



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme
MASTER

Thème

Etude sérologique sur la bronchite infectieuse aviaire

Présenté par
Bousbaci Fatma

Devant le jury :

Président(e) :	AKLOUL, K	MCB	ISV-BLIDA
Examineur :	FEKNOUS, N	MCB	ISV-BLIDA
Promoteur :	SALHI, O	MCA	ISV-BLIDA

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Je ne saurais commencer ma rédaction sans toutefois remercier ALLAH de m'avoir donné santé, courage et patience durant toute la durée de mon cursus.

Je remercie chaleureusement mon promoteur Dr Salfi Omar pour sa disponibilité à toutes épreuves, pour sa gentillesse et sa patience, pour ses orientations et ses remarques fructueuses. Ce fut un grand plaisir de travailler avec lui, durant la préparation de ce travail. Tout mon respect et ma gratitude, merci.

Je remercie également :

- *Mr Akfoul K, qui m'a fait l'honneur et le privilège de présider mon modeste travail*
- *Mme Feknous N. qui m'a fait l'honneur de juger mon travail et participer au jury. Merci pour le temps consacré à lire et à analyser ce travail.*

Enfin j'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignants de mon institut qui ont contribués à ma réussite.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui

A ma mère :

Particulièrement celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, a la source d'amour a la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières

A mon père :

A mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire mon père

A ma meilleure amie

ma sœur qui m'a soutenue durant toute ces années difficile je tiens a te remercier Sofia Chaouche pour tout, je t'aime très très fort , sans toi , je n'aurais pas atteint où je suis maintenant , vous serez toujours dans mon cœur avec nos très belles moments ensemble

A vous mes chères frères et sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études

A ma chère belle sœur yacina qui m'a vraiment encouragé et sa petite fille Aya et mes 2 belles sœurs Nawel et Sarah et Romaisa

A mes chéries Iyad , Yakïn et walid♥ et Aymen

A mon amie et ma sœur plus de 8 ans Nouha que notre amitié dure pour toujours

A tous mes amis de promotion Yasmine Ines Assala Ikram Abir , merci pour votre soutien et votre aide je n'oublierai jamais .

Merci a toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

Résumé

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

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

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

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

Abstract

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

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

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

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

ملخص

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

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

I. Problématique :

L'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage très sommaires, constituant le lit des infections, ce qui est à l'origine de la faible productivité.

Notamment le secteur de poulet de chair qui est à la fois le plus grand et le plus efficace au monde ainsi que la plus grande industrie de production de viande.

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

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

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

SOMMAIRE

I. Problématique :	10
Chapitre I : Etude bibliographique.....	1
I. Introduction	1
II. Définition	1
III. Historique	1
IV. Importance	2
V. Etiologie.....	2
V.1 Classification :.....	2
V.2 Caractéristiques :.....	3
V.2.1 Morphologie :.....	3
V.2.2 Composition chimique :.....	3
V.2.3 Réplication virale :	4
V.3 Propriétés physiques et chimiques	5
V.4 Classification des souches.....	5
V.4.1 Sérotype :	6
V.4.2 Génotype.....	6
V.5 Méthodes de culture :.....	7
V.6 Culture sur des œufs embryonnés :.....	7
V.6.1 Culture Cellulaire	8
V.6.2 Culture d'organe :.....	9
VI. Pathogénie :.....	9
VI.1 Pouvoir pathogène de l'IBV :.....	9
VI.2 Tropisme tissulaire.....	9
VI.2.1 Respiratoire	9
VI.2.2 Reproducteur ;.....	10
VI.2.3 Rénale.....	10
VII. Epidémiologie :	11
VII.1 Epidémiologie descriptive :.....	11

VII.2	Epidémiologie analytique :.....	11
VII.2.1	Sensibilité de l'hôte au virus de la BI :.....	11
VII.2.2	Source du virus :	12
VII.2.3	Mode de transmission :	12
VII.2.4	Persistence chez l'hôte :	12
VII.2.5	Facteurs extrinsèques et intrinsèques influençant la pathogénie de l'infection :.....	13
VII.2.5.1	Age :.....	13
VII.2.5.2	Génétique :	13
VII.2.5.3	Alimentation :	14
VII.2.5.4	Environnement :	14
VII.2.5.5	Infections intercurrentes :.....	14
VIII.	Lésions :	15
VIII.1	Lésions respiratoires	15
VIII.1.1	Lésions macroscopiques	15
VIII.1.2	Lésions microscopiques	15
VIII.2	Lésions génitales :	16
VIII.2.1	Lésions macroscopiques	16
VIII.2.2	Lésions microscopiques :	17
VIII.3	Lésions rénales :.....	18
VIII.3.1	Lésions macroscopiques	18
VIII.3.2	Lésions microscopiques	18
VIII.4	Lésions digestives	18
VIII.4.1	Lésions macroscopiques	18
VIII.4.2	Lésions microscopiques	18
VIII.5	Autres lésions : myopathie pectorale.....	18
VIII.6	Immunité	18
VIII.6.1	Protéine de l'immunité de l'IBV	18
VIII.6.2	Immunité innée :	19
VIII.6.3	Immunité humorale :.....	19

VIII.6.4	Immunité maternelle :.....	20
VIII.6.5	Immunité locale :.....	20
VIII.6.6	Immunité cellulaire :.....	21
IX.	Symptômes	21
IX.1	Symptômes à prédominance respiratoire :	21
IX.2	Symptômes à tropisme génital :.....	22
IX.3	Symptômes digestifs :	23
X.	Traitement	24
I.	Diagnostic	26
I.1	Diagnostic clinique	26
I.2	Diagnostic de laboratoire	26
☒	Isolement viral :	26
I.3	Diagnostic sérologique :.....	28
I.4	Diagnostic différentiel :.....	28
II.	Prophylaxie	29
II.1	Prophylaxie sanitaire.....	29
II.1.1	Active.....	29
II.1.2	Passive	29
II.2	Prophylaxie médicale	29
II.2.1	Importance de la vaccination	29
II.2.2	Les différents types de vaccins.....	30
II.2.3	Méthodes d'application des vaccins	31
	Chapitre 3 : Etude sérologique	
I.	Problématique et objectif	33
II.	Matériels et méthodes :	34
1.	Région et durée d'étude :	34
2.	Echantillonnage (Elevage) :	34
3.	Méthode au laboratoire (Sérologie) :	34
III.	Interprétation des résultats ELISA.....	35

1- Calcul du titre en anticorps	40
2-Calcul du rapport S/P.....	40
IV. Observation des facteurs de risque	41
V. Analyses statistiques.....	41
VI. Résultats.....	42
VII. Sensibilité et spécificité au diagnostic :	42
VIII. Les facteurs influençant l'apparition de la bronchite infectieuse :	43
IX. Discussion :	44
X. Conclusion :	47
Références bibliographiques

Liste des tableaux

<u>Tableaux 1</u> : Plusieurs types de virus de la bronchite infectieuse isolés	08
<u>Tableaux 2</u> : Exemple de protocole de vaccination de la bronchite infectieuse sur des poulettes futures Pondeuses	33
<u>Tableaux 3</u> :	40
<u>Tableau 4</u> : score sérologique	42
<u>Tableau 5</u> : : Sensibilité au diagnostic (%) et spécificité (%), avec 95 pour cent des intervalles de confiance (CI) et la prévalence du test basé sur les signes cliniques de BI.....	42
<u>Tableau 6</u> : Comparaison des moindres carrés des moyennes (MCR) et de l'erreur standard (ES) du titre d'anticorps anti-IB entre les facteurs de risque	43

Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Structure du coronavirus au microscope.....	03
<u>Figure 2</u> : Structure des coronavirus schématisé.....	05
<u>Figure 3</u> : Organisation génomique de virus de la bronchite infectieuse.....	07
<u>Figure 4</u> : Différents souches du virus de la bronchite infectieuse aviaire.....	07
<u>Figure 5</u> : Comparaison entre un embryon normal et 2 embryons infectés.....	09
<u>Figure 6</u> : Trachéite chez une poule atteinte de virus de la bronchite infectieuse	16
<u>Figure 7</u> : Lésions observées lors de la bronchite infectieuse chez une poule pondeuse	18
<u>Figure 8</u> : Œufs de poules pondeuses atteintes de virus de la bronchite infectieuse (coquille altérée).....	24
<u>Figure 9</u> : plaque ELISA	34
<u>Figure 10</u> : composition de kit ELISA	36
<u>Figure 11</u> : matériels nécessaire	37
<u>Figure 12</u> : méthodologie	39

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATB : Antibiotique

BI: Bronchite infectieuse

E.COLI: Escherichia Coli

ELISA: Enzyme-Linked Immuno Assay

HCL : Acide chlorhydrique

IBV: Virus de la bronchite infectieuse

LTI: La laryngotrachéite infectieuse

MALADIE ND : MALADIE de Newcastle

MHV : virus de l'hépatite murine

PCR : Polymérase Chain Reaction

RT-PCR: Reverse transcription-polymerase chain reaction

SPF : Specific-Pathogen-Free

Chapitre I : Etude bibliographique

I. Introduction

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 aviaire ou la BI est une maladie très contagieuse, d'évolution aigue, maladie virale des poulets d'importante économique prépondérante causée par un coronavirus. La maladie sévit dans tous les pays de l'industrie avicole. (Cavanag ,2005)

Il s'agit dans cette synthèse bibliographique de faire le point sur les connaissances actuelles concernant cette maladie, afin d'avoir une vue globale de cette affection majeure dont la maîtrise reste complexe et difficile.

II. Définition

La bronchite infectieuse est une maladie virale aviaire hautement infectieuse et économiquement importante, qui touche particulièrement les poules pondeuses et les poussins. Elle est due à un Coronavirus, et est caractérisée par une grande variabilité génétique et pathogène, et de nouvelles souches continuent d'apparaître. Sur le plan clinique, elle se caractérise par des signes généraux (fièvre, apathie et anorexie), mais aussi respiratoires, rénales et génitales. (Bailey, 1995)

III. Historique

La bronchite infectieuse aviaire a pour la première fois, été observée aux Etats-Unis dans le Nord Dakota en 1930.

Elle a été décrite en premier lieu sous sa forme respiratoire chez les jeunes poulets, ensuite chez les animaux âgés, notamment les poules pondeuses. (Casais, 2005)

Plus tard, d'autres manifestations cliniques ont été observées, telles que des chutes de pontes (en 1940) ainsi que des lésions rénales (en 1960).

L'étiologie virale a été décrite en 1936, et les premières cultures sur les œufs embryonnés ont été réussies en 1937 par Beaudette et Hudson.

L'absence de protection croisée entre les souches pathogènes, notamment 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. (Cavanag , 2003)

IV. Importance

Les principales pertes économiques sont liées à une faible conversion alimentaire, aux condamnations à l'abattoir, à une mortalité due à une infection secondaire (par des *E.Coli*, *M.Galisepticum*) et à la chute de production ainsi que le déclassement des œufs. (Bailey, 1995) La morbidité peut atteindre le 100% mais la mortalité est variable selon la virulence du sérotype infectant.

V. Etiologie

V.1 Classification :

Le virus de la bronchite infectieuse appartient à la famille des *Coronaviridae* avec deux genres : *Coronavirus* et *Torovirus*. Les familles *Coronaviridae*, *Ateriviridae* et *Roniviridae* appartiennent à l'ordre des *Nidovirales*.

Les coronavirus affectent de nombreuses espèces mammifères (virus de la péritonite infectieuse féline) et aviaires (Coronavirus de la dinde, du pigeon).

Sa structure en couronne (du latin corona) a ainsi donné son nom au genre des coronavirus.

Ce genre est divisé en trois groupes, selon des critères historiquement antigéniques, l'IBV appartient au troisième groupe qui ne comporte que des coronavirus aviaires. (Cavanagh, 2007)

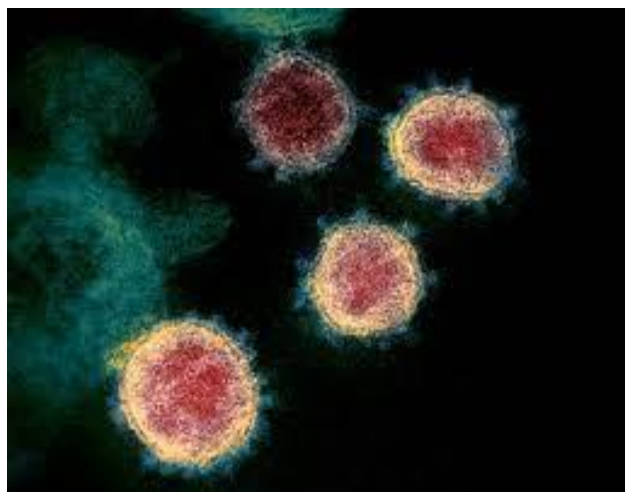


Figure 1 : Structure du coronavirus au microscope. (Cavanagh, 2007)

V.2 Caractéristiques :

V.2.1 Morphologie :

Le virus de la bronchite infectieuse, comme tous les coronavirus, est un virus à ARN monocaténaire enveloppé, à polarité positive, d'un diamètre d'environ 80-120 nm. Il comporte à sa surface de nombreux spicules (glycoprotéine S) de taille approchant les 20nm. Cette structure en couronne (du latin corona) a ainsi donné son nom au genre des coronavirus les particules virales (virions) se forment par bourgeonnement interne à la cellule à partir de membrane cellulaires, non pas par bourgeonnement externe. (Casais, 2005)

V.2.2 Composition chimique :

Le virus possède trois protéines structurales majeures :

- La protéine M transmembranaire (à l'origine d'anticorps neutralisant et précipitant), d'environ 230 d'acide aminés et N-glycosylée. Seulement 10% de la protéine M est exposé à la surface du virus. Elle participe à la formation de la particule virale. (Cavanagh, 2008)
- La protéine N, nucléocapside d'environ 420 acides aminés, est étroitement liée au génome ARN et forme ainsi une structure hélicoïdale : la ribonucléoprotéide (RNP). Elle est très conservée chez tous les coronavirus aviaires. Elle constitue un antigène immunodominant induisant la formation d'anticorps, neutralisant et précipitant, de réaction croisée à des titres élevés (Ignjatovic, 1993).
- La glycoprotéine S comprend deux à trois copies de deux glycopeptides, les sous-unités, S1, amino terminale et S2 carboxyle-terminale. S2 permet l'ancrage de S1 dans la membrane, S1 forme le bulbe (Cavanagh D., 2007). Il n'y a pas de pont disulfure dans la protéine S et la liaison de S1 à S2 et non covalente. (Cavanagh D., 1997)

La protéine S a 2 fonctions connues :

- Elle se lie aux récepteurs des cellules hôtes.
- Elle permet la fusion des membranes des cellules 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 neutralisant et inhibant l'hémagglutination et ainsi un rôle majeur dans l'induction de l'immunité humorale protectrice (Cavanagh D., 1984), elle induit la formation d'anticorps spécifiques aux sérotypes et d'anticorps de réactions croisées. 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, présent 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.

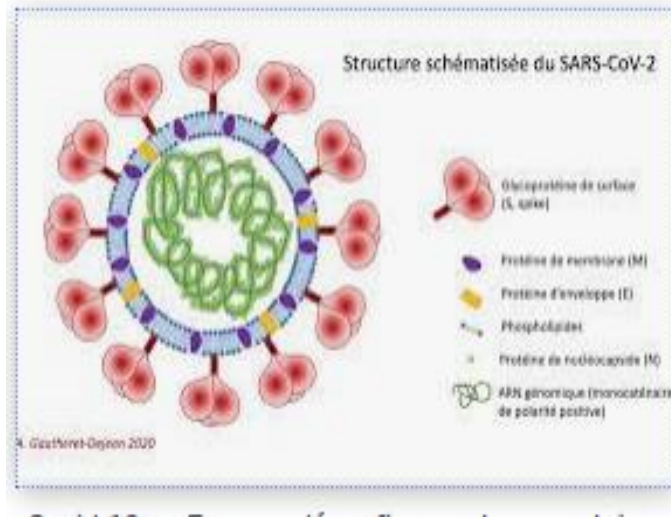


Figure 2 : Structure des coronavirus schématisé (Dier, 2011)

V.2.3 Réplication virale :

Le virus de la bronchite infectieuse se réplique dans le cytoplasme des cellules infectées. A chaque transcription du génome viral, de nouveaux ARN messagers sont produits. Les particules virales (virions) se forment par bourgeonnement de la membrane de l'endothélium réticulaire, et non à la surface cellulaire. Les virions s'accumulent dans de lisses vésicules avant d'être hors de la cellule. Les nouveaux virions apparaissent environ 3 à 4 heures après le début de l'infection. (Cavanagh, 2003)

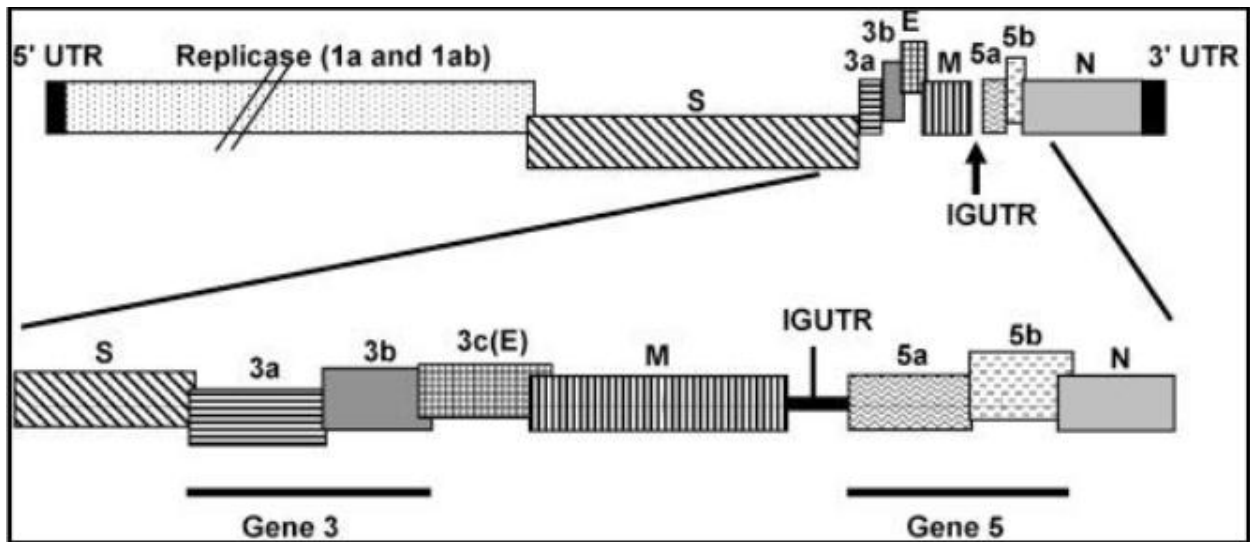


Figure 3 : Organisation génomique de l'IBV (Dier, 2011)

V.3 Propriétés physiques et chimiques

La thermostabilité du virus est variable selon les sérotypes. L'IBV est en général inactivé en 15 min à 56°C, ou après 90 min à 45°C. Il est stable à 4°C après lyophilisation, ou à -30°C. Le virus n'est plus stable à des pH supérieurs à 8 ou inférieurs à 6, bien qu'une grande stabilité de certaines souches à pH 3 ait été mise en évidence. Enfin, celui-ci est sensible au traitement par l'éther, les désinfectants comme les solutions de crésyl, à 1% d'alcool à 70° et de formol à 1% pendant 3 min. (Abassi, 1999)

Il a été rapporté que le virus est résistant dans l'environnement en moyenne pendant 56 jours en hiver, et 12 jours au printemps (Cavanagh, 2003). En pratique, on peut donc estimer que le virus sera résistant environ un mois dans un environnement de poulailler, permettant ainsi une large dissémination aux individus qui l'occupent. Le virus ne sera jamais totalement éliminé lors d'un protocole de désinfection classique en élevage, mais la charge virale d'un bâtiment en sera fortement diminuée. C'est pourquoi à la prophylaxie sanitaire (nettoyage et désinfection des bâtiments d'élevage) sera toujours idéalement pratiquée une prophylaxie médicale (vaccination des poulets), afin de prévenir au mieux une infection par IBV.

V.4 Classification des souches

La classification en sérotypes et génotypes est fondée sur les caractéristiques de la protéine S et plus précisément au niveau de 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 des anticorps spécifiques de sérotypes.

V.4.1 Sérotype :

Actuellement, plus d'une douzaine de sérotypes de l'IBV sont reconnus. Les sérotypes les plus connus sont le sérotype historique Massachusetts, ainsi que les sérotypes Connecticut ou encore Arkansas. Toutefois, au sein d'un même sérotype, on observe l'existence de différentes souches, apparues par mutations ponctuelles sur le génome de l'IBV par exemple, au sein du sérotype Massachusetts, on retrouve les souches H120 et Beaudette, fréquemment utilisées lors de vaccination. Les sérotypes sont définis par neutralisation virale, les anticorps sont induits par la sous unité S1 de la protéine S. Les tests d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et d'ELISA sont également utilisés pour la classification des sérotypes. (Dier, 2011)

V.4.2 Génotype

Les génotypes sont définis par la technique de RT PCR (production de copies ADN des gènes du virus) associée soit au séquençage, soit à une deuxième PCR à amorces spécifiques, ou plus rarement par détermination des sites de clivage (RFLP).

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 serotypes différents. (Cavanagh, 2008)

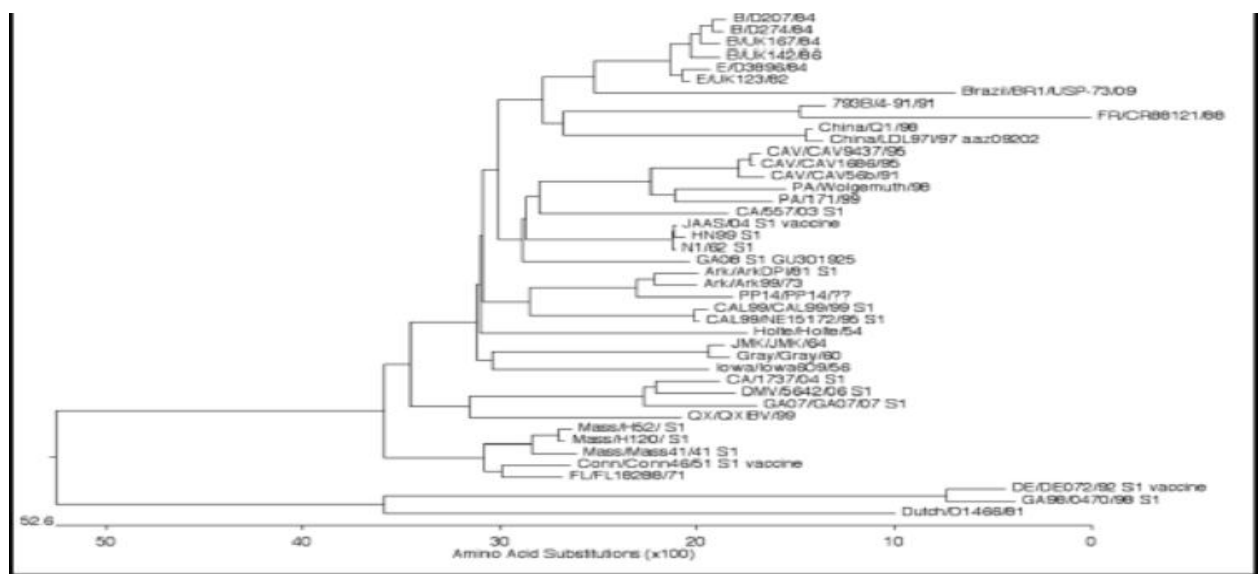


Figure 4 : Différents souches du virus de la bronchite infectieuse aviaire. (Cavanagh, 2007)

Tableau 1 : Plusieurs types de virus IB isolés : (BIOLAB MSD Santé animal 2015)

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
CR88121	France	Groupe88
QX	Chine	2000

V.5 Méthodes de culture :

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).

V.6 Culture sur des œufs embryonnés :

La culture sur œufs embryonnés SPF est le plus souvent utilisée, par inoculation d'un homogénat de tissus infectés dans le liquide allantoïdien à 10jours 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 œufs 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. (Cavanagh, 2003)



Figure 5 : Comparaison entre un embryon normal et 2 embryons infectés.

V.6.1 Culture Cellulaire

La culture cellulaire de l'IBV est difficile à réaliser en pratique. Elle se déroule généralement sur des cellules rénales ou hépatiques d'embryons de poulets.

Le temps minimal de production de virions est de 3 à 4 h, mais les titres maximaux en virions sont atteints vers 14 à 36 h (temps variable selon la souche IBV et la dose infectante).

Toutefois, ce titre viral est généralement 10 à 100 fois moins élevé que ceux susceptible d'être obtenus par culture sur œufs embryonnés (Lukert2000). Les cellules rénales infectées commencent à former des syncytia dès les 6 h post inoculation. Après 18 à 24 h, les syncytia contiennent 20 à 40 noyaux et deviennent vacuolisés. Les noyaux pycnotiques. (Ambali, 1990)

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

L'aptitude de l'IBV à se répliquer dans des cellules épithéliales des tissus respiratoires, entériques, rénales ou ovariens pourrait, entre autres, être due au fait que l'attachement de l'IBV à la cellule hôte et dépendant de la présence d'acide N-acétyl neuraminique (acide sialique) à la surface de cette dernière. (Ambali, 1990)

V.6.2 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).

VI. Pathogénie :

VI.1 Pouvoir pathogène de l'IBV :

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 des récepteurs de la cellule cible. Balesteros et al, (1997) ont 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 (Bacon L.D., 2004). De même Haijema et al,(2003) ont 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 du chat (Cavanagh, 2005). 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 (Cavanagh, 2003). Enfin, la présence d'acide N-acetylneuraminique sur la membrane des cellules réceptrices semble être une condition favorable au tropisme du virion.

VI.2 Tropisme tissulaire

VI.2.1 Respiratoire

Le virus de la bronchite infectieuse aviaire infecte initialement les cellules ciliées et mucosales de l'appareil respiratoire supérieur. Ce dernier est majoritairement ré-isolé dans le système respiratoire supérieur (cavités nasales, trachées), à un titre maximum pendant 2 à 5 jours post-infection (Animas, 1994). La persistance virale dans la trachée est variable selon les souches virales, et l'IBV peut être détecté jusqu'à 14 jours post-infection (Ambali A.G., 1990). L'IBV peut de plus être retrouvé dans 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 et certaines portions du tube digestif (œsophage, pro ventricule, duodénum, jéjunum, rectum et cloaque).

VI.2.2 Reproducteur ;

Le passage du VBI sur des futures pondeuses de moins de 2 semaines, hormis l'atteinte respiratoire, aura des conséquences désastreuses sur la ponte par destruction des cellules de l'appareil génital. Ces lésions génitales cliniquement occultes et irréversibles aboutiront à des «fausses pondeuses », c'est-à-dire des femelles adultes qui ne pondront jamais. Les atteintes tardives chez la poule en ponte provoquent des troubles respiratoires discrets et surtout, des chutes de ponte en quantité et en qualité, d'expression variable en fonction du moment de la contamination :

- Un passage de BI en début de ponte provoque un léger décrochement de la courbe puis tout rentre dans ordre en 1 ou 2 semaines.
- La contamination juste après le pic de ponte aura des conséquences catastrophiques sur la production.
- La maladie en fin de ponte provoquera un arrêt de ponte irréversible. (Cavanagh, 2003)

VI.2.3 Rénale

Une forme rénale de coronavirose peut être associée aux formes respiratoires. Ce virus à tropisme rénal, néphropathogène, provoque une néphrite associée à une urolithiase (précipitations minérales dans le rein). Dans ce cas, une insuffisance rénale se met en place; avec dépression, mortalité, soif intense, fèces humides. Dans ces formes rénales, les signes respiratoires sont souvent discrets et les symptômes digestifs dominant, avec une dégradation des litières qui peut être importante notamment en production de poulet de chair. La mortalité est plus importante lors d'une atteinte rénale Les néphrites occasionnées par l'infection rénale de certains sérotypes d'IBV sont dues au tropisme pour les cellules épithéliales du bas de l'appareil rénal (tube contourné distal, tubules collecteurs, tubes collecteurs). 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. L'aptitude de l'IBV à se répliquer dans des cellules épithéliales des 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 N-acétylneuraminique (acide sialique) à la surface de cette dernière. 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. (Ambali, 1990)

VII. Epidémiologie :

VII.1 Epidémiologie descriptive :

La bronchite infectieuse est une infection virale aigue, hautement contagieuse des poules de tous âges, ayant des effets néfastes sur la qualité et de production des œufs, et se caractérise par une dépression élevée pendant la période de croissance en particulier chez les poules pondeuses. Dans un élevage la maladie évolue sous une forme clinique aigue en 48 heures chez les sujets moins de six semaines. La morbidité est proche de 100%. La mortalité est toujours faible (sauf pour la souche à tropisme rénale). L'incubation est courte (18-36h).

VII.2 Epidémiologie analytique :

VII.2.1 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 seule oiseau naturellement infecté par le virus de la bronchite infectieuse et le seul à exprimer la maladie.

Des coronavirus, génétiquement très proche du virus de la BI (autant que les variantes du virus de la BI entre eux) ont été isolés chez le faisan lors de troubles respiratoires et rénaux.

Toutefois, l'inoculation des isolants de faisans à des poulets exempts de pathogène spécifiques n'entraîne pas l'apparition de symptôme. De la même manière, des inoculations expérimentales par aérosol de virus de la bronchite infectieuse aviaire à des dindes n'entraînent aucune manifestation clinique, mais des inoculations par voie intraveineuse peuvent produire des phases de virémie jusqu'à 48 heures post inoculation. De la même manière, l'inoculation de coronavirus de dindes à des poulets entraîne la réplication du virus dans les tissus du tube digestif mais aucun signe clinique n'est exprimé.

VII.2.2 Source du virus :

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 toux ou des éternuements, et peut atteindre 20 semaines dans les déjections. La réceptivité au virus de la BI est élevée quel que 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. (Ignjacovic, 2000)

VII.2.3 Mode de transmission :

La transmission de l'IBV est extrêmement rapide au sein d'un troupeau et entre les bâtiments d'un même élevage. La transmission horizontale directe par voie respiratoire est la transmission la plus importante. Une transmission horizontale indirecte est possible par une eau, une alimentation ou du matériel d'élevage contaminés. Il n'y a pas de transmission verticale rapportée. Bien que certains faits aient montré la présence d'IBV dans des œufs pondus jusqu'à 43 jours après la guérison clinique des reproducteurs, l'incubation d'œufs issus de reproducteurs infectés permet d'obtenir des poussins viables et indemnes d'IBV (Cavanagh, 2003). La transmission vectorielle de la bronchite infectieuse n'a jamais été démontrée. De plus, le virus étant résistant environ un mois dans un environnement de poulailler, le matériel d'élevage ainsi que la litière ou l'aliment peuvent devenir à leur tour des sources potentielles de virus (Smati, 2002).

VII.2.4 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 1 et 7 jours post infection à des titres très élevés. Il peut aussi être isolé de contenu cloacal de un à 24 heures après l'infection (Ignjacovic J., 2000). 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 (Cook, 1968). 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 infections (Cavanagh, 2003). 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 (Cavanagh, 2003). 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 vaccinés 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. (Cavanagh, 2003)

VII.2.5 Facteurs extrinsèques et intrinsèques influençant la pathogénie de l'infection :

VII.2.5.1 Age :

Les poules 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 diminue avec l'âge (Dhinakar Raj, 1997) (Cavanagh, 2003)

VII.2.5.2 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 quel que 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, entraînent une augmentation de la mortalité. Des infections mixtes E. coli/virus de la bronchite infectieuse, entraîne 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 (Bacon, 2004) (Cavanagh, 2007). 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 élevage de chair qu'en poudeuses bien que le virus se multiplie autant chez deux types d'oiseaux. Enfin, les mâles sont deux fois plus sensibles aux souches néphropathogènes que les femelles (Dhinakar Raj, 1997).

VII.2.5.3 Alimentation :

La mortalité due aux souches néphropathogènes est augmentée lors d'alimentation hautement protéinée (Dhinakar Raj, 1997).

VII.2.5.4 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.

Le stress et le froid augmentent également la sévérité des lésions trachéales et provoquent plus d'aérosacculites lors d'infections mixtes avec *mycoplasma synoviae*. (Dhinakar Raj, 1997).

VII.2.5.5 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 al2003). Ont montré que l'inoculation intra-nasale de la souche Massachusetts ou de *Mycoplasma gallisepticum* n'engendre que peu de signes cliniques alors que l'infection combinée entraîne coryza, trachéite et aéroscacculite. De même, chez les poules, une infection de ponte et sur la qualité des œufs que l'inoculation d'un seul des deux agents (Dhinakar Raj, 1997). De même, (Cook et al2003), ont montré que l'infection combinée par le virus de la Bi et *mycoplasma synoviae* ou *Escherichia coli* entraîne 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 (Dhinakar Raj, 1997). (Raggi et al2003), ont également montré que lorsque le virus de la bronchite infectieuse et *Haemophilus paragallinarum* sont administrés ensemble par voie intra-nasale, 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 de 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 les 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 les poulets infectés par le virus de la bronchite infectieuse seul.

VIII. Lésions :

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

VIII.1 Lésions respiratoires

VIII.1.1 Lésions macroscopiques

Dans les premiers jours post-infection, les poulets infectés présentent un exsudat séreux, catarrhal, ou caséux dans la trachée, les voies nasales, et les sinus. Une aérosacculite peut apparaître de façon tardive (à partir de 11 jours post-inoculation) (Benyeda, 2010). Les sacs aériens peuvent être mousseux en cas d'infection aiguë, puis elles deviennent opaques et contiennent un exsudat caséux jaune (fibrine) (Dhinakar Raj, 1997). En cas de surinfection bactérienne, Des foyers de pneumonie peuvent être observés autour des grandes bronches. (Fabricant, 2000)



Figure 6 : Trachéite chez une poule atteinte de l'IBV. (Cavanagh, 2007)

VIII.1.2 Lésions microscopiques

L'IBV touche les cellules ciliées, mucipares, parfois sous épithéliales de la trachée mais jamais les cellules basales (Karnik, 2005). La trachée d'un animal atteint de la bronchite infectieuse présente une muqueuse œdémateuse. On observe une perte des cils de l'épithélium de la muqueuse, parfois une desquamation de celui-ci, ainsi qu'une infiltration hétérophilique et lymphocytaire de cette dernière dès 18h post infection (Cavanagh D., 2003). La régénération de l'épithélium se met en place dès 48h, et l'hyperplasie induite est suivie

d'infiltrations massives de la lamina propria par des cellules lymphoïdes (Hopkins S.R., 1974).

L'évolution des lésions trachéales avec les temps peut être divisée en 3 phases :

- La phase dégénérative : dégénérescence généralisée, déciliation et desquamation des cellules épithéliales ciliées. Dégénérescence des cellules sécrétrices de mucus. Des cellules mononuclées 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 : A la fin de cette phase, le processus inflammatoire régresse et la couche épithéliale est entièrement réparée. L'épithélium muqueux reprend son aspect normal 21 jours post-infection.

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 4 et 11 jours post infection. (Dhinakar Raj, 1997). Des lésions microscopiques sont observées dans les bronches primaires et secondaires et dans l'interstitium. Ces lésions ne sont toutefois ni constantes ni spécifiques (Benyeda, 2010).

VIII.2 Lésions génitales :

VIII.2.1 Lésions macroscopiques

- Chez les jeunes poulettes : Les lésions peuvent aller d'un oviducte sous développé à un oviducte en cul de sac sans abouchement cloacal. 2^{ème} tiers de l'oviducte est le plus touché. Caudalement à ces régions, des kystes remplis d'un fluide séreux peuvent se former (Crinion R.A., 1971) (Crinion, 1971). Ces modifications macroscopiques de l'oviducte deviennent évidente à partir de 14 jours après l'inoculation et sont plus fréquemment observées dans le groupe infecté avec le variant chinois. Les ovaires sont fonctionnels.
- Chez les poules pondeuses : Rupture des follicules ovariens dans l'abdomen, et un matériel jaunâtre peut être observé dans cette dernière (Dhinakar Raj, 1997). Parfois, on retrouve des pontes intra-abdominales. Des cas d'ovarite ont également été signalés.



Figure 7 : Lésions observées lors de BI chez une poule pondeuse (ovaire). (Cavanagh, 2015)

- Chez les mâles : Les mâles auront les testicules définitivement atrophiés (Dier, 2011).

VIII.2.2 Lésions microscopiques :

- Chez les poulettes : Le 2^{ème} 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 ciliature des cellules épithéliales, une dilatation des glandes tubulaires, une infiltration d'hétérophiles, de lymphocytes et de cellules plasmatiques, un œdème et une fibroplasie de la lamina propria.
- Chez les 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 (Dhinakar Raj, 1997). Une réduction de la taille des cellules épithéliales de l'oviducte est également observée, avec une diminution 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 6 et 9 jours après l'infection (Dhinakar Raj, 1997) (Jones, 1972).
- Chez 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.

VIII.3 Lésions rénales :

VIII.3.1 Lésions macroscopiques

Les lésions sont observées à partir de 11 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. (Dier, 2011).

VIII.3.2 Lésions microscopiques

Les lésions apparaissent à partir de 4 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. Les altérations structurales des cellules épithéliales tubulaires entraînent une fuite d'eau et d'électrolytes à l'origine de l'insuffisance rénale aiguë (Dhinakar Raj, 1997).

VIII.4 Lésions digestives

VIII.4.1 Lésions macroscopiques

Sont essentiellement des proventriculites.

VIII.4.2 Lésions microscopiques

Une infiltration des cellules mononuclées est parfois observée. (Benyeda, 2010)

VIII.5 Autres lésions : myopathie pectorale

Les muscles pectoraux superficiels et profonds sont pâles et suintant avec parfois des zones hémorragiques et un œdème en surface. Cette lésion n'est pas due directement à l'action du virus mais à une réaction d'hypersensibilité de type 3 par dépôts de complexes immuns sur l'endothélium des capillaires (Dhinakar Raj, 1997).

VIII.6 Immunité

VIII.6.1 Protéine de l'immunité de l'IBV

La sous unité S1 de la glycoprotéine S induit les anticorps neutralisant et inhibant l'hémagglutination (Dhinakar Raj, 1997) (Mockett, 1984) et est considérée comme étant le plus probable inducteur de protection (Cavanagh, 1986). 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. Le délai d'apparition des anticorps (détectés par ELISA) induits par S1, S2

et N est similaire et est de 2 semaines suite à une vaccination à virus vivant. Ce délai coïncide avec l'apparition des anticorps neutralisants (Dhinakar Raj, 1997). 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 (Ignjatovic, 1995)

VIII.6.2 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 barrières physiques (peau et muqueuses), de cellules (phagocytes, natural killer, mastocytes, granulocytes), et de molécules (complément et cytokines).

Chez les 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 (Haijema B.J., 2003). En utilisant des poulets délités 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 aigüe d'une inflammation, l'acide glycoprotéine, présente un pic six jours suivant l'infection par le virus de la BI (Nakamura, 1996).

VIII.6.3 Immunité humorale :

Les poulets développent une réponse humorale contre l'infection par le virus de la BI, mesurée par les techniques d'inhibitions de l'hémagglutination (IHA), ELISA et par neutralisation virale (De wit J.J., 1992). Les immunoglobulines G (IgG) sont majoritaires et sont les anticorps détectés par les techniques IHA et ELISA. Elles apparaissent 4 jours après l'infection, atteignent leur taux maximal après 21 jours et peuvent rester à des taux sériques élevés pendant plusieurs semaines (Mockett, 1981). 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 8 jours suivant l'infection par le virus de la BI puis leur taux décline (Dhinakar Raj, 1997).

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 attribuable 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 (Cook, 1991) ; (Dhinakar Raj, 1997).

Les anticorps spécifiques 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 (Dhinakar Raj, 1997).

VIII.6.4 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) (Darbyshire, 1985) ; (Dhinakar Raj, 1997). Ces anticorps maternels ne semblent pas altérer l'efficacité de la vaccination systématique à virus vivant atténué des poussins de 1 jour (Cook, 1991). Des IgG d'origine maternelle ont été isolées dans des lavages trachéaux (Winter, 2006).

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 1 à 7 jours. De plus, une épreuve virulente par inoculation intra oculaire réalisée sur des poussins non vaccinés à 1 jour, montre que la protection diminue de 95% à un jour d'âge contre moins de 30% à 7 jours d'âge. Mondal et *al*, en ont conclu que les anticorps maternels localisés au niveau de l'appareil respiratoire, contrairement aux sériques, sont à l'origine de la protection.

VIII.6.5 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 (Dhinakar Raj, 1997). En effet, en plus d'une production locale d'anticorps au niveau des muqueuses (essentiellement IgA), les anticorps transsudant 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. (Dhinakar Raj, 1997)

VIII.6.6 Immunité cellulaire :

Les études concernant le rôle de l'immunité cellulaire dans la protection contre le virus de la BI sont limitées. La prolifération des lymphocytes T spécifiques chez des poulets infectés ou vaccinés a été prouvée (Timms L.M., 1980). 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 du virus utilisée (Dhinakar Raj, 1997) (Janse, 1994). De récentes études ont montré que le transfert de cellules T effectrices, en particulier les cellules T CD8+ et CD4- se liant aux récepteurs T, prélevées sur des poulets 10 jours après infection par le virus de la BI, contrôle une infection aiguë chez les poulets naïfs (Collisson, 2000).

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

IX. Symptômes

Les types et la sévérité des symptômes dépendent de la souche particulière de la BIV et sa dose infectante, de la résistance de hôte acquise à l'âge, sexe, voie d'inoculation, des quantités de poussières et de gaz délétères (ammoniac, oxyde de carbone, hydrogène sulfuré) dans l'air ainsi que des caractéristiques des infections secondaires bactériennes et /ou fongiques. Les

Symptômes sont fréquemment distincts. Il y'a peu de signes et les animaux guérissent spontanément. Les signes sont plus sévères chez les jeunes, avec une mortalité d'origine primaire. Chez les adultes, la mortalité est toujours causée par des infections secondaires (Villarreal, 2007)

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

IX.1 Symptômes à prédominance respiratoire :

Les manifestations respiratoires se rencontrent surtout chez des oiseaux de moins de 5 semaines et se traduisent par les signes suivants : abattement ; frilosité ; râles ; toux ; éternuement ; jetage séromuqueux (jamais hémorragique, différence avec la LTI) dyspnée parfois (difficulté respiratoire), conjonctivite et sinusite.

La morbidité peut atteindre 100% et la mortalité varie entre 5 et 25% en fonction des complications. La guérison est généralement spontanée entre 1 à 2 semaines, s'accompagne souvent d'un grand retard de croissance.

Il existe de fréquentes complications de maladie respiratoire chronique, notamment chez les poulets en fin d'engraissement. Chez les poules pondeuses, le passage du virus provoque des signes respiratoires discrets et fugaces. (Gelb Jr, 2005)

IX.2 Symptômes à tropisme génital :

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

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

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

Outre l'impact par la quantité d'œufs perdus, les pertes économiques par "non qualité", le problème de fragilité des coquilles est souvent persistant (Guérin et al., 2011).

Les œufs pondus pendant la phase aigüe de la maladie contiennent un blanc d'œuf aqueux. La couleur, la grosseur et la solidité des œufs pondus varie énormément au sein du troupeau affecté.

Généralement les œufs de coquille brune sont décolorés du fait de la ponte d'un œuf immature. Certaines présentent des dépôts de calcium sur les surfaces. D'autres œufs dépourvus de coquille, n'ont que la membrane coquillière interne comme revêtement externe. Les œufs présentent une coquille altérée et se casse facilement, ils ne sont pas utilisables pour l'incubation et pour la vente d'œufs de consommation. (Cavanagh, 2015)

De récents travaux ont montrés la possibilité du virus de la BI de se répliquer aussi dans les cellules ciliées des voies séminifères (retitestis, épидидyme) des testicules de coqs. Cette

atteinte serait à l'origine de formation de calculs dans l'épididyme, causant une réduction de fertilité chez certains coqs. (al, 2007)

Les poulets adultes males peuvent être atteints par la maladie due aux souches néphropathogènes, respiratoires et artéritiques. Apparemment les gonades et la qualité de la semence ne sont pas affectées sévèrement.



Figure 8 : Œufs de poules pondeuses atteintes de L'IBV (coquille altérée) (Dhinakar Raj,2015)

Symptômes à tropisme rénale :

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

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

IX.3 Symptômes digestifs :

L'IBV est un des virus suspectés (avec le virus de la bursite infectieuse, des adénovirus ou de réovirus) d'être responsable de pro ventricule chez le poulet de chair. IBV a été détecté par PCR dans des broyats de pro ventricules issus d'animaux d'élevage présentant des signes cliniques, et l'inoculation expérimentale (par gavage) de ces broyats, à des poulets SPF, a recréé une pro ventricule chez les oiseaux. Dans ce cas, les oiseaux présentent un pro ventricule distendu, épaissi et atonique. Ce phénomène est responsable, entre autre, de rupture

accidentelle du pro ventricule lors de l'éviscération des oiseaux à l'abattoir, causant la condamnation de la carcasse. (Corrand., 2008)

X. Traitement

Il n'existe aucun protocole de traitement spécifique pour les oiseaux infectés. On peut toutefois traiter les infections secondaires (aérosacculites) à l'aide d'une antibiothérapie (Cavanagh, 2003). Dans le but de limiter au maximum les facteurs aggravants, il faudra éviter le stress et le froid en réchauffant l'animal, en diminuant la densité de l'élevage, et en améliorant la ventilation. Des électrolytes pourront être ajoutés à l'eau de boisson afin de compenser les pertes en sodium et en potassium sous forme de sel de citrate ou de bicarbonate.

Chapitre 2 : Diagnostic et prophylaxie

I. Diagnostic

I.1 Diagnostic clinique

Les signes cliniques généraux ne sont pas pathognomoniques et ne permettent pas de diagnostiquer avec certitude la maladie. De même, les signes locaux (respiratoires, urinaires ou génitaux) sont évocateurs mais jamais suffisants pour affirmer le diagnostic. Le contexte épidémiologique (réalisation de la vaccination, prévalence de la maladie sur le terrain, âge des animaux) devra aider à suspecter la bronchite infectieuse. (Guérin J.L., 2011)

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, par mise en évidence du virus de la BI ou bien par recherche d'anticorps anti IBV.

I.2 Diagnostic de laboratoire

➤ Isolement viral :

La trachée est la première cible de l'IBV et, par conséquent, le site d'échantillonnage par excellence, surtout pendant la première semaine d'infection. Les échantillons peuvent être des écouvillons trachéaux ou des prélèvements post-mortem.

Lors d'une infection individuelle, le titre infectieux en IBV est maximal dans la trachée au 5^{ème} jour post infection, date après laquelle diminue rapidement. Des échantillons cloacaux, ou des prélèvements de tonsilles caecales peuvent être toutefois utiles dans les cas où l'infection remonterait à plus d'une semaine. De plus, il est montré que le virus persiste dans des tissus non respiratoire, dont le rein. Ainsi des prélèvements de poumons, reins et oviducte peuvent se montrer utiles selon l'historique de l'infection.

La conservation des prélèvements réalisés sur les animaux se fait en milieu réfrigéré (3 à 7°), ou idéalement congelé, enrichi en pénicilline (10 000 UI/ml) et streptomycine (10 mg/ml). De nouveaux milieux de transport adaptés à la conservation du liquide allantoïdien ont été développés (FTA cards, papiers filtres) permettant de conserver le génome viral (tout en inactivant le virus, ce qui garantit la biosécurité) jusqu'à 15 jours à 41°C, favorisant ainsi les envois de longue distance pour ces diagnostics de laboratoire. Les échantillons sont inoculés dans des œufs embryonnés ou sur des cultures cellulaires de trachée. Les fluides récoltés sont repassés plusieurs fois en culture. L'observation d'une mortalité, de lésions embryonnaires, ou de ciliostase sur les cultures trachéales sont signes de présence d'IBV. Toutefois ces

observations ne sont pas suffisantes et devront toujours être complétées par la clinique, l'épidémiologie, ainsi que par d'autres techniques de laboratoire. (Guérin J.L., 2011)

➤ **Détection du virus :**

La détection de l'IBV peut être réalisée par immunofluorescence directe au moyen d'anticorps monoclonaux. Les prélèvements sont alors des coupes de trachées d'oiseaux infectés.

➤ **Détection des antigènes du virus :**

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 différentes 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. (De Wit J.J., 2000) (De Wit, 1995)

- **Test d'immunoperoxydase (IPA) :**

Après fixation et inclusion en paraffine de sections d'organes ou tissus, un anticorps spécifique antiviral 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. (Picaut, s.d.).

- **ELISA Antigène :**

Les anticorps antiviral 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'œufs inoculés.

I.3 Diagnostic sérologique :

La multiplicité des sérotypes d'IBV et les variations antigéniques de celui-ci compliquent la sélection de techniques sérologiques appropriées, et leur interprétation. Tous les sérotypes d'IBV possèdent des épitopes communs, ce qui est essentiellement expliqué par la conservation antigénique des protéines N, M, ou de la fraction S2 de la protéine S. Mais il existe aussi des anticorps spécifiques à un sérotype d'IBV, déterminés par les épitopes de la protéine S1. Toutefois, les tests ELISA classiques, les tests d'immunofluorescence ou encore d'immunodiffusion lient un anticorps à des antigènes généralement non spécifiques d'une souche virale. Il existe des réactions croisées entre ces souches virales, ce qui fait qu'il est généralement difficile de les distinguer par sérologie.

De plus, une méthode de diagnostic sérologique par hémagglutination a récemment été mise au point (Picaut J.P., s.d.). Initialement, l'IBV ne possède pas des propriétés hémagglutinantes, mais, après un traitement du virus à la neuraminidase, ce dernier devient apte à se lier aux érythrocytes. Cette méthode permet de titrer le virus par dilution de l'échantillon à tester, sans pour autant estimer la pathogénicité de celui-ci.

C'est pourquoi la sérologie sera majoritairement réalisée pour effectuer un suivi de vaccination au sein d'un troupeau, pour effectuer un dépistage de bronchite infectieuse, mais ne sera pas assez précise pour typer le variant circulant d'IBV. Les tests commerciaux ELISA peuvent détecter un passage viral dès 1 semaine post-infections. En général, deux sérologies sont effectuées : Une lors des premiers signes d'infections et la seconde 10 à 14 jours plus tard. Le faible cout, la simplicité et la rapidité des tests sérologiques en font qu'ils sont largement utilisés comme diagnostic de routine (Picaut, sans date).

I.4 Diagnostic différentiel :

Les symptômes respiratoires de la bronchite infectieuse peuvent ressembler à ceux d'autres maladies respiratoires aiguës, telles que la maladie de Newcastle (ND), la laryngotachéite (LTI) ou le coryza infectieux (*Avibacterium paragallinarum*). Cependant, des signes nerveux sont souvent observés lors du passage d'une souche virulente de ND et, chez les poules pondeuses, la chute de ponte observée est généralement plus importante que celle observée lors d'une bronchite infectieuse. La LTI tend en général à se propager plus lentement au sein d'un troupeau (herpesvirus), et les signes respiratoires peuvent être aussi importants,

voire plus sévères (trachéite hémorragique), que lors d'une bronchite infectieuse. Le coryza infectieux, devenu très rare dans les pays développés, peut être différencié par la présence d'un gonflement de la tête (par gonflement des sinus infra-orbitaire), ce qui arrive rarement lors d'une bronchite infectieuse (Picaut J.P., s.d.).

II. Prophylaxie

II.1 Prophylaxie sanitaire

II.1.1 Active

Le virus de la bronchite infectieuse étant très contagieux, de par sa résistance dans l'environnement et la susceptibilité des oiseaux, les mesures de biosécurité dans l'élevage sont à appliquer avec rigueur. Il sera toujours utile de contrôler, lors de la visite d'un élevage, l'application de ces pratiques par l'éleveur ; protection de l'accès au site, tenues vestimentaires (incluant la gestion des bottes entre les bâtiments), désinfection des bâtiments...

Ces mesures de biosécurité ne sont évidemment pas spécifiques à la bronchite infectieuse, et pourront prévenir les surinfections bactériennes à craindre lors d'un tel passage viral.

II.1.2 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.

II.2 Prophylaxie médicale

II.2.1 Importance de la vaccination

Seule la vaccination a permis le contrôle de la bronchite infectieuse dans les élevages intensifs de poulets de chair, de pondeuses, ou de reproducteurs. Les intérêts de l'utilisation de vaccins sont multiples. En effet, les vaccins induisent une réaction immunitaire de l'hôte et donc, par conséquent, réduisent sa sensibilité à un agent infectieux (si la souche de celui-ci est identique ou proche du variant vaccinal). En conséquence, la vaccination diminue directement les effets pathogéniques du virus de l'IBV, et minimise la susceptibilité de l'oiseau à des surinfections secondaires possibles. De plus, les vaccins permettent de diminuer la réplication d'un virus infectieux chez un animal infecté, et de réduire significativement l'excrétion fécale et respiratoire d'un virus infectieux (De Wit, 1998).

Toutefois, si l'utilisation de vaccins permet de réduire l'expression de la maladie, ils n'empêchent pas l'infection. Ceci signifie donc qu'une circulation d'IBV sera possible au sein d'un troupeau vacciné, sans expression de signes cliniques. La protection de l'appareil

respiratoire est usuellement étudiée après une infection par la bronchite aviaire, lors de l'évaluation de l'efficacité d'un vaccin. Les méthodes d'infection sont entre autre trachéale, intranasale, ou par une goutte dans l'œil (Cavanagh, 1997). Une approche alternative de l'évaluation de la protection de poulets vaccinés est le challenge d'animaux avec un mélange d'IBV et d'E.Coli. Cette méthode a montré une plus grande protection croisée que les autres études se basant uniquement sur l'immunité trachéale (Cook, 1986).

II.2.2 Les différents types de vaccins

Le contrôle vaccinal de la bronchite infectieuse aviaire implique à la fois l'usage de vaccins vivants atténués et de vaccins inactivés. Les vaccins vivants sont employés pour les poulets de chair et pour les primo-vaccinations des animaux à vie longue (reproducteurs, pondeuses). Les vaccins inactivés, à adjuvants huileux, sont utilisés chez les reproducteurs et les pondeuses avant l'entrée en ponte (Klieve, 1988); (Huang, 2006); (Macdonald, 1976). Les vaccins atténués permettent une mise en place rapide de l'immunité (d'abord locale puis systémique), mais qui décline dès 9 semaines après la vaccination (Cavanagh, 2007), alors que les vaccins inactivés procurent une immunité durable (et une synthèse d'anticorps systémiques que la poule reproductrice pourra transmettre au poussin). Les souches virales utilisées pour les vaccins vivants sont fréquemment atténuées par plusieurs passages sur œufs embryonnés (Bijlenga, 2004). Toutefois, un trop grand nombre de passage peut diminuer l'immunogénicité, voire en augmenter la pathogénicité. On peut ainsi aisément comprendre le potentiel d'augmentation de la virulence d'une souche vaccinale atténuée circulant dans un troupeau. Les variants employés pour une vaccination dépendent majoritairement des variants circulant dans l'environnement de l'élevage. Le sérotype Massachusetts est communément utilisé à travers le monde, au moyen de souches telles que H120 ou M41 notamment, de même que le sérotype Connecticut. Aux Etats-Unis, la souche Arkansas est largement utilisée, alors qu'en Europe, les sérotypes 4/91 ou D274 sont plus fréquemment employés. De récentes théories suggèrent que des variants du sérotype Arkansas ont pu faire apparition aux Etats-Unis dans des régions (Delaware, Maryland et Virginia) où la vaccination Arkansas ne serait pas effectuée dans tous les élevages (Nix, 2000). Cette sélection aurait fait émerger au sein d'élevages de poulets, des populations mineures de variants virulents apparues à partir de vaccins vivants atténués. Les auteurs préconisent que les vaccins Arkansas devraient être utilisés par tous les éleveurs et toute l'année, et non occasionnellement, afin d'éviter que des sous-populations de souches virulentes apparaissent.

II.2.3 Méthodes d'application des vaccins

Les vaccins vivants atténués sont administrés expérimentalement par dépôt d'une goutte de solution vaccinale par voie intranasale, intraoculaire ou intratrachéale (Andrade L.F., 1983). Une méthode d'injection dans des embryons a été testée expérimentalement. En pratique, les poulets sont vaccinés par nébulisation d'une solution en aérosol, ou par l'eau de boisson (Ratanasethakul, 1983). L'administration par aérosol est largement répandue pour les poulets de un jour au couvoir. Il est à noter que la vaccination n'est pas toujours uniforme sur l'ensemble du lot, et que les méthodes par aérosols peuvent causer quelques réactions respiratoires sévères chez les poussins quelques jours après vaccination. L'administration via l'eau de boisson est pratiquée en élevage. Les vaccins sont parfois dans ces cas susceptibles d'être détruits par les agents désinfectants chimiques utilisés dans l'eau (ions chlorures). Il est alors nécessaire à l'éleveur d'arrêter l'utilisation de ces désinfectants pendant la vaccination, voire parfois de rajouter de la poudre de lait 39 ou du thiosulfate de sodium à l'eau de boisson pour stabiliser la suspension vaccinale. Les vaccins inactivés requièrent d'être injectés individuellement (par voie intramusculaire). Cette vaccination est généralement réalisée quelques semaines avant l'entrée en ponte, en rappel d'un programme vaccinal basé sur les vaccins atténués. Usuellement, tous les animaux sont vaccinés par nébulisation (vaccin vivant) à un jour d'âge au couvoir (le plus souvent avec la souche H120). Compte tenu de l'hétérogénéité de la réponse immunitaire des animaux (hétérogénéité de taille, anticorps d'origine maternelle), une seconde vaccination avec un vaccin vivant (par nébulisation ou dans l'eau de boisson en élevage) sera nécessaire vers 2-3 semaines d'âge, avec le même vaccin, ou avec un sérotype différent si la prévalence est forte (ex : H120 et/ou 4/91). Pour les animaux à durée de vie longue, une troisième vaccination avec un vaccin vivant est effectuée vers 7-8 semaines, suivie enfin d'une injection de vaccin inactivé au moins 8 semaines après la dernière vaccination, contenant des souches du sérotype Massachusetts (ex : M41) et d'autres sérotypes variants. Par la suite, les poules pondeuses sont vaccinées en général toutes les 8 à 10 semaines au moyen d'un vaccin atténué. (Picaut, sans date).

Tableau 2 : Exemple de protocole de vaccination BI sur des poulettes futures pondeuses (De Wit, 1998)

Age des animaux	Vaccin	Mode d'administration
J1	Atténué H120	Nébulisation
J20	Atténué 4/91	Nébulisation
J40	Atténué H120	Nébulisation
J70	Atténué 4/91	Eau de boisson
J120	Inactivé M41	Injection IM

Partie Expérimentale

I. -Problématique et objectif

La bronchite infectieuse (IB) est une maladie virale aiguë, hautement infectieuse et économiquement importante chez les poulets, causée par le gamma-coronavirus aviaire virus de la bronchite infectieuse (IBV). Ce virus est caractérisé par une grande variabilité génétique et pathogène, et de nouvelles souches continuent d'émerger. Selon la souche d'IBV, l'infection peut provoquer une maladie aiguë des voies respiratoires supérieures, et une néphrite.

La transmission de l'IBV se fait par inhalation, ou par contact direct avec des objets contaminés et la morbidité est généralement de 100% ; alors que la mortalité peut varier en fonction d'une variété de facteurs liés à l'hôte, l'âge, le statut immunitaire des oiseaux, la souche du virus infectant, et si des pathogènes bactériens ou viraux secondaires sont impliqués.

Les manifestations cliniques et les résultats post-mortem des oiseaux affectés peuvent aider à diagnostiquer une maladie, mais un diagnostic de laboratoire est nécessaire pour confirmer les maladies.

De même, diverses méthodes de diagnostic, comme le test immuno-enzymatique (ELISA), ont été fréquemment utilisées dans le monde entier pour détecter les virus à partir d'échantillons prélevés sur le terrain.

En effet, la mise en évidence d'une augmentation des titres d'anticorps contre le VBI entre les sérums précliniques et convalescents peut être utilisée pour diagnostiquer la maladie.

En Algérie, dans les élevages de poulets de chair, plusieurs pathologies qui affectent le système respiratoire des oiseaux sont présentes, des maladies virales et des maladies bactériennes comme la mycoplasmosse et la colibacillose. La bronchite infectieuse en elle-même ne provoque pas un taux de mortalité élevé, mais les surinfections bactériennes et notamment la colibacillose qui vont aggraver la maladie, et augmenter la mortalité dans les élevages de poulets de chair en Algérie.

Les signes cliniques et les lésions ne sont souvent pas pathognomoniques, et il existe une concomitance des maladies, ce qui entraîne une confusion dans le diagnostic.

Par conséquent, la présente étude a été entreprise pour trouver une relation entre les paramètres de diagnostic de la maladie ; les signes cliniques et les lésions post-mortem, les tests sérologiques pour le diagnostic de la bronchite infectieuse dans les troupeaux de poulets de chair et pour évaluer les facteurs de risque associés à la maladie dans les fermes affectées.

II. -Matériels et méthodes :

Approbation éthique

Procédures expérimentales approuvées par le Comité institutionnel pour la protection des animaux de l'Administration nationale de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique d'Algérie (98-11, loi du 22 août 1998).

II. 1. Région et durée d'étude :

L'étude a été effectuée durant la période du mois de Mars à Juillet 2021 dans la région de Blida au niveau de 5 élevages avicoles privés de type poulet de chair.

II. 2. Echantillonnage (Elevage) :

Un total de 150 sujets ont été échantillonnés au hasard dans 05 élevages de poulets de chair (15 échantillons/élevage). Selon notre protocole, deux échantillons ont été prélevés dans chaque élevage ;

Le premier a été effectué les premiers jours après l'apparition des premiers signes cliniques.

Le second a été effectué, deux à trois semaines plus tard.

Les échantillons de sang ont été prélevés dans la veine de l'aile, dans des tubes secs et centrifugés (5000 rpm pendant 10 min) le même jour pour récupérer les sérums qui ont été stockés dans des tubes à essai 'Eppendorf' et congelés à -20°C jusqu'à l'analyse.

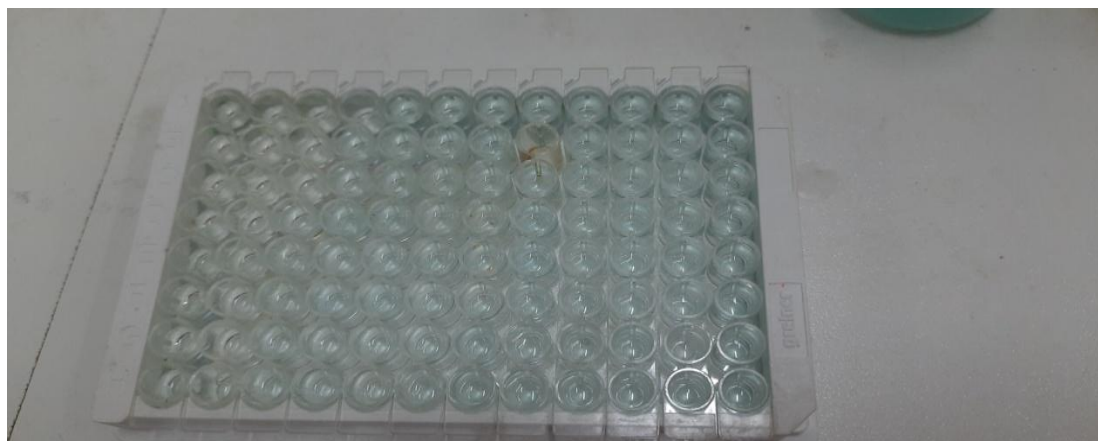


Figure 9 : plaque ELISA

II. 3. Méthode au laboratoire (Sérologie) :

La technique Elisa indirecte a été effectuée en utilisant des kits de la société ID. Vêt Innovative Diagnostics : ID Screen[®] NDV Indirect (IBV : virus de la bronchite infectieuse),

Les groupes de prélèvements effectués à différentes dates et provenant des différents bâtiments d'élevages ont été simultanément analysés avec le même kit afin d'assurer la comparabilité des résultats fournis par le test et de bien interpréter la cinétique des anticorps (AC) ; les sérums ont été dilués au 1/500e.

La lecture des plaques Elisa a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre DIA LAB ELX 800 muni d'un filtre de 450 nm.

La densité optique (DO) obtenue a été transformée en titre d'Ac, la transformation des DO,

les tests de validité, les titres moyens, et le coefficient de variation ont été automatiquement calculés par bande et par série de prélèvements à l'aide d'un logiciel fourni par le laboratoire (IDSoft™).

➤ **Information générale :**

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

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

➤ **Description et principe :**

- Les cupules sont sensibilisées avec l'antigène IB purifié.
- Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les cupules. Les anticorps spécifiques d'IB, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.
- Un conjugué anti-poule marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les cupules. Il se fixe aux anticorps anti-IB, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.
- Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB)
- La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :
- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.

- En l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.
- La lecture est réalisée à 450 nm.

➤ **Composants du kit**

• **Réactifs :**

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

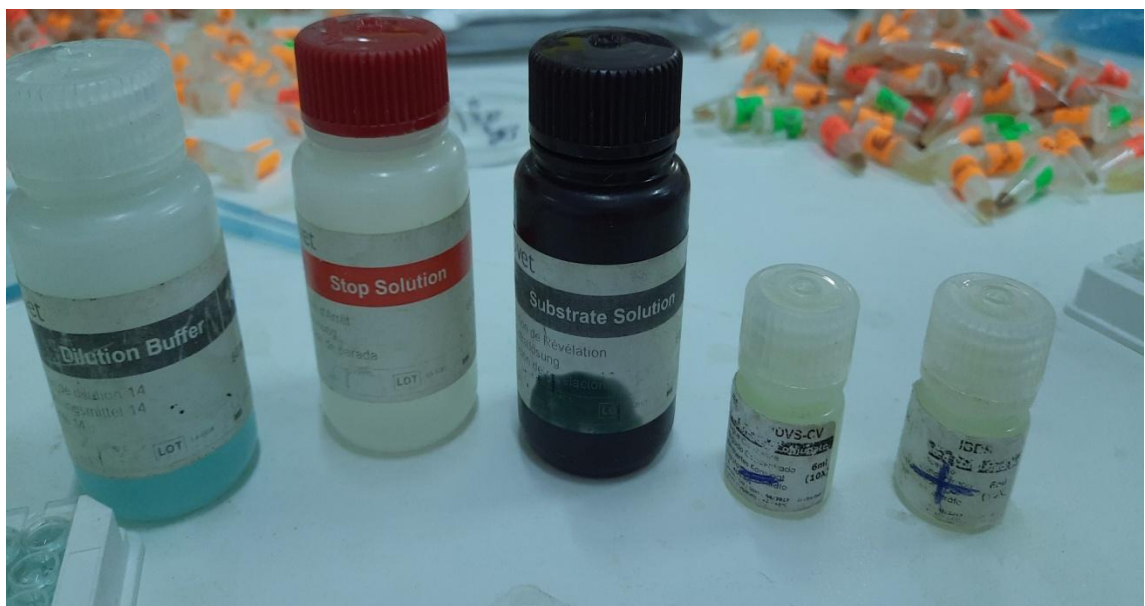


Figure 10 : composition de kit ELISA

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

➤ **Matériel nécessaire :**

1. Pipettes de précision mono ou multicanaux capables de délivrer des volumes de 5µl, 10µl, 100µl, 200µl.
2. Embout de pipette à usage unique.
3. Lecteur de microplaque à 96 puits.
4. Eau distillée ou désionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.

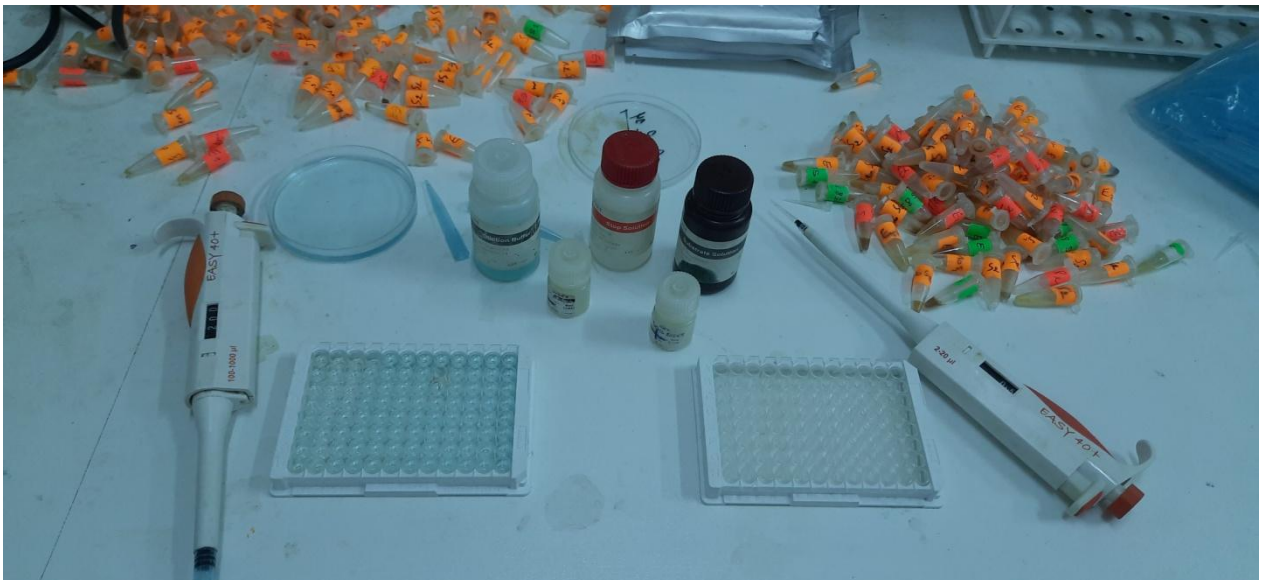


Figure 11 : matériels nécessaire

➤ **Préparation des échantillons :**

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une microplaque de 95 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transférer dans la plaque ELISA avec pipette multicanaux.

➤ **Préparation de la Solution de lavage :**

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

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

➤ **Mode opératoire :**

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

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

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

2. Dans la plaque ELISA, ajouter

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

3- Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3min)** à température ambiante (21°C +/- 5°C).

4- Préparer le **Conjugué 1X** en diluant **conjugué concentré 10X** au 1/10^{ème} en **Tampon de dilution 3**.

5- Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300 µl de solution **de lavage 1X**. Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.

6- Distribuer 100 µl de **Conjugué anti-poule-HRP 1X** dans chaque cupule.

- 7- Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3 min)** à température ambiante (21°C +/- 5°C).
- 8- Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300µl de solution **de lavage 1X**. Eviter le dessèchement des cupules entre lavages
- 9- Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque cupule.
- 10- Incuber **15 min (+/- 2 min)** à température ambiante (21°C +/- 5°C) à l'obscurité.
- 11- Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape #9.
- 12- Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.



Figure 12 : Méthodologie

- **Validation :**
- Le test est validé si :
- ✓ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.250.

$$DO_{CP} > 0.250$$

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

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

➤ **Interprétation**

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

1-Calcul du rapport S/P

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

$$DO_{CP} - DO_{CN}$$

2- Calcul du titre en anticorps

$$\text{Log}_{10}(\text{titre}) = 0.97x \text{log}_{10}(s/p) + 3.449 \text{ titre} = 10^{\text{log}_{10}(\text{titre})}$$

Tableau3

13- : Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

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

III. Interprétation des résultats ELISA

Pour interpréter les résultats ELISA, les paramètres suivants ont été pris en compte : La présence de signes cliniques et de lésion post-mortem lors de l'autopsie, la cinétique des anticorps ; les

titres entre le premier et le second prélèvement. De plus, principalement selon les lignes de base de l'interprétation des volailles fournies par le fabricant des kits IDvet ELISA.

Selon les lignes de base d'IDvet, les titres moyens d'anticorps attendus après l'utilisation d'un vaccin vivant, varient de 500 à 1000 après 3-5 semaines après la vaccination. Les titres moyens d'anticorps attendus après l'utilisation de deux vaccins vivants + Variant, varient de 1000 à 2000 après 3-5 semaines après la vaccination. Le coefficient de variation (CV) doit être compris entre 40% et 60% pour une bonne vaccination. En dessous du seuil de 500, cela signifie qu'il y a une mauvaise ou absence de vaccination ou une maladie immunodépressive, et au-dessus de 1000 pour un seul vaccin vivant et 2000 pour deux vaccins vivants+ variante avec un CV très serré signifie qu'il y a un passage viral.

IV. Observation des facteurs de risque

Une enquête standardisée a été utilisée pour évaluer les facteurs de risque associés à la mortalité observée. L'enquête a porté sur les paramètres suivants : caractéristiques du troupeau, lésions cliniques et nécropsiques, région, climat, saison, âge d'apparition, densité de peuplement, taux de mortalité, hygiène, souche des poulets de chair élevés et programmes de vaccination.

V. Analyses statistiques

Tout d'abord, des statistiques descriptives ont été utilisées pour caractériser les troupeaux en fonction des différents facteurs. Ainsi, les analyses statistiques ont été réalisées avec SAS (version 9.1.3 ; SAS Institute Inc., Cary, NC). Avant de procéder à l'analyse statistique, l'examen des distributions des titres d'anticorps a indiqué à l'aide de (PROC UNIVARIATE, test de Shapiro-Wilk) que la plupart ne pouvaient être considérés comme normalement distribués. Les titres d'anticorps de la maladie au fil du temps ont été analysés en ajustant les effets fixes du jour, du groupe et de l'interaction jour*groupe dans une analyse de variance à mesures répétées en utilisant des modèles PROC MIXED avec l'effet aléatoire du troupeau (SAS Inst. Inc. 9.1). La structure de covariance utilisée [symétrie composée ou autorégressive (AR1)] a été choisie en fonction du critère d'information d'Akaike. Le schéma de notre modèle peut être résumé comme suit : $Y_{ijk} = \mu + G_i + T_k + GT_{ik} + \epsilon_{ijk}$. Où Y_{ijk} = titre d'anticorps, μ = moyenne générale, G_i = effet du groupe, T_k = effet du moment de l'échantillonnage ($k=1$ et 2), GT_{ik} = effet du groupe \times temps et ϵ_{ijk} = erreur résiduelle aléatoire. A Les graphiques à lignes empilées des changements de titre d'anticorps ont été générés à l'aide de Prism 5.01 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA USA) (Messai et al., 2018 ; Salhi et al., 2020).

VI. Résultats

Etude sérologique :

Etude de la séroconversion :

Au total de 5 élevages testés, 3 (60%) qui présentent une séroconversion pour la bronchite infectieuse avec CV faible (27 à 45%). Ces élevages qui présentent des signes spécifiques (clinique et lésionnel) et taux de mortalité variable (21-39%) (Tableau 13).

Tableau 4: Score sérologique

Pathologie	Anticorps		CV (%)	SE	P	Seropositivité (%)
	Moy 1	Moy 2				
IB	1973.52	4675.98	27-45	326.53	<0.0001	60

VII. Sensibilité et spécificité au diagnostic :

Tableau 5 : Sensibilité au diagnostic (%) et spécificité (%), avec 95 pour cent des intervalles de confiance (CI) et la prévalence du test basé sur les signes cliniques de BI.

Pathologies	Sensibilité (%) (95%CI)	Spécificité (%) (95%CI)	Prévalence (%) (95%CI)
BI	80	98	50

L'utilisation de signes cliniques et lésionnels pour détecter la bronchite infectieuse présente une spécificité de 98%.

Autrement, tous les sujets suspectés d'IB ont une séro-conversion positive. Cependant, la sensibilité est de 80 % pour la bronchite infectieuse, ces résultats montrent que le diagnostic clinique et lésionnel est fiable (Tableau).

VIII. Les facteurs influençant l'apparition de la bronchite infectieuse :

Tableau 6 : Comparaison des moindres carrés des moyennes (MCR) et de l'erreur standard (ES) du titre d'anticorps anti-IB entre les facteurs de risque (zone, climat, saison, âge, densité, mortalité, hygiène, souche et protocoles des groupes de vaccination).

Paramètre	Groupe	T 1	T 2	SEM	P ¹	P		
						Groupe	T	G* T
Climat	Humide	1715.66	2624.74	535.39	0.01	0.89	0.00 6	0.62
	sec	1577.13	2872.91	382.58	0.13			
Saison	printemps	1278.50	1740.50 _a	550.78	0.55	0.008	0.13	0.18
	été	1661.25	3252.40 _b	301.67	0.0005			
	automne	1038.50	948.00 _a	674.56	0.92			
Age	≤30	1220.14	1312.00 _a	522.13	0.90	0.01	0.07	0.11
	>30	1587.35	3047.78 _b	288.05	0.0007			
Densité	> 10	1772.33	3658.60 _b	332.69	0.0002	0.001	0.03	0.08
	≤ 10	1277.73	1771.55 _a	388.50	0.52			
Mortalité	<10	1812.72	3048.55	705.00	0.15	0.71	0.01	0.90
	≥10	1687.62	2805.03	371.14	0.01			
Hygiène	bonne	1206.86	1788.71 _a	571.71	0.43	0.02	0.00 4	0.60
	Intermédiaire	2076.32	2076.32 _b	549.96	0.02			
	mauvaise	2001.62	3139.70 _b	447.80	0.03			
Souche	Arbor acres	2108.08	3274.80	564.63	0.04	0.48	0.00 5	0.86
	Cobb 500	1227.18	1227.18	1227.1 8	0.04			
	Big fast	2304.99	3231.72	610.57	0.04			
Vaccination	3	1912.21 _a	3314.65 _a	537.54	0.03	0.02	0.00 3	0.87
	2	3065.21 _a b	4162.75 _a b	618.19	0.04			
	1	4448.16 _b	5366.03 _b	1038.2 8	0.19			

IX. Discussion :

Les résultats de la présente étude ont largement confirmé nos prévisions. Les élevages échantillonnés sont suspectés d'être infectés par des maladies virales telles que la BI, qui expriment des symptômes cliniques et des lésions typiques avec une morbidité et une mortalité élevées.

La vaccination utilisée est un vaccin vivant pour tous les élevages. Nos résultats d'analyse sérologique montrent que les élevages échantillonnés présentent une séroconversion positive de 60% pour IB.

D'une part, la réponse immunitaire à une maladie virale est estimée par la mesure de la réponse sérologique objectivée par la détection d'anticorps spécifiques produits soit en réponse à l'infection, soit suite à une vaccination (Picault et al., 1993 ; Brigitte et al., 1997). D'autre part, les élevages protégés doivent présenter une moyenne de titres supérieure au seuil de protection pour toutes les dates d'analyse sans être très élevée par rapport au titre résultant de la vaccination et ce en l'absence de signes cliniques spécifiques (Gardin et al., 2002).

Les troupeaux de nos échantillons étaient suspectés d'être infectés par l'IB et présentaient des signes cliniques et des lésions nécropsiques typiques avec une morbidité élevée et une faible mortalité, à l'exception de la forme rénale où la mortalité peut être élevée ; les vaccins utilisés étaient des vaccins vivants pour tous les élevages. Les manifestations cliniques et nécropsiques des oiseaux atteints peuvent aider à diagnostiquer une maladie, mais un test de laboratoire est nécessaire pour la confirmer.

Cependant, des foyers ont été signalés dans les élevages vaccinés malgré le fait que la vaccination soit largement appliquée. Bien que le test ELISA ne permette pas de distinguer les anticorps post-vaccinaux des anticorps post-infectieux, l'absence ou la présence de signes cliniques et le type de vaccin utilisé doivent être pris en compte. Pour cela, nous avons prélevé des échantillons appariés ; le premier échantillon est prélevé au début des signes cliniques de la maladie et le second, deux à trois semaines plus tard. En effet, comme la concentration d'anticorps augmente entre les 02 séries de sérums prélevés, cela indique que nous avons eu une stimulation du système immunitaire qui pourrait être due à une infection récente comme le rapportent Lopez (2006), Salhi et al. (2018), Messaï et al. (2019) et Salhi et al. (2020).

Cliniquement, les signes cliniques les plus fréquents de l'IB chez les poulets de chair étaient : râles, éternuements, toux, écoulement nasal pour la forme respiratoire suspectée, et

diarrhée aqueuse, déshydratation, taux de mortalité relativement élevé pour la forme néphropathogène suspectée, ces signes étaient similaires à ceux rapportés par Abdel-Moneim et al. (2009), Kumthekar et al. (2011) et Awad et al. (2016).

Les lésions post-mortem étaient : trachéite, dépôt de fibrine et complication de colibacillose pour la forme respiratoire. Puis, une néphrite interstitielle, dépôt d'acide urique au niveau rénal et viscéral, dépôt d'acide urique au niveau articulaire pour la forme néphropathogène. Ces observations sont conformes à celles rapportées par Abdel-Moneim et al. (2009), Kumthekar et al. (2011) et Awad et al. (2016).

Selon les signes cliniques et les lésions observés, l'IB chez les poulets de chair est généralement divisé en formes néphropathogènes et respiratoires. Ces dernières années, Bing et al. (2007) ont signalé que l'IB néphropathogène était prévalent chez les poulets vaccinés, entraînant une mortalité élevée pour les poulets âgés de 20 à 50 jours.

La surpopulation semble être un des facteurs favorisant l'introduction et l'implantation du virus. Cependant, l'impact clinique de ces variants sur l'IB semble dépendre en grande partie des conditions d'élevage des oiseaux, c'est-à-dire de la densité et de la gestion technique et sanitaire (biosécurité) comme l'ont rapporté Jackwood et de Wit, (2020).

Il existe des associations d'âge et de saison avec les infections IBV rapportées dans les troupeaux, la maladie est plus prévalente entre 3 et 6 semaines d'âge, et l'incidence est la plus élevée en hiver (Javed et al., 1991). La bronchite infectieuse est une maladie respiratoire virale aiguë très contagieuse qui touche les poulets de tous âges.

Tous les âges sont sensibles, mais les signes cliniques sont plus sévères chez les jeunes poussins (Animas et al., 1994). Les maladies causées par les coronavirus, comme l'IBV, présentent une saisonnalité hivernale avec la présence de porteurs de virus persistants (Holmes, 2003 ; Raj et Jones, 1997). L'origine de cette saisonnalité n'est pas claire. Elle peut être attribuée à des changements environnementaux, à des modifications de la physiologie de l'hôte ou à des altérations du virus (Dowell, 2001).

La prévention de la maladie de l'IB est basée sur l'hygiène et la prophylaxie médicale, à cet effet il est important de souligner qu'aucun vaccin ne peut résoudre le problème de l'IB si les précautions nécessaires ne sont pas prises, telles que le respect des méthodes d'élevage tout-venant/tout-venant, le nettoyage et la désinfection des élevages et des vides sanitaires (Jackwood et de Wit, 2020).

La désinfection en particulier et l'hygiène de l'élevage, de l'alimentation et du logement permettent de réduire la pression de ce virus dans un élevage.

Il est bien connu que les épidémies de bronchite infectieuse dans les troupeaux vaccinés sont assez fréquentes, peut-être en raison d'une vaccination inappropriée ou de l'émergence rapide de nouvelles souches (Smati et al., 2002).

Dans de nombreux pays africains, les sérotypes de l'IBV de masse sont à l'origine de foyers sporadiques d'IB dans l'industrie avicole commerciale. Un certain nombre de variants locaux sont signalés en Afrique en plus des sérotypes vaccinaux largement connus tels que les souches Mass et 4/91 (Bande et al., 2017).

Le succès de la vaccination dépend également du choix de la souche vaccinale et du protocole de vaccination (Van den Berg et al., 2000 ; Jordan, 2017 Rottier et al., 2017).

L'incidence de l'IB dans les troupeaux vaccinés peut être due à des pratiques de vaccination inadéquates, Messaï et al. (2019) ont rapporté que les facteurs suivants influencent le succès de la vaccination : La méthode de vaccination inadéquate comme la mauvaise qualité de l'eau, l'eau qui peut contenir des désinfectants, ce qui neutralise le vaccin vivant, puis le nombre insuffisant d'auges dans les élevages, le non-respect de la chaîne de refroidissement du stockage des vaccins, et la non-utilisation des stabilisateurs de vaccins lors de sa préparation dans l'eau, sont des causes d'échec de la vaccination.

De plus, le mode d'administration par voie orale via l'eau de boisson n'est pas la technique recommandée pour les virus à tropisme respiratoire. La nébulisation aurait donné de meilleurs résultats et plus de protection pour les volailles. De Wit et al. (2017) ont rapporté que la vaccination avec une seule souche Mass protège le système respiratoire de 76,5% jusqu'à 100%, alors que l'utilisation de Mass et d'un booster avec un variant 793B donne une protection d'ordre de 99 à 100, contre les souches variantes sauvages qui circulent sur le terrain, ce qui est en corrélation avec nos résultats.

Lorsque nous avons fait des rappels dans les protocoles de vaccination deux et trois, la différence dans les titres des anticorps n'était pas grande entre le premier et le deuxième temps d'échantillonnage, ce qui peut expliquer que les troupeaux étaient bien protégés par rapport à ceux où nous avons utilisé un seul vaccin.

X. Conclusion :

Notre enquête épidémiologique et sérologique menée dans le cadre de cet essai a permis d'obtenir des informations importantes sur le coronavirus aviaire en tant que maladie virale dominante chez les poulets de chair, et de constater que la séropositivité de l'IB était de 60 %.

En outre, les résultats suggèrent également que les facteurs de risque liés à la biosécurité, aux pratiques d'élevage et au protocole de vaccination semblent jouer un rôle important dans la gravité de la maladie observée dans les exploitations touchées.

Les manifestations cliniques et les résultats post-mortem des oiseaux affectés peuvent aider à diagnostiquer une maladie, mais le diagnostic de laboratoire est nécessaire pour confirmer les maladies.

Si ces facteurs sont atténués, la gravité des problèmes d'IB dans les exploitations serait grandement réduite, ce qui entraînerait un meilleur rendement des carcasses et une réduction des condamnations à l'abattoir.

Références bibliographiques

- ❖ **Abassi H., 1999.** *Renal cryptosporidiosis (Cryptosporidium baileyi) in specific-pathogenfree chickens experimentally coinfectd with marek's disease virus.* Avian Dis. s.l.:s.n.
- ❖ **Ambali A.G., J. R., 1990.** *Early pathogenesis in chicks of infection with an enterotropic strain of infectious bronchitis virus avia diseases..*
- ❖ **Andrade, 1983.** *Vaccination of day-old broilers against infectious bronchitis: Effect of vaccine strain and route of administration..* 27 éd. s.l.:Avian Dis..
- ❖ **Animas, 1994.** *Experimental infection with avian infectious bronchitis virus (Kagoshima-34 strain) in chicks at different ages.* s.l.:j.vet.med.sci.,.
- ❖ **Ahmed S. Abdel-Moneim , 2017** : emerging and re-emerging infectious diseases of livestock pp133-166 / cite as : coronaviridae :infectious bronchitis virus.
- ❖ **ANIMAS S.B., OTSUKI K., HANAYAMA M., SANEKATA T.,TSUBOKURA M. 1994.**Experimental infection with avian infectious bronchitis virus (Kagoshima-34 strain) in chicks at different ages. J. Vet. Med. Sci., 56(3):443-7 p.
- ❖ **Anonyme 2010:**Etiology and immunology of infectious bronchitis virus
- ❖ **ANONYME ,2019** :avian infectious bronchitis.
- ❖ **Alamargot. J, 1982**
 - ❖ - Appareil digestif et ses annexes, appareil respiratoire, appareil urinaire, nécropsie d'un oiseau, principales lésions des volailles.
 - ❖ - Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires, édit. Le point vétérinaire, 15 - 129
- ❖ **Bacon, 2004.** *Retrospective evidence that the MHC (B haplotype) of chickens influences genetic resistance to attenuated infectious bronchitis vaccine strains in chickens,Avian pathol.* s.l.:s.n.
- ❖ **Bacon, 2004.** *Evidence that the MHC (B haplotype) of chickens influences genetic resistance to attenuated infectious bronchitis vaccine strains in chickens,.* Avian pathol éd. s.l.:s.n.
- ❖ **Bailey, 1995.** *Lead toxicosis in captive, Vet Rec.* s.l.:s.n.
- ❖ **Benyeda, 2010.** *Comparative histopathology and immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and793/B serotypes of infectious bronchitis virus infection in chickens.* s.l.:J.,Comp.Pathol..
- ❖ **Bijlenga, 2004.** *Development and use of the H strain ofavian infectious bronchitis virus from The Netherlands as a vaccine: a review..* 33 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **Bach J. F, 1986** : Immunologie. 3ème édition. Flammarion médecine-sciences. Edition Paris,P. 190.

- ❖ **Bendjelloul, 2017** : identification d'hétérakis gallinarum isolé du poulet de chair et poulet fermier (gallus gallus) dans les localités de mesra et enaro (mostaganem).
- ❖ **bigot.k, tesseraud.s, taouis.m, et picard.m, 2001** : Alimentation néonatal et développement précoce du poulet de chair .
- ❖ **Boltz D.A., Nakai M., Bahra J.M, 2004** :Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster, Avian Dis.(2004) 48:909–915.
- ❖ **Brice ROBINE et Pierre-Yves MOALIC, 2009** : une manifestation clinique de la bronchite infectieuse: les poules fausses pondeuses; évolution en France des coronavirus responsables .
- ❖ **Bruder, M. 1991** : Le diagnostic sérologique de la bronchite infectieuse aviaire par la méthode d'inhibition de l'hémagglutination. Quelques exemples dans six élevages de poules pondeuses. Th. : Med. Vet. : Lyon, 1991. 74.
- ❖ **Brugère-Picoux j. et Silim A., 1992** : Manuel de pathologie aviaire. Edition France Agricole, France .
- ❖ **Buldgen, A, Detimmerman, F, Sall, B. And Compfere,R,1992** : Etude des paramètres démographiques et zootechniques de la poule locale du bassin arachidier sénégalais. Revue Elev.Méd. Vét. Pays Trop. 45:341-347 p.
- ❖ **Casais, 2005**. *Gene 5 of coronavirus infectious bronchitis virus is not essential for replication, 79, P : 8065-8078.. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 2003**. *Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis, Avian Pathol. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 2003**. *Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis, Avian Pathol. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 2005**. *Susceptibility of domestic and other birds to coronaviruses. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh D., 2007**. *Coronavirus avian infectious bronchitis virus, Vet, Res.. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 1984**. *Induction of humoral neutralising and haemagglutination-inhibiting antibody by the spike protein of avian infectious bronchitis virus. Avian pathol. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 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. s.l.:journal of general virology.*
- ❖ **Cavanagh, 2008**. *Infectious Bronchitis Indeseases of poultry. 12 éd. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 1997**. *Infectious bronchitis IN. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 2003**. *Infectious bronchitis in dideases of poultry. 11 éd. s.l.:s.n.*
- ❖ **Cavanagh, 1997**. *Infectious bronchitis In : Diseases of poultry. s.l.:Tenth edition.*
- ❖ **cavanagh, 2003**. *severe acute respiratory syndrome vaccine development:experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus,Avian pathol. s.l.:s.n.*

- ❖ **Cavanagh, 2007.** *Coronavirus avian infectious bronchitis virus.* Vet. Res. s.l.:s.n.
- ❖ **Collisson, 2000.** *Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry.* 24 éd. s.l.:Dev.Comp.Immunol.
- ❖ **Cook, 1968.** *Duration of experimental infectious bronchitis in chickens.* Res, Vet Sci., s.l.:s.n.
- ❖ **Cook, 1986.** *Infectious bronchitis immunity: Its study in chickens experimentally infected with mixtures of infectious bronchitis virus and Escherichia coli.* 67 éd. s.l.:J Gen Virol..
- ❖ **Cook, 1991.** *Effect of in ovo bursectomy on the course of an infectious bronchitis virus infection in the line C white Leghorn chickens.* 118 éd. s.l.:Archives of virology.
- ❖ **Cook, 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.* 20 éd. s.l.:Avian Pathology.
- ❖ **corrard, 2008.** s.l.:s.n.
- ❖ **Corrand., 2008.** *Evaluation de l'efficacité des souches vacinales contre un variant de la bronchite inectieuse aviaire isolé au Quebec.* Toulouse: Université Paul-Sabatier .
- ❖ **Crinion, 1971.** *Abnormalities in laying chickens following exposure to infectious bronchitis virus at one day old.* s.l.:Avian Dis.
- ❖ **Crinion, 1971.** *Pathogenesis of oviduct lesions in immature chickens following exposure to infectious bronchitis virus at one day old.* s.l.:Avian Dis.
- ❖ **Cavanagh D., Naqi S.A ,1997.** Infectious bronchitis .In : CALNEK B.W., BARNES H. J., BEARD C. W., *et al.* Diseases of poultry, Tenth edition, 1997, 511-526.
- ❖ **cavanagh, d. 2007.** coronavirus avian infectious bronchitis virus. respiratory viruses of domestic animals. vet.res. volume 38, number 2,281-297 p.
- ❖ **Cintia hiromi okino, Marcos Antonio Zanella Mores, Iara Maria Trevisol, Arlei Coldebella, Hélio José Montassier, Liana Brentano. 2017** : Early immune responses and development of pathogenesis of avian infectious bronchitis viruses with different virulence profiles .
- ❖ **Constantin. A, 1988**
- ❖ - Le système immunitaire chez les oiseaux.
- ❖ - Aviculture française, édit. Rosset.R, 455 - 475.
- ❖ **Darbyshire, 1985.** *Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus.* 38 éd. s.l.:Research in Veterinary Science.
- ❖ **De Wit, 2000.** *Detection of infectious bronchitis virus.* 29 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **De wit, 1992.** *Comparison of the enzyme linked immunosorbent assay the haemagglutination inhibition test and the agar gel precipitation test commercial broilers.* 21 éd. s.l.:Avian pathology.

- ❖ **De Wit, 1998.** *Transmission of infectious bronchitis virus within vaccinated and unvaccinated groups of chickens.* 27 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **De Wit, 1995.** *Detection by immunofluorescent assay of serotype-specific and group-specific antigens of infectious bronchitis virus in tracheas of broilers with respiratory problems.* 24 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **De Wit, 1998.** *Transmission of infectious bronchitis virus within vaccinated and unvaccinated groups of chickens.* 27 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **Dhinakar Raj, 1997.** *Infectious bronchitis virus:immunopathogenesis of infection in the chicken, Avian pathol;* s.l.:s.n.
- ❖ **Dier, 2011.** *Maladies des volailles.* 3 éd. s.l.:s.n.
- ❖ **Fabricant, 2000.** *The early history of infectious bronchitis.* s.l.:Avian Dis..
- ❖ **Faruku Bande , siti suri arshad ,abdul rahman omar ,mohd hair bejo ,muhammad salisu ,abubakar ,and yusuf abba , 2016;**pathogenesis and diagnostic approaches of avian infectious bronchitis.
- ❖ **Gelb, 2005.** *S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000).* 34(3) éd. s.l.:Avian pathology.
- ❖ **Guérin et al., 2011.** s.l.:s.n.
- ❖ **Guérin , 2011.** s.l.:s.n.
- ❖ **Glick B., 1994:** The bursa of Fabricius: The evolution of a discovery, Poultry sci., 73, 979-83.
- ❖ **Gonzalez, j. M., penzes, z., almazan, f., calvo, e. & enjuanes, l. 2002.** Stabilization of a full-length infectious DNA clone of transmissible gastroenteritis coronavirus by the insertion of an intron. Journal of Virology. vol. 76 no.9 4655-4661p.
- ❖ **Haijema, 2003.** *Switching species tropism: an effective way to manipulate the feline coronavirus genome.* 77 éd. s.l.:J.Virol..
- ❖ **Hopkins, 1974.** *Serological comparisons of strains of infectious bronchitis virus using plaque purified isolates.* s.l.:Avian.,Pathol..
- ❖ **Huang, 2006.** *Development of attenuated vaccines from Taiwanese infectious bronchitis virus strains.* 24 éd. s.l.:Vaccine.
- ❖ **Ignjacovic, 2000.** *Avian infectious bronchitis virus, Rev.* s.l.:s.n.
- ❖ **Ignjatovic, 1993.** *Structural proteins of avian infectious bronchitis 136 virus ; role in immunity and protection.* s.l.:s.n.
- ❖ **Ignjatovic, 1995.** *Immune responses to structural proteins of avian infectious bronchitis virus.* s.l.:Avian pathol..
- ❖ **Janse, 1994.** *Leukocyte subpopulations in kidney and trachea of chickens infected with infectious bronchitis virus.* 23 éd. s.l.:Avian.Pathol..

- ❖ **Jones, 1972.** *Persistence of virus in the tissues and development of the oviduct in the fowl following infection at day old with infectious bronchitis virus.* 13 éd. s.l.:Res.Vet.sci.
- ❖ **Jean Bosco ,2011 .** Mémoire de diplôme de master en santé publique Vétérinaire, séroprévalence de la bronchite infectieuse en aviculture traditionnelle au Sénégal.
- ❖ **Jean-L-uc Guérin, Cyril Boissieu Mise à jour .2008,** La bronchite infectieuse.

- ❖ **Karnik, 2005.** *Genotypes du virus de la bronchite infectieuse et du pneumovirus chez les volailles en Europe.* Nantes: Ecole national vétérinaire de Nantes .
- ❖ **Klievn, 1988.** *Immunity and cross-protection to nephritis produced by Australian infectious bronchitis viruses used as vaccines.* 17 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **Koné P, Enede F, Rabeson A, Sene M, Feussom-Kameni Jm, Gueye A, Alamedji R, Missohou A, Akakpo A, 2011 :** Serological and virological study of Newcastle disease and avian influenza in chickens in rural areas in Senegal. Trop. An. Health Pro. In process.
- ❖ **Lukert, sans .date.** *Comparative sensitivities of embryonnating chickens eggs and primary chicken embryo kidney and liver cell cultures to infectius bronchitis virus.* s.l.:s.n.

- ❖ **M., B., 1991.** *Le diagnostic sérologique de la bronchite infectieuse aviaire par la méthode d'inhibition de l'hémagglutination. Quelques exemples dans six élevages de poules pondeuses.* 74 éd. Lyon: Th: Med. Vet..
- ❖ **Macdonald, 1976.** *Observations on the effects of the H52 and H120 vaccine strains of the infectious bronchitis virus in the domestic fowl..* 5 éd. s.l.:Avian Pathol..
- ❖ **Mockett, 1984.** *Monoclonal antibodies to the S1 spike and membrane proteins of avian infectious bronchitis coonavirus strain Massachusetts M41.* J.Gen éd. s.l.:s.n.
- ❖ **Mockett, 1981.** *Comparative studies with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) fo Marius Et G. Bennejean,* Bull. Acad. Vét. de France, 1981, 54, 323-328 :
Application de la technique Elisa à la recherche des anticorps sériques de la bronchite infectieuse aviaire après vaccination et épreuve.
- ❖ **Montassier HJ, 2010:** molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus.
- ❖ *r antibodies to avian infectious bronchitis virus.* 10 éd. s.l.:Avian pathology.

- ❖ **Missohou A, Akakpo A, 2011 :** Serological and virological study of Newcastle disease and avian influenza in chickens in rural areas in Senegal. Trop. An. Health Pro. In process.

- ❖ **Nakamura, 1996.** *Comparison of the effect of 137 infectious bronchitis and infectious laryngotracheitis on the chicken respiratory tract.* 114 éd. s.l.:Journal of comparative pathology.
- ❖ **Nix, 2000.** *Emergence of subtype strains of the Arkansas serotype of infectious bronchitis virus in Delmarva broiler chickens.* 44 éd. s.l.:Avian Diseases..
- ❖ **Picaut, s.d.** *L'épizootie récente de bronchite infectieuse aviaire en France: Importance, évolution et étiologie.* s.l.:Laboratoire central de recherche avicole et porcine.
- ❖ **Pradhan, S. K., Kamblea, N. M., Pillaia, A. S., Gaikwada, S. S., Khulapea, S. K.,**
- ❖ **Ratanasethakul, 1983.** *The effect of route of infection and strain of virus on the pathology of Australian infectious bronchitis.* 60 éd. s.l.:Aust Vet J..
- ❖ **.Reddyc, M. R., Mohana, C. M., Katariab, J. M.** (2014). Recombinant nucleocapsid protein based single serum dilution ELISA for the detection of antibodies to infectious bronchitis virus in poultry. *Journal of Virological Methods*, 209.
- ❖ **Rajesh Singh, 2019 :** concept notes on the lymphatic system of poultry.
- ❖ **Smati, 2002.** *Molecolar characterization of three new avian infectious bronchitis virus (IBV) strains isolated in Quebec Virus Genes.* s.l.:s.n.
- ❖ **SALL, B, 1990 :** Contribution à l'étude des possibilités d'amélioration de la production en aviculture traditionnelle: mesure du potentiel de la race locale et des produits d'un croisement améliorateur. Thèse de fin d'Etudes d'Ingénieur Agronome, INDR, Thiès, Sénégal.
- ❖ **Silim. A et Rekik R.-M, 1992**
- ❖ - Immunologie des oiseaux.
- ❖ - Manuel de pathologie aviaire, édit. Jeanne Brugere-Picoux et Amer Silim, 87 - 96.
- ❖ **Timms, 1980.** *Cell mediated and humoral immune response in chickens infected with avian infectious bronchitis.* 136 éd. s.l.:Br.Vet.J..
- ❖ **Tahseen Aziz 2020 :** avian infectious bronchitis virus : infection , evolution and immunity.
- ❖ **Villarreal, 2007.** *Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections.* 51 éd. s.l.:Avian diseases.
- ❖ **VENNE D et SILIM A, 1992 :** Bronchite infectieuse (125-128): Manuel de Pathologie aviaire. Maison Alfort, France, Ecole Nationale Vétérinaire, 379p.30.
- ❖ **Villat.D, 2001:** Anatomie des oiseaux, Maladies et affection diverses. , Les maladies des volailles, édit ; INRA, 18-362.

Villate, 1997 :

- ❖ **Winter, 2006.** *Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian infectious bronchitis virus.* 87 éd. s.l.:J.Gen.Virol.