l'origine de signes cliniques.

CONCLUSION :

La pression croissante de variants émergents de bronchite infectieuse aviaire constitue une problématique d'actualité pour les vétérinaires avicoles, et leur gestion implique appui médical et rigueur sanitaire. L'émergence fréquente de nouveaux variants infectieux de bronchite aviaire dans le monde, le plus souvent détectée par l'échappement à la vaccination des oiseaux d'élevage, constitue une des actualités courantes de la médecine vétérinaire avicole. La gestion pratique et la prévention des cas de bronchite aviaire passent largement par l'emploi de la vaccination au moyen de souches vaccinales issues de variants viraux. La bronchite infectieuse aviaire, à répartition mondiale, est ainsi en constante évolution, via l'apparition régulière de variants viraux, et l'adaptation des protocoles vaccinaux des oiseaux d'élevage est alors une problématique récurrente pour les vétérinaires praticiens, notamment, des émergences de la bronchite infectieuse apparaissent régulièrement à travers le monde, même parmi des troupeaux vaccinés, Il n'existe pas de protection croisée entre les sérotypes, Certains ont un tropisme autre que respiratoire : génital ou rénal, La grande variété des sérotypes et de la virulence des souches, associée à une contagiosité élevée expliquent la persistance de la maladie.

L'étude réalisée ici a permis non seulement de clarifier les pouvoirs pathogènes stricts de ces nouveaux variants infectieux, mais aussi de clarifier des solutions de prévention, *via* la vaccination. Toutefois, la réelle répercussion clinique de ces variants infectieux de bronchite étant largement dépendante des conditions d'élevage des oiseaux (densité d'élevage, humidité, poussière...), la gestion technique et sanitaire (biosécurité) des élevages à risques demeure fondamentale.

Conclusion

Références bibliographique

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

1. Sauphie, Michèle GIBAUD these fin d'étude ENV, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION NANTES ATLANTIQUE - ONIRIS
2. Alexander, D. J., et R. E. Gough. 1978. A long-term study of the pathogenesis of infection of fowls with three strains of avian infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci* 24:228-233.
3. Ambali, A. G., et R. C. Jones. 1990. Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis virus. *Avian Dis* 34:809-817.
4. Bacon, L. D., D. B. Hunter, H. M. Zhang, K. Brand, et R. Etches. 2004. Retrospective evidence that the MHC (B haplotype) of chickens influences genetic resistance to attenuated infectious bronchitis vaccine strains in chickens. *Avian Pathol* 33:605-609.
5. Beato, M. S., C. De Battisti, C. Terregino, A. Drago, I. Capua, et G. Orтали. 2005. Evidence of circulation of a Chinese strain of infectious bronchitis virus (QXIBV) in Italy. *Vet. Rec* 156:720.
6. BALESTEROS M.L., SANCHEZ C.M., ENJUANES L.
Two amino acid changes at the N-terminus of transmissible gastroenteritis coronavirus spike protein result in the loss of enteric tropism
Virology, 1997, 227:378-388
7. Benyeda, Z., L. Szeredi, T. Mató, T. Süveges, G. Balka, Z. Abonyi-Tóth, M. Rusvai, et V. Palya. 2010. Comparative histopathology and immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and 793/B serotypes of infectious bronchitis virus infection in chickens. *J. Comp. Pathol* 143:276-283.
8. Brown, A. J., et C. D. Bracewell. 1988. Effect of repeated infections of chickens with infectious bronchitis viruses on the specificity of their antibody responses. *Vet. Rec* 122:207-208.
9. CAVANAGH D., NAQI S.A. Infectious bronchitis In : CALNEK B.W., BARNES H. J., BEARD C. W., *et al.* Diseases of poultry, Tenth edition, 1997, 511-526
10. Cavanagh, D. 2007. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet. Res* 38:281-297.
11. Cavanagh, D. 2003. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathol* 32:567-582.
12. Cavanagh, D., J. H. Darbyshire, P. Davis, et R. W. Peters. 1984. Induction of humoral neutralising and haemagglutination-inhibiting antibody by the spike protein of avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* 13:573-583.
13. Cavanagh, D., P. J. Davis, et J. K. Cook. 1992. Infectious bronchitis virus: evidence for recombination within the Massachusetts serotype. *Avian Pathol* 21:401-408. 134
14. Cavanagh, D., P. J. Davis, J. K. Cook, D. Li, A. Kant, et G. Koch. 1992. Location of the amino acid differences in the S1 spike glycoprotein subunit of closely related serotypes of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* 21:33-43
15. Cavanagh, D., P. J. Davis, J. H. Darbyshire, et R. Peters. 1986. Coronavirus IBV: virus retaining spike glycopolyptide S2 but not S1 is unable to induce virus-neutralizing or haemagglutination-inhibiting antibody, or induce chicken tracheal protection. *Journal of General Virology* 67:1435-1442.
16. Cavanagh, D., et J. Gelb. 2008. Infectious bronchitis. *In* Diseases of poultry, 12e éd. p. 117-135
17. Cavanagh, D., et S. Naqi. 2003. Infectious bronchitis. *Diseases of poultry*, 11e éd.
18. Collisson, E. W., J. Pei, J. Dzielawa, et S. H. Seo. 2000. Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry. *Dev. Comp. Immunol* 24:187-200.

Références bibliographiques

19. **Cook, J. K.** 1968. Duration of experimental infectious bronchitis in chickens. *Res. Vet. Sci* 9:506-514.
20. **Venned,Silima(1992)** bronchite infectieuse(125-128)In:Manuel de pathologieaviaire maison ,ALFORD, france,ENV.
21. **Cook, J. K., T. Davison, M. Huggins, et P. McLaughlan.** 1991. Effect of in ovo bursectomy on the course of an infectious bronchitis virus infection in line C White Leghorn chickens. *Archives of Virology* 118:225-234.
22. **Cook, J. K., et M. B. Huggins.** 1986. Newly isolated serotypes of infectious bronchitis virus: their role in disease. *Avian Pathol* 15:129-138.
23. **Cook, J. K., M. B. Huggins, et M. M. Ellis.** 1991. Use of an infectious bronchitis virus and *Escherichia coli* model infection to assess the ability to vaccinate successfully against infectious bronchitis in the presence of maternally-derived immunity. *Avian Pathol* 20:619-626.
24. **Crinion, R. A., R. A. Ball, et M. S. Hofstad.** 1971. Abnormalities in laying chickens following exposure to infectious bronchitis virus at one day old. *Avian Dis* 15:42-48.
25. **Crinion, R. A., R. A. Ball, et M. S. Hofstad.** 1971. Pathogenesis of oviduct lesions in immature chickens following exposure to infectious bronchitis virus at one day old. *Avian Dis* 15:32-41.
26. **Y.MILLEMAN(2006)** pathologie respiratoire aviaire,ENV d'alfort,services vétérinaire ,2004.
27. **Darbyshire, J. H., et R. Peters.** 1985. Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus. *Research in Veterinary Science* 38:14-21. 135
28. **LUKERT P.D.**
Comparative sensitivities of embryonnating chicken's eggs and primary chicken embryo kidney and liver cell cultures to infectious bronchitis virus
29. **De Wit, J. J.** 2000. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* 29:71-93.
30. **De Wit, J. J.** 1997. Infectious bronchitis virus infections in broilers. Detection and a transmission model. Université d'Utrecht, Faculté de médecine vétérinaire, Utrecht.
31. **De Wit, J. J., F. Davelaar, et W. Braunius.** 1992. Comparison of the enzyme linked immunosorbent assay, the haemagglutination inhibition test and the agar gel precipitation test for the detection of antibodies against infectious bronchitis and Newcastle disease in commercial broilers. *Avian Pathology* 21:651-658.
32. **De Wit, J. J., M. C. de Jong, A. Pijpers, et J. H. Verheijden.** 1998. Transmission of infectious bronchitis virus within vaccinated and unvaccinated groups of chickens. *Avian Pathol* 27:464-471.
33. **De Wit, J. J., G. Koch, A. Kant, et D. J. Van Roozelaar.** 1995. Detection by immunofluorescent assay of serotype-specific and group-specific antigens of infectious bronchitis virus in tracheas of broilers with respiratory problems. *Avian Pathol* 24:465-474.
34. **De Wit, J. J., D. R. Mekkes, B. Kouwenhoven, et J. H. Verheijden.** 1997. Sensitivity and specificity of serological tests for infectious bronchitis virus antibodies in broilers. *Avian Pathol* 26:105-118.
- 35 **De Wit, J. J., D. R. Mekkes, B. Kouwenhoven, et J. H. Verheijden.** 1997. Sensitivity and specificity of serological tests for infectious bronchitis virus antibodies in broilers. *Avian Pathol* 26:105-118.
36. **Dhinakar Raj, G., et R. C. Jones.** 1997. Infectious bronchitis virus : immunopathogenesis of infection in the chicken. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A* 26:677-706.

Références bibliographiques

37. Enjuanes, L., I. Sola, F. Almazan, J. Ortego, A. Izeta, J. M. Gonzalez, S. Alonso, J. M. Sanchez, D. Escors, E. Calvo, C. Riquelme, et C. Sanchez. 2001. Coronavirus derived expression systems. *J. Biotechnol* **88**:183-204.
38. HAIJEMA B.J., VOLDERS H., ROTTIER P.J.M.
Switching species tropism: an effective way to manipulate the feline coronavirus genome *J. Virol.*, 2003, 77:4528-4538
39. HAIJEMA B.J., VOLDERS H., ROTTIER P.J.M.
Switching species tropism: an effective way to manipulate the feline coronavirus genome *J. Virol.*, 2003, 77:4528-4538
40. Gough, R. E., C. J. Randall, M. Dagless, D. J. Alexander, W. J. Cox, et D. Pearson. 1992. A « new » strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Vet. Rec* **130**:493-494.
41. Ignjatovic, J., et L. Galli. 1993. Structural proteins of avian infectious bronchitis 136 virus: role in immunity and protection. *Adv. Exp. Med. Biol* **342**:449-453
42. Ignjatovic, J., et L. Galli. 1994. The S1 glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens. *Arch. Virol* **138**:117-134.
43. Ignjatovic, J., et U. Galli. 1995. Immune responses to structural proteins of avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* **24**:313-332.
44. Ignjatović, J., et S. Sapats. 2000. Avian infectious bronchitis virus. *Rev. - Off. Int. Epizoot* **19**:493-508.
45. Janse, E. M., D. van Roozelaar, et G. Koch. 1994. Leukocyte subpopulations in kidney and trachea of chickens infected with infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* **23**:513-523.
46. Jones, R. C., et F. T. Jordan. 1972. Persistence of virus in the tissues and development of the oviduct in the fowl following infection at day old with infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci* **13**:52-60.
47. Karnik, G. T. Y. 2005. Génotypes du virus de la bronchite infectieuse et du pneumovirus chez les volailles en Europe. Ecole nationale vétérinaire de Nantes, Nantes.
48. Kusters, J. G., E. J. Jager, H. G. Niesters, et B. A. van der Zeijst. 1990. Sequence evidence for RNA recombination in field isolates of avian coronavirus infectious bronchitis virus. *Vaccine* **8**:605-608.
49. Ladman, B. S., A. B. Loupos, et J. Gelb Jr. 2006. Infectious bronchitis virus S1 gene sequence comparison is a better predictor of challenge of immunity in chickens than serotyping by virus neutralization. *Avian Pathol* **35**:127-133.
50. Mc Martin, D. A. 1993. Infectious bronchitis Virus infection of vertebrate : virus infection of birds.
51. Mockett, A. P., D. Cavanagh, et T. D. Brown. 1984. Monoclonal antibodies to the S1 spike and membrane proteins of avian infectious bronchitis coronavirus strain Massachusetts M41. *J. Gen. Virol* **65** (Pt 12):2281-2286.
52. WINTER C., SCHEGMANN-WESSELS C., CAVANAGH D., NEUMAN U., HERRLER G. Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian infectious bronchitis virus
J. Gen. Virol., 2006, 87:1209-1216
53. Mockett, A. P., et J. H. Darbyshire. 1981. Comparative studies with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol* **10**:1-10.
54. Mondal, S. P., et S. A. Naqi. 2001. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. *Vet. Immunol. Immunopathol* **79**:31-40.

Références bibliographiques

55. Nakamura, K., K. Imai, et N. Tanimura. 1996. Comparison of the effect of 137 infectious bronchitis and infectious laryngotracheitis on the chicken respiratory tract. *Journal of Comparative Pathology* 114:11-21
56. Parsons, D., M. M. Ellis, D. Cavanagh, et J. K. Cook. 1992. Characterisation of an infectious bronchitis virus isolated from vaccinated broiler breeder flocks. *Vet. Rec* 131:408-411.
57. Robineau, M. P. 2009. Une manifestation clinique de la bronchite infectieuse : les poules fausses pondeuses; évolution en France des Coronavirus responsables. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
58. Rosenberger, J. K., et J. Gelb Jr. 1978. Response to several avian respiratory viruses as affected by infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 22:95-105.
59. Sjaak de Wit, J. J., J. K. A. Cook, et H. M. J. F. van der Heijden. 2011. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathol* 40:223-235.
60. Timms, L. M., et C. D. Bracewell. 1983. Cell mediated and humoral immune response of chickens to inactivated oil-emulsion infectious bronchitis vaccine. *Res. Vet. Sci* 34:224-230.
61. Timms, L. M., C. D. Bracewell, et D. J. Alexander. 1980. Cell mediated and humoral immune response in chickens infected with avian infectious bronchitis. *Br. Vet. J* 136:349-346.
62. Biolab 12 Fev 2013, intervét "bronchite infectieuse" schering-plough animal health
63. ENVT ,Clinique des élevages avicoles et porcins ,ENV toulouse Jean-Luc Guérin, Cyril Boissieu Mise à jour : 30.06.08