



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Mémoire en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Master**

**Diagnostic histopathologique des cas de laryngotrachéite  
infectieuse aviaire dans la région centre d'Algérie**

Présenté par  
**Semmoud Mohammed Abdessamie**

**Devant le jury :**

<b>Président(e) :</b>	Dr. KHELIFI N.A.	M.C.A	ISV Blida
<b>Examineur :</b>	Dr. LAGHOUATI A.	M.A.B	ISV Blida
<b>Promoteur :</b>	Dr. AKKOU M.	M.C.A	ISV Blida
<b>Co-promoteur :</b>	Dr. LOUNAS.A.	M.C.B	ISV Blida

**Année : 2020/2021**

# Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir aidé et de m'avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

J'exprime ma profonde gratitude à mon promoteur Dr. **AKKOU Madjid**, et à mon co-promoteur Dr. **LOUNAS Abdelaziz** de m'avoir encadré avec leur franche cordialité spontanée, je les remercie pour leur patience et leur gentillesse, pour leurs conseils et leurs orientations clairvoyantes qui m'ont guidé dans la réalisation de ce travail.

Chaleureux remerciement.

Je remercie :

Dr. **KHELIFI Nadjat-Amina** de m'avoir fait l'honneur de présider mon travail.

Dr. **LAGHOUATI Amel** d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner mon projet.

Je saisis cette occasion pour exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida.

J'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

J'exprime mon éternelle gratitude envers :

## **Ma mère bien-aimée**

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, tes prières m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Chère maman, tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour, puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

## **Mon très cher père**

Pour être le bon exemple de père : par son soutien, ses encouragements et son aide dès mes premiers pas d'étude jusqu'à ce jour.

J'espère que vous êtes fier de ce que je suis aujourd'hui, merci de m'avoir soutenue, d'avoir supporté les moments de doute et de panique en toutes circonstances, merci pour votre amour, et tous ce que vous m'avez donné.

Mon cher grand frère Nassim et mes chères grandes sœurs, je vous remercie pour votre présence et votre bienveillance.

Mes amis, frères et collègues Amine, Takfarinas, Houssein, Bilal et toute la promotion 2021

On dit que les paroles s'en vont, mais les écrits restent, en espérant que ces écrits resteront gravés à tout jamais.

## Résumé

La présente étude décrit des épisodes récents de cas de laryngotracheite infectieuse aviaire (LTI), une maladie respiratoire hautement contagieuse chez le poulet. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude anatomo-histopathologique des cas de LTI lors des suspicions cliniques effectuées par des vétérinaires dans la région du centre d'Algérie.

L'analyse histopathologique a révélé la présence de lésions microscopiques pathognomoniques de LTI caractérisées par la présence des inclusions intranucléaires acidophiles aux seins des cellules syncytiales épithéliales de la trachée et du poumon dans 4/5 des prélèvements obtenus. Ainsi, Les signes cliniques et lésionnels observés dans ces cas suggéraient fortement la présence de la laryngotrachéite infectieuse aviaire dans nos élevages.

Cette étude nous a permis de confirmer d'avantage la circulation du virus responsable de la pathologie et que de confirmer la présence de la maladie dans nos élevages.

**Mots clés** : Aviaire, laryngotrachéite, diagnostic, histopathologie.

## ملخص

تصف الدراسة الحالية الحلقات الأخيرة من حالات التهاب الحنجرة والحنجرة المعدية عند الطيور (LTI) ، وهو مرض تنفسي شديد العدوى في الدجاج. في هذه الدراسة، كنا مهتمين بالدراسة التشريحية المرضية لحالات LTI اثناء الاشتباه السريري الذي أجراه الأطباء البيطريون في منطقة وسط الجزائر.

كشفت تحليل الأنسجة المرضية عن وجود آفات مجهرية مرضية من LTI تتميز بوجود شوائب داخل النواة الحمضية في أثناء الخلايا الخلوية الظهارية للقصبة الهوائية والرئة في 5/4 من العينات التي تم الحصول عليها. وبالتالي، فإن العلامات السريرية والآفات التي لوحظت في هذه الحالات توحي بقوة بوجود التهاب حنجرة وحنجرة الطيور المعدية في مزارعنا.

أتاحت لنا هذه الدراسة تأكيد انتشار الفيروس المسؤول عن علم الأمراض أكثر من تأكيد وجود المرض في مزارعنا.

**الكلمات المفتاحية:** البواجن، لرانقتركيبيت، التشخيص، مرض الأنسجة.

## **Abstract**

The present study describes recent episodes of cases of avian infectious laryngotracheitis (ILT), a highly contagious respiratory disease in chickens. In this study, we were interested in the anatomic-histopathological study of cases of ILT during clinical suspicions carried out by veterinarians in the region of central Algeria.

Histopathological analysis revealed the presence of pathognomonic microscopic lesions of ILT characterized by the presence of intranuclear acidophilic inclusions in the breasts of epithelial syncytial cells of the trachea and lung in 4/5 of the samples obtained. Thus, the clinical and lesional signs observed in these cases strongly suggested the presence of infectious avian laryngotracheitis in our farms.

This study allowed us to confirm the circulation of the virus responsible for the pathology more than to confirm the presence of the disease in our farms.

**Keywords** : Poultry, laryngotracheitis ,diagnostic, histopathology.

## Sommaire

Introduction .....	1
I. Revue bibliographique.....	2
I.1. Généralités sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire .....	2
I.2. Epidémiologie .....	2
I.2.1. Répartition géographique .....	2
I.2.2. Espèces affectées .....	3
I.2.3. Transmission du virus .....	3
I.3. Lésions associées à l'LTi .....	3
I.3.1. Lésions macroscopiques.....	3
I.3.2. Lésions microscopiques .....	4
I.4. Outils du diagnostic de laboratoire de la LTI .....	5
I.4.1. Identification de l'agent pathogène .....	5
I.4.2. Isolement du virus .....	6
I.4.3. Microscopie électronique .....	6
I.4.4. Immunofluorescence .....	7
I.4.5. Immuno-diffusion sur gélose .....	7
I.4.6. Méthode immuno-enzymatique .....	8
I.5. Stratégie d'intervention.....	8
II. Partie pratique .....	10
II.1. Problématique et objectifs .....	10
II.1.1. Problématique .....	10
II.1.2. Objectifs de l'étude.....	10
II.1.3. Lieu et période d'étude :.....	11
II.2. Matériel et méthodes .....	11
II.2.1. Matériel .....	11
II.2.2. Méthodes.....	12
II.2.2.1. Prélèvements .....	12
II.2.2.2. Description de la technique histologique .....	12
II.3. Résultats.....	15
II.3.1. Résultats d'autopsie (macroscopie) .....	15
II.3.2. Résultats d'histopathologie (microscopie) .....	19
II.4. Discussion .....	24
II.5. Conclusion et recommandation .....	26
Références bibliographiques .....	28
Annexe.....	33

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Trachéite hémorragique avec présence du sang en nature dans la lumière trachéal.....	15
<b>Figure 2</b> : Laryngotrachéite hémorragique.....	16
<b>Figure 3</b> : Trachéite fibrineuse.....	16
<b>Figure 4</b> : Thymite.....	17
<b>Figure 5</b> : Thymite.....	17
<b>Figure 6</b> : Congestion de la carcasse.....	18
<b>Figure 7</b> : Présence du sang au niveau trachéal.....	18
<b>Figure 8</b> : Jetage nasal séro-fibrineux .....	19
<b>Figure 9</b> : Nécrose et desquamation diffuse de l'épithélium de surface.....	20
<b>Figure 10</b> : Trachéite fibrino-hémorragique avec une congestion sévère des capillaires.....	20
<b>Figure 11</b> : Présence de cellules épithéliales desquamées sous forme de syncytium dans la lumière trachéale.....	21
<b>Figure 12</b> : Une congestion sévère des capillaires.....	21
<b>Figure 13</b> : Présence de cellules épithéliales desquamées sous forme de syncytium dans la lumière trachéale et une inflammation diffuse.....	22
<b>Figure 14</b> : Congestion marquée des capillaires, inflammation diffuse et syncytium.....	22
<b>Figure 15</b> : Syncytium dans la lumière trachéale avec la présence de nombreuses inclusions intranucléaires, typiques de la LTI.....	23
<b>Figure 16</b> : Présence d'un épithélium métaplasique.....	23
<b>Figure 17</b> : Syncytium dans la lumière trachéale, inflammation et nécrose.....	24

## LISTE DES ABREVEATIONS

LTI : Laryngotrachéite infectieuse

VLTI : Virus de la laryngotrachéite infectieuse

MCA : Membrane chorioallantoïde

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

ECP : Effet cytopathogène

SN : Séroneutralisation

ITFC : Isothiocyanate de fluorescéine

AcM : Anticorps monoclonal

ADN : Acide désoxyribonucléique

PCR : Polymerase Chain Reaction

IAFP H9 : le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène

IAHP : le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène

# Introduction

---

## Introduction

L'aviculture est l'un des secteurs en développement rapide, qui joue un rôle important dans la sécurité alimentaire mondiale. La conséquence de la mondialisation, du changement climatique et de l'augmentation rapide de la population avicole entraîne l'émergence de plusieurs maladies. Parmi les maladies émergentes, la laryngotrachéite infectieuse (LTI) est une maladie des voies respiratoires supérieures hautement contagieuse du poulet et a été considérée comme une préoccupation majeure pour la santé et le bien-être des volailles (Bagust et *al.*, 2000)

Les affections respiratoires du poulet de chair revêtent une importance économique considérable dans l'élevage industriel, par les retards de croissance et les mortalités qu'elles provoquent. La difficulté du diagnostic différentiel relève principalement de la variété des agents infectieux et de la fréquence des infections mixtes.

En Algérie, où la laryngotrachéite infectieuse a été rapporté dans plusieurs études, plusieurs autres agents infectieux viraux sont incriminés : les adénovirus, le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP H9), le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP), le virus de la bronchite infectieuse et celui de la maladie de Newcastle, bien que ce dernier ne soit pas uniquement pneumotrope.

Les signes cliniques de ces affections ne sont pas assez spécifiques pour permettre un diagnostic différentiel. Celui-ci nécessite des méthodes biologiques et sérologiques qui, pour être fidèles, n'en sont pas moins lentes et coûteuses. Dans ces conditions, l'examen histopathologique peut, par sa rapidité et sa précision relative, constituer un atout précieux pour le diagnostic précis de la LTI.

# I Revue bibliographique

---

## I. Revue bibliographique

### I.1. Généralités sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

La laryngotrachéite infectieuse (LTI) est une maladie virale très contagieuse causée par un *Herpesvirus*, qui se caractérise généralement par une affection sévère des voies respiratoires supérieures. La maladie touche les poules domestiques, mais aussi les faisans, les dindes et les paons avec des conséquences graves pour la production en raison de la mortalité et/ou baisse de la production des œufs. Elle n'est pas dangereuse pour l'homme (Alaraji et *al.*, 2019 ; Hidalgo, 2003). La description de la LTI dans de nombreux pays reste un souci majeur dans l'aviculture intensive, caractérisée comme une pathologie importante quand elle se produit avec une épidémie (Guy et Bagust, 2003). Les épidémies de la forme clinique modérée sont communes chez les poules pondeuses et sporadiques chez le poulet de chair (Saepulloh, 2004).

Son importance économique est liée aux pertes dues à la mortalité et/ou diminution de la production d'œufs. La diminution du taux de ponte est modérée allant de 5% à 15% sans altérer les caractéristiques de la coquille.

### I.2. Epidémiologie

#### I.2.1. Répartition géographique

La LTI a une répartition géographique cosmopolite, elle est cyclique dans les zones endémiques, surtout dans les zones à forte densité de production (Brandly, 1936 ; Hodgson, 2009). Les données sur la prévalence sont rares dans la littérature. Barhoom, (2009) observe en Palestine, sur 3 élevages de poules pondeuses, une séroprévalence de 100 %.

En Algérie, c'est qu'en 2017, que les signes de la LTI sont devenus alarmants, les suspicions ont été confirmées par le diagnostic de laboratoire. La pression de la maladie est devenue menaçante pour le secteur toutes spéculations confondues. La vaccination contre la LTI a alors été généralisée (Bouderbal, 2018).

# I Revue bibliographique

---

## I.2.2. Espèces affectées

Le poulet est l'hôte naturel du virus, quel que soit son âge, bien que les signes caractéristiques de la maladie s'observent le plus souvent chez l'adulte (plus de 3 semaines d'âge). La multiplication virale est en général limitée à la sphère respiratoire, les animaux ne présentant donc pas de virémie (Bagust et *al.*, 1986 ; Hitchner et *al.*, 1977 ; Winterfield et So, 1968).

## I.2.3. Transmission du virus

Les oiseaux infectés excrètent le virus dans leurs sécrétions respiratoires pendant 10 jours après l'infection. Le VLTI pénètre dans l'hôte par les voies respiratoires, oculaires et dans une moindre mesure, par voie orale (Bagust et *al.*, 1986 ; Hitchner et *al.*, 1977 ; Robertson et Egerton, 1981 ; Williams et *al.*, 1992). La transmission directe d'oiseau à oiseau est endémique par rapport au contact avec des oiseaux infectés ou porteurs de façon latente. Le mélange de poulets vaccinés et naïfs est important pour la transmission directe.

Ni la transmission verticale ni la transmission du virus à travers la coquille de l'œuf n'ont été démontrées. Aucune virémie typique ne se produit pendant l'infection par le VLTI, bien que la propagation du virus vers des sites non respiratoires ait été attribuée aux leucocytes infectés (Chang et *al.*, 1973 ; Oldoni et *al.*, 2009). Les oiseaux porteurs qui ont survécu à des épidémies précédentes agissent également comme une source d'infection pour les oiseaux naïfs. Les oiseaux infectés transmettent facilement la maladie par la sécrétion orale par rapport aux oiseaux cliniquement récupérés ou porteurs latents (Hughes et *al.*, 1987).

## I.3. Lésions associées à l'LTI

### I.3.1. Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques sont généralement limitées aux sinus et aux voies respiratoires supérieures et varient selon la gravité de la maladie (Gough et *al.*, 1977 ; Seifried, 1931). Les lésions macroscopiques sous forme suraiguë consistent en une rhinite mucoïde et une trachéite hémorragique avec caillots sanguins (Dalab, 2012 ; Guy and Bagust, 2003). Des exsudats caséux jaunes (bouchon de fromage) ont également été observés dans les bronches primaires lorsque les lésions s'étendent profondément (OIE, 2014). Dans la forme aiguë, des

## I Revue bibliographique

---

membranes jaunes caséeuses de type diphtérique adhérentes au larynx et de la muqueuse de la trachée supérieure avec ou sans hémorragies sont souvent remarqué (Gowthaman et al., 2014). La membrane forme également des bouchons obstructifs dans les régions du larynx et de la syrinx conduisant à la suffocation et à la mort. Un excès de mucus avec ou sans exsudats diphtériques peut être observé dans la lumière trachéale dans la forme chronique ou légère de la LTI (Linares et al., 1994). Une formation pseudo-membranaire avec des exsudats fibrino-nécrotiques adhérent aux voies respiratoires supérieures peut également être observée (Russell, 1983 ; Russell and Turner, 1983).

Outre l'atteinte trachéale, la conjonctivite se caractérise par un œdème et une congestion accompagnés d'un écoulement oculaire accru (Hinshaw et al., 1931; Kirkpatrick et al., 2006). La réponse inflammatoire dans les narines est caractérisée par les exsudats hétérophiles (Gowthaman et al., 2014). L'atteinte des poumons et des sacs aériens est rare. Cependant, on observe parfois une congestion des poumons et un épaissement des sacs aériens avec des exsudats caséux dans la lumière (Aziz, 2010). Dans les cas infectés simultanément, telles que des lésions muco-fibrino aiguë rhinite et la sinusite, l'occlusion de sinus paranasaux par exsudat caséux, gonflement du visage, et muco-trachéite fibrineuse ont été observés (de Macedo Couto et al., 2015). Récemment, un cas isolé de l'œsophagite érosive sévère et pharyngite accompagnée d'une dégénérescence épithéliale, la nécrose et la formation de syncytia avec des corps d'inclusion intranucléaires a été rapporté comme une LTI atypique (Sary et al., 2017).

### I.3.2. Lésions microscopiques

Les lésions microscopiques sont limitées à la conjonctive, aux sinus, à la trachée et aux poumons (Linares et al., 1994). Dans la conjonctive, ils consistent en une hyperémie précoce, un gonflement, une infiltration de cellules inflammatoires, suivies de lésions épithéliales. Cela conduit en outre à une desquamation de l'épithélium conjonctival avec une accumulation d'exsudats inflammatoires contenant principalement des globules rouges et blancs et des débris fibrino-cellulaires (Aziz, 2010). Les modifications microscopiques initiales de la trachée comprennent l'infiltration de cellules inflammatoires. Les cellules épithéliales infectées subissent des changements hyperplasiques suivis d'infiltrations lymphocytaires et histiocytaires dans la muqueuse et la sous-muqueuse à mesure que la maladie progresse (Russell, 1983).

## I Revue bibliographique

---

Ensuite, les cellules épithéliales trachéales subissent une nécrose diffuse avec dénudation qui résulte en saillie et la rupture des vaisseaux sanguins de la lamina propria dans la lumière trachéale conduisant à une laryngite sévère et trachéite (Sary et *al.*, 2017). Les corps d'inclusion intranucléaires basophiles ou éosinophiles entourés d'un halo sont généralement observés au cours des stades initiaux de l'infection (1 à 5 jours) et disparaissent plus tard en raison de la nécrose et de la dénudation des cellules épithéliales (Guy et *al.*, 1992; Seifried, 1931; VanderKop, 1993). Au cours de cette étape, la lumière de la trachée contient une quantité variable d'exsudats avec de la fibrine, des cellules inflammatoires, des globules rouges, des débris épithéliaux et des cellules syncytiales avec ou sans corps d'inclusion intranucléaire (Hayashi et *al.*, 1985). La régénération commence six jours après l'infection avec la prolifération des cellules basales restantes chez les oiseaux qui survivent à la phase aiguë (Bagust et *al.*, 2000).

La trachéite hyperplasique subaiguë caractérisée par la prolifération de plusieurs couches de cellules épithéliales régénérantes, indifférenciées et non ciliées tapissant la muqueuse et les glandes muqueuses devient évidente au cours de la phase de guérison. Les modifications histopathologiques dans les bronches principales et secondaires sont caractérisées par une dégénérescence épithéliale et une dénudation avec infiltration de cellules mononucléaires (Preis et *al.*, 2013). Les cellules syncytial avec les corps d'inclusion intranucléaires peuvent également être observées dans les lésions (Purcell, 1971; Timurkaan et *al.*, 2003).

### **I.4. Outils du diagnostic de laboratoire de la LTI**

#### **I.4.1. Identification de l'agent pathogène**

Le virus peut être isolé dans le foie d'embryon de poulet (McNulty et *al.*, 1985), le rein d'embryon de poulet (Chang et *al.*, 1960) ou dans des cultures de cellules de rein de poulet (Van Kammen et Spadbrow, 1976). L'herpèsvirus responsable peut être mis en évidence directement dans l'exsudat trachéal par microscopie électronique (VanKammen et Spadbrow, 1976). Les antigènes viraux peuvent être détectés par immunofluorescence (Braune et Gentry, 1985 ; Wilks et Kogan, 1979), ou par test immuno-enzymatique (ELISA), utilisant des raclages de la muqueuse trachéale (York et Fahey, 1988). L'examen histopathologique de la trachée

## I Revue bibliographique

---

pour les inclusions intranucléaires typiques de l'herpèsvirus et la formation de cellules syncytiales peut également être utile (Armstrong, 1959 ; RP et *al.*, 1957 ; Pirozok et *al.*, 1957).

Les méthodes de détection du VLTI utilisant la réaction en chaîne par polymérase (PCR) ont été décrits et la PCR a été généralement plus sensible que l'isolement viral (Alexander et Nagy, 1997 ; Keam et *al.*, 1991 ; McNulty et *al.*, 1985; Williams et *al.*, 1994).

### I.4.2. Isolement du virus

Lorsque les prélèvements sont effectués sur des oiseaux vivants pour l'isolement viral, les écouvillons trachéaux sont préférables aux écouvillons oropharyngés ou conjonctivaux. Ils doivent être placés dans un milieu de transport additionné d'antibiotiques. Lorsque la maladie est chronique, le choix des prélèvements pour l'isolement du virus doit être effectué sur un animal euthanasié au début des signes cliniques plutôt que de tenter cet isolement chez un oiseau mort à la suite d'une asphyxie après une longue évolution. La qualité du prélèvement est meilleure si l'oiseau est tué par injection de barbituriques ou autres produits plutôt que par dislocation cervicale. Il faut prélever la tête entière et le cou des animaux morts ou seulement la trachée et le larynx après leur prélèvement en évitant au maximum toute contamination. Les trachées doivent être transportées dans un milieu additionné d'antibiotiques, mais emballées dans un papier humide si elles sont destinées à la microscopie électronique. Tout stockage prolongé des tissus infectés doit être réalisé à -70 °C ou moins pour limiter une perte du titre viral. Il faut éviter les congélations et décongélations répétées qui diminuent l'infectiosité du virus (OIE, 2018).

### I.4.3. Microscopie électronique

Le virus peut être mis en évidence par microscopie électronique à partir d'un raclage de trachée ou d'un exsudat trachéal étalé et mélangé avec quelques gouttes d'eau distillée sur une lame pour microscopie. Une goutte de cette suspension est placée sur un carbone et une lame porte-objet préalablement enduite d'un film, laissée pendant 2 min puis l'excès de liquide est retiré avec du papier filtre. Une goutte d'acide phosphotungstique à 4 % de pH 6,4 est ajoutée puis, après 3 min, l'excès de liquide est éliminé. La lame est séchée minutieusement puis examinée au microscope électronique à un grossissement de  $\times 30$  à 45 pour les particules caractéristiques des *Herpesvirus* (Van Kammen et Spradbrow, 1976).

# I Revue bibliographique

---

## I.4.4. Immunofluorescence

Dans les tests d'immunofluorescence pour les antigènes viraux, des frottis de cellules épithéliales de la trachée sont étalés sur une lame de verre. Alternativement, coupes cryostatiques de 5 µm d'épaisseur de trachée, surgelées dans de l'azote liquide peut être utilisé. Les préparations sont fixées dans l'acétone à température ambiante pendant 10 minutes. Ceux-ci peuvent être coloré directement en appliquant une immunoglobuline anti-VLTI de poulet marqué avec de l'isothiocyanate de fluorescéine (ITFC) pendant 1 heure, puis rinçage pendant 15 minutes dans un bain de solution saline tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,2, agité avec un agitateur magnétique. Sinon, ils peuvent être colorés indirectement en appliquant une dilution appropriée du sérum anti-LTI de poulet pendant 1 heure. La lame est soigneusement rincée avec du PBS pour 15 minutes comme ci-dessus, et une immunoglobuline anti-poulet marquée ITFC est appliquée pendant 30 minutes. Après un rinçage final, les lamelles sont appliquées sur un support non coloré. Les préparations sont examinées pour fluorescence intranucléaire spécifique dans les cellules épithéliales à l'aide d'un microscope à fluorescence sous éclairage ultraviolet (Braune et Gentry, 1985 ; Wilks et Kogan, 1979).

## I.4.5. Immuno-diffusion sur gélose

Les antigènes du virus LTI peuvent être mis en évidence sur un exsudat trachéal, les membranes chorioallantoïdes (MCAs) infectées et des cultures cellulaires infectées en utilisant de l'antisérum hyperimmun LTI. La gélose est préparée avec l'agar agar (1,5 %) contenant du chlorure de sodium (8 %) - en tant que conservateur- dans de l'eau distillée. Les ingrédients sont autoclavés à 2,4 bar pendant 15 min, 5 ml de la gélose liquide sont versés dans une boîte de Pétri de 5 cm de diamètre. Quand la gélose est figée, une série de puits sont réalisés dans la gélose. Les puits sont habituellement de 8 mm de diamètre et 4 mm d'intervalle. Le sérum hyperimmun est placé avec une pipette dans le puits central alors que les puits qui l'entourent sont remplis avec les prélèvements suspects d'être virulents à tester, à l'exception d'un puits témoin positif contenant l'antigène viral. Les disques sont ensuite mis en incubation en atmosphère humide à la température du laboratoire ou à 37°C, puis examinés 24 à 48 h plus tard en lumière oblique pour identifier les lignes de précipitation. Les tests doivent aussi comporter un témoin antigène négatif avec du matériel non infecté et un antisérum témoin négatif.

## I Revue bibliographique

---

Pour des raisons économiques, ce test peut être réalisé sur une lame de microscope recouverte d'une fine couche de gélose où les trous ont 4 mm de diamètre et 2 mm d'intervalle (Ebrahimi et *al.*, 2003 ; Jordan et Chubb, 1962).

### I.4.6. Méthode immuno-enzymatique

Lorsque l'anticorps monoclonal (AcM) ELISA est utilisé pour détecter les antigènes viraux (McNulty et *al.*, 1985), l'exsudat trachéal est mélangé avec un volume égal de PBS contenant 1% d'un détergent, puis vortexée pendant 30 secondes et centrifugée à 10 000 g pendant 1 minute. Le liquide surnageant est versé dans des volumes de 50 µl dans les cupules de microplaque préalablement enduites d'IgG de lapin anti VLTI, diluées au 1/200 dans un tampon carbonate / bicarbonate 0,05 M, pH 9,0, et incubées pendant 1 heure. Ensuite, 50 µl de MAb contre les glycoprotéines majeures du VLTI, dilués au 1/50 dans du PBS, sont ajoutés à chaque cupule, suivi de 50 µl d'une dilution au 1/1000 d'IgG anti-souris d'origine caprine purifiée par affinité, conjuguée à la peroxydase. Le substrat, l'acide 5-aminosalicylique (6,5 mM), est ajouté dans les cupules au volume de 100 µl. Après 30 minutes, les plaques sont lues à 450 nm sur un spectrophotomètre et l'absorbance pour chaque cupule est corrigée en soustrayant la lecture obtenue pour les cupules contenant un tampon de dilution au lieu de l'exsudat trachéal. Le point de coupure positif / négatif est considéré comme la valeur moyenne d'absorbance pour plusieurs échantillons négatifs (Scholz et *al.*, 1994).

### I.5. Stratégie d'intervention

Aucun médicament ne s'est avéré efficace dans la réduction de la sévérité des lésions ou de soulager les signes de la maladie. Si un diagnostic précoce de LTI est obtenu, la vaccination des oiseaux non infectés peut induire une protection adéquate avant qu'ils deviennent exposés (Guy, 2008). La lutte contre la LTI passe tout d'abord par des mesures strictes de biosécurité. La vaccination et l'infection conduisent à la latence du virus dans certains tissus durant toute la vie de l'animal. Il ne faut donc pas mélanger des animaux naïfs avec des animaux vaccinés ou guéris. Pour le contrôle d'une manifestation de la LTI, l'approche la plus efficace est d'obtenir un diagnostic rapide, d'instaurer un programme de vaccination, et d'empêcher une éventuelle diffusion de virus. La vaccination lors d'une manifestation limite efficacement la propagation du virus et raccourcit la durée de la maladie, la diffusion du VLTI entre les différents élevages peut être empêchée par la mise en place de mesures appropriées de biosécurité (Eric et *al.*, 2005 ; James et *al.*, 2008 ; Ollis, 2008).

## I Revue bibliographique

---

Les bonnes pratiques de biosécurité associées à la vaccination sont les méthodes pratiques pour contrôler le VLTI en l'absence de tout traitement efficace. Néanmoins, La LTI a été la première grande maladie de la volaille pour laquelle un vaccin efficace a été introduit (Gibbs, 1934). Cependant, la maladie reste un problème important dans les zones denses de la volaille (Chacón et *al.*, 2015 ; de Macedo Couto et *al.*, 2015 ; Vasudevan et *al.*, 2016 ; Yan et *al.*, 2016). Les vaccins VLTI vivants atténués modifiés, sont utilisés depuis plusieurs décennies. Les vaccins vivants atténués d'origine embryonnaire de poulet ont été les premiers vaccins commercialement utilisés ont été introduits sur le marché international dans les années 1950 et au début des années 1960 (García et Zavala, 2019).

## **II. Partie Pratique**

---

### **II. Partie pratique**

#### **II.1. Problématique et objectifs**

##### **II.1.1. Problématique**

Les affections respiratoires du poulet de chair revêtent une importance économique considérable dans l'élevage industriel, par les retards de croissance et les mortalités qu'elles provoquent. La difficulté du diagnostic différentiel relève principalement de la variété des agents infectieux et de la fréquence des infections mixtes.

En Algérie, où la laryngotrachéite infectieuse a été rapporté dans plusieurs études, plusieurs autres agents infectieux viraux sont incriminés : les adénovirus, le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP H9), le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP), le virus de la bronchite infectieuse et celui de la maladie de Newcastle, bien que ce dernier ne soit pas uniquement pneumotrope.

Les signes cliniques de ces affections ne sont pas assez spécifiques pour permettre un diagnostic différentiel. Celui-ci nécessite des méthodes biologiques et sérologiques qui, pour être fidèles, n'en sont pas moins lentes et coûteuses. Dans ces conditions, l'examen histopathologique peut, par sa rapidité et sa précision relative, constituer un atout précieux pour le diagnostic précis de la LTI.

##### **II.1.2. Objectifs de l'étude**

La présente étude consiste en l'exploitation des résultats d'analyse d'histopathologie des prélèvements d'organes provenant d'élevages de poulet de chair présentant des signes respiratoires.

Devant l'importance de cette maladie et de son incidence sur le développement de l'aviculture en Algérie, nous nous sommes proposé d'étudier les lésions histopathologiques dues au virus de la LTI au niveau trachéal chez les poulets de chair.

## II. Partie Pratique

---

### II.1.3. Lieu et période d'étude :

Notre étude Histopathologique a été effectuée dans 4 fermes commerciales (poules pondeuse et poulets de chaires) situées au centre de l'Algérie (uniquement à Boumerdes vu la situation sanitaire) , durant la période qui s'étale du mois de juin jusqu'au mois de juillet 2021.

Le laboratoire au niveau du cabinet de Dr LOUNAS ABDELAZIZ nous a servi pour faire notre enquête Histopathologique.

## II.2. Matériel et méthodes

### II.2.1. Matériel

En vue de réaliser une étude histopathologique nous avons eu recours à :

\* **Des poulets présentant des symptômes et/ou lésions respiratoires** : 30 organes (trachées)

\* **Des fiches signalétiques** pour les élevages (Annexe)

\* **Du matériel de laboratoire** :

-**Scalpel** : instrument tranchant utilisé pour obtenir des échantillons sains et non écrasés.

-**Formol** : pour la fixation des tissus,

-**Alcool** : pour assurer la déshydratation dans l'étape d'inclusion et la réhydratation dans l'étape de coloration.

-**Paraffine** : substance utilisée pour donner une consistance solide aux prélèvements.

-**Xylène** : solvant miscible à la paraffine, utilisé pour éliminer l'éthanol des tissus et le déparaffinage.

-**Microtome** : appareil qui permet de donner un ruban de coupes des tissus prélevés.

-**Lames** : pour l'étalement des coupes.

-**Eau albumineuse et platine chauffante et étuve** : c'est un matériel utilisé dans l'étalement et le collage des coupes sur les lames de verre.

-**Batterie de colorants** : « hématoxyline, éosine ».

## II. Partie Pratique

---

-**Lamelles et résine synthétique** : utilisées dans le montage des lames pour préserver les colorations et conserver les lames pendant plusieurs années.

-**Microscope optique** : c'est un appareil permettant la lecture des lames.

### II.2.2. Méthodes

#### II.2.2.1. Prélèvements

Lors de visite d'élevage, afin de remplir la fiche de prélèvement, nous avons réalisé, d'une part, un entretien concernant les caractéristiques de l'élevage (type d'élevage, âge...), l'historique de la vaccination contre la LTI et les renseignements cliniques (date de début de l'épisode clinique, taux de mortalité...). D'autre part, nous avons inspecté les volailles afin de relever d'éventuels symptômes cliniques. Les sujets ayant un tableau clinique de suspicion pour la LTI sont autopsiés, et les lésions diagnostiquées sont enregistrées.

Au fur et à mesure des visites d'élevages suspects, les poulets morts ou euthanasiés ont été autopsiés et examinés en vue de rapporter la présence d'éventuels lésions macroscopiques au niveau trachéale. Les tissus avec lésions sont ensuite prélevés et fixés dans le formol à 10%.

#### II.2.2.2. Description de la technique histologique

Quant au laboratoire, la technique histologique que nous avons suivie, conserve les tissus dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant, tout en le rendant imputrescible (fixation au formol). Puis on pénètre cet objet avec une substance demi dure (imprégnation à la paraffine), qui lui donne une consistance suffisante et une homogénéité relative, favorables à la confection de coupes minces (microtomie). Ensuite, on porte ces coupes en les étalant sur une lame de verre à laquelle elles adhèrent, on les colore dans des bains de teinture (coloration hématoxyline-eosine), on les recouvre d'un milieu de même réfringence que le verre et d'une mince lamelle de verre (montage des lames). On obtient ainsi des préparations persistantes, parfaitement observables au microscope à la lumière transmise.

#### A- Fixation

Immédiatement après l'étape de prélèvement, chaque échantillon est mis dans une boîte identifiée, contenant du formol à 10% avec un volume dix fois plus élevé par rapport à celui de

## II. Partie Pratique

---

l'échantillon. Tous cela pour immobiliser les constituants tissulaires et éviter l'autolyse cellulaire ainsi que la putréfaction bactérienne.

### **B- Inclusion**

L'inclusion en paraffine consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine, pour leurs donner une consistance solide, afin de faciliter la microtomie. Cette étape se déroule en trois phases :

### **C- La déshydratation**

Les tissus ont été passés dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, 100°) pour déshydrater les tissus et d'éliminer le fixateur.

### **D- L'élimination de l'alcool : éclaircissement**

L'alcool (éthanol) est remplacé par un solvant miscible à la paraffine (le xylène). Cette substance élimine l'éthanol Par l'infiltration dans les tissus, et donne une couleur plus claire à ces derniers.

### **E- Le paraffinage**

Les tissus ont été placés dans la paraffine fondue à une température de 56/58°C pour provoquer l'évaporation du solvant et sa dissolution dans la paraffine. Ensuite, la paraffine a été placée dans de petits moules, à température ambiante, pour provoquer son durcissement et formation de blocs contenant des fragments tissulaires prélevés.

### **F- Microtomie**

Elle consiste en la réalisation des coupes dans le bloc de paraffine. Nous avons utilisé, pour cela, un microtome qui fait avancer le bloc sur un rasoir : le bloc avance d'environ 5µm à chaque fois. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel des coupes de prélèvement tissulaire sont incluses.

### **G- Etalement et collage des coupes sur des lames de verre**

Les sections de la microtomie sont placées dans un bain d'eau chaude (43-45°C), étalé sur lame puis laissées sécher pendant une heure à l'étuve (45°C).

## II. Partie Pratique

---

### H- Coloration des lames

Les détails des tissus (noyau et cytoplasme) ne sont pas spontanément colorés, donc pour les observer il faut les colorer. La technique de coloration utilisée dans notre travail est la technique H&E. L'hématéine est une substance plutôt basique, qui colore les noyaux en violet donc colore les acides nucléiques. L'éosine est une substance plutôt acide, qui colore les cytoplasmes (en rose). Cette étape se déroule en trois phases :

#### Première phase : Déparaffinage

Nous avons déparaffiné les lames par l'utilisation de deux bains de toluène (95%-100%) pendant 3 minutes afin de dissoudre la paraffine.

#### Deuxième phase : Réhydratation

Nous avons passé ces lames dans trois bains d'alcool degré décroissant (de 100° à 70°) pendant 3 minutes pour les réhydrater, puis on a rincé les lames à l'eau courante.

#### Troisième phase : Coloration proprement dite

Nous avons mis les lames dans :

- ✓ Des bains d'hématoxyline (5 minutes).
- ✓ Ensuit différencier avec le bicarbonate de Na (5 à 10 secondes).
- ✓ Puis rincer à l'eau courante.
- ✓ Ensuite mis dans des bains d'éosine (1 minute).
- ✓ Puis rincer à l'eau courante.
- ✓ A la fin, mis dans trois bains d'alcool à 100% (40 secondes) chacun.

### I- Montage des lames

Nous avons plongé les lames dans trois bains de toluènes à 100% dans le but de les déshydratées, puis nous avons collé des lamelles de verre par-dessus grâce à des résines synthétiques. Le but de montage est de préserver les préparations et leur couleur, Les lames ainsi montées peuvent être conservées pendant plusieurs dizaines voire plusieurs centaines d'années.

## II. Partie Pratique

### II.3. Résultats

#### II.3.1. Résultats d'autopsie (macroscopie)

Nous avons autopsié une dizaine de sujets (fraîchement morts ou morbides) les lésions observées ont été les suivantes :

- Conjonctivite sévère
- Laryngite et trachéite parfois hémorragique avec présence de fibrine. Quelques sujets présentaient une congestion diffuse de la muqueuse avec la présence de matériel caséux dans la lumière trachéale.
- Congestion des poumons
- Thymite congestive
- Lésions de surinfections bactériennes

Les figures suivantes montrent les lésions citées ci-dessus :



Figure 1 : Trachéite hémorragique avec présence du sang en nature dans la lumière trachéal. (Photo personnelle , 2021)

## II. Partie Pratique

---



Figure 2 : Laryngotrachéite hémorragique (photo personnelle , 2021)

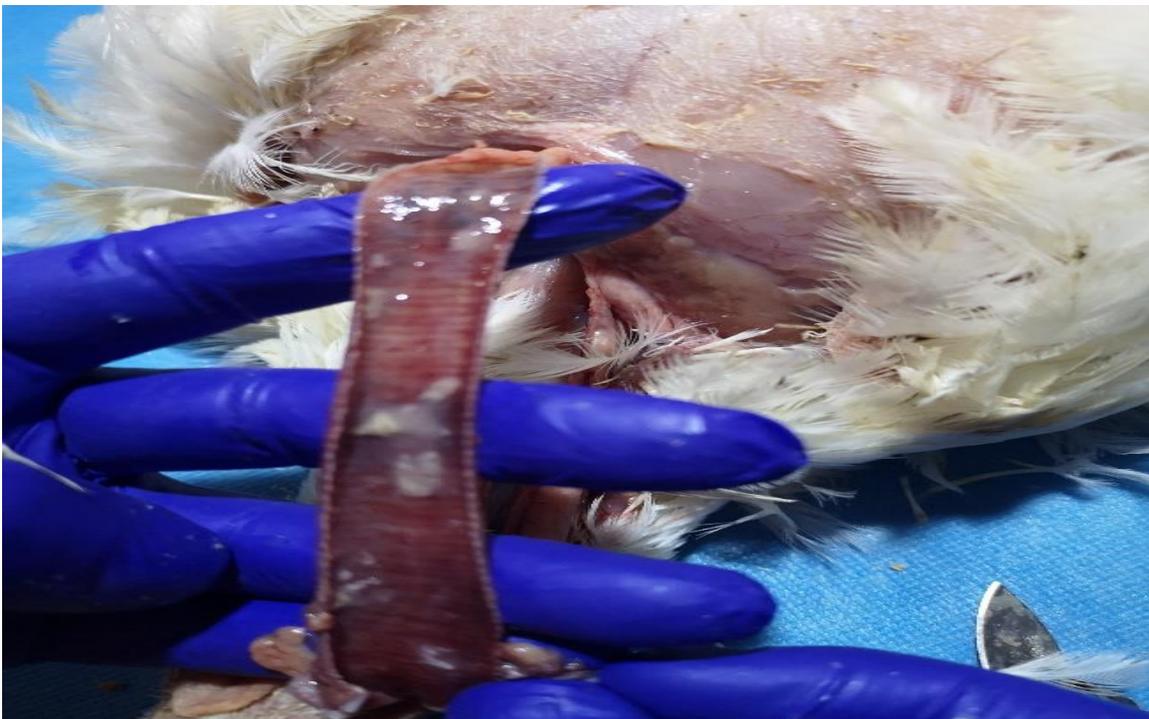


Figure 3 : Trachéite fibrineuse. Noter la présence de fibrine dans la lumière trachéale.

(Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique

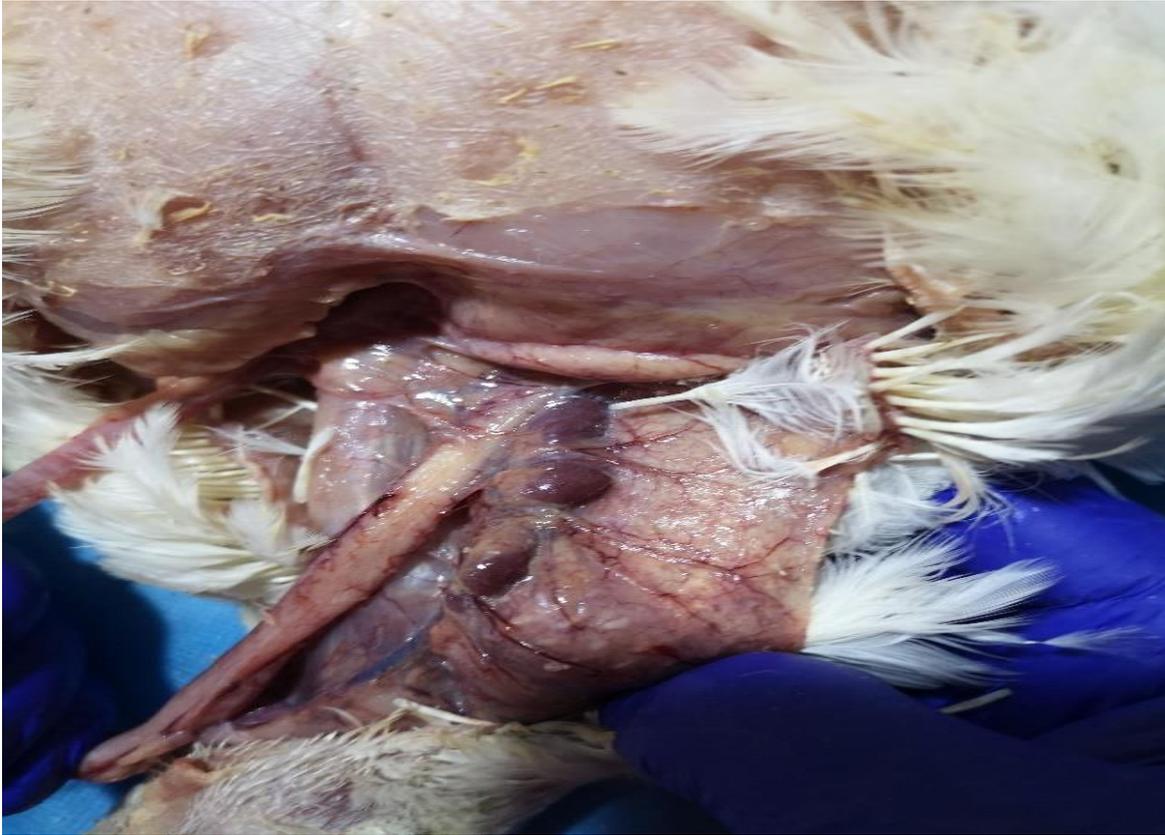


Figure 4 :Thymite. Noter l'hypertrophie et la congestion des lobes de thymus.

(Photo personnelle ,2021)



Figure 5 :Thymite. Noter l'hypertrophie et la congestion des lobes de thymus. (Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique



Figure 6 : Congestion de la carcasse. (Photo personnelle,2021)



Figure 7 : Présence du sang au niveau trachéal. Trachéite hémorragique. (Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique



Figure 8 : Jetage nasal séro-fibrineux. (photo personnelle , 2021)

### II.3.2. Résultats d'histopathologie (microscopie)

L'examen histopathologique recherche la présence de cellules multinuclées (syncytium) et des corps d'inclusions intranucléaires typiques des stades précoces des affections par le virus de la LTI. Les lésions microscopiques constatées au niveau trachéal sont les suivantes :

- 1- Trachéite fibrino-hémorragique avec une congestion sévère des capillaires chorioniques ainsi qu'une infiltration diffuse et sévère par les cellules inflammatoires.
- 2- Nécrose et desquamation diffuse de l'épithélium de surface et dans certains prélèvements, nous avons observé la présence d'un épithélium métaplasique.
- 3- Présence de cellules épithéliales desquamées sous forme de syncytium dans la lumière trachéale avec la présence de nombreuses inclusions intranucléaires, typiques de la LTI.

Les figures suivantes montrent les lésions microscopiques citées ci-dessus :

## II. Partie Pratique

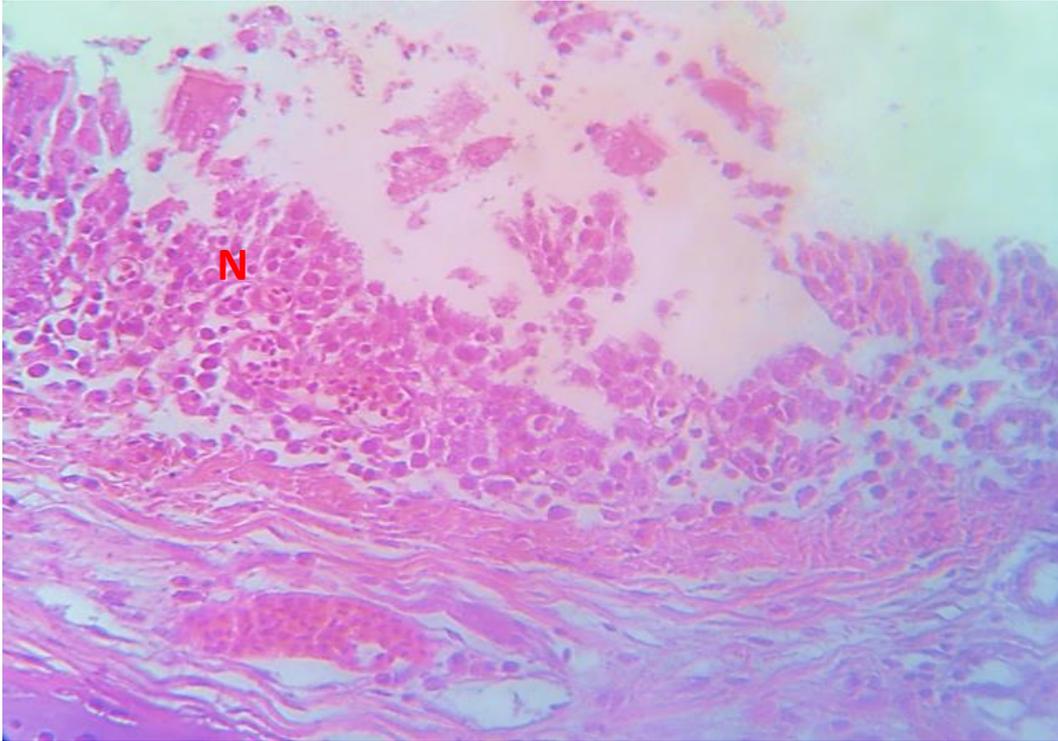


Figure 9 : Nécrose et desquamation diffuse de l'épithélium de surface (N). (Photo personnelle , 2021)

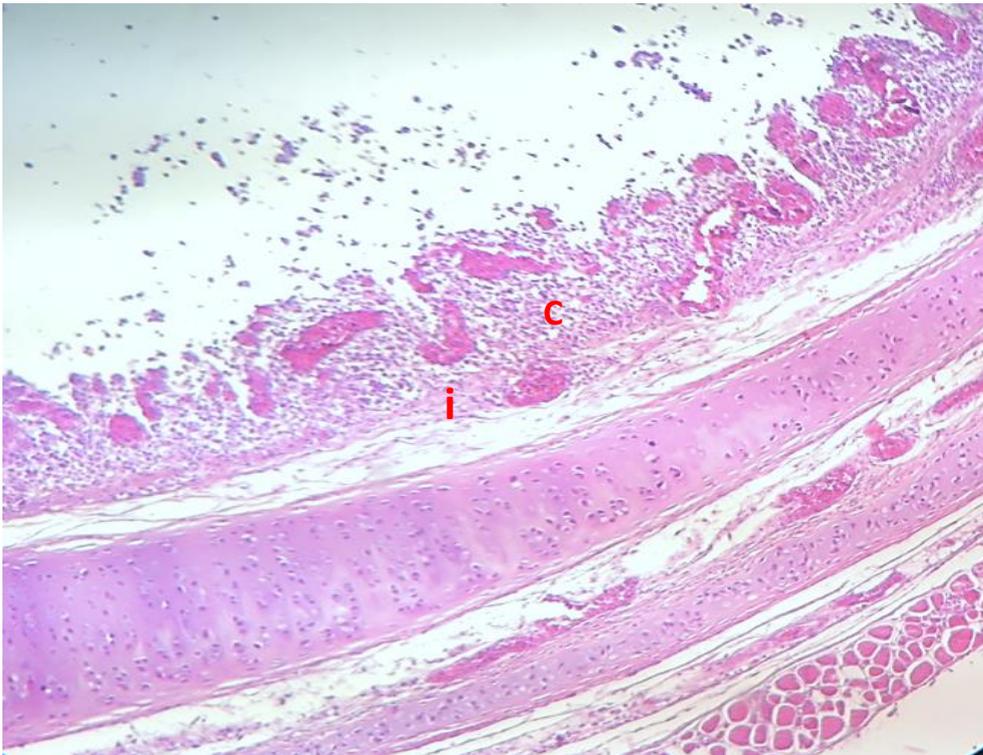


Figure 10 : Trachéite fibrino-hémorragique (i) avec une congestion sévère des capillaires (C). (Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique

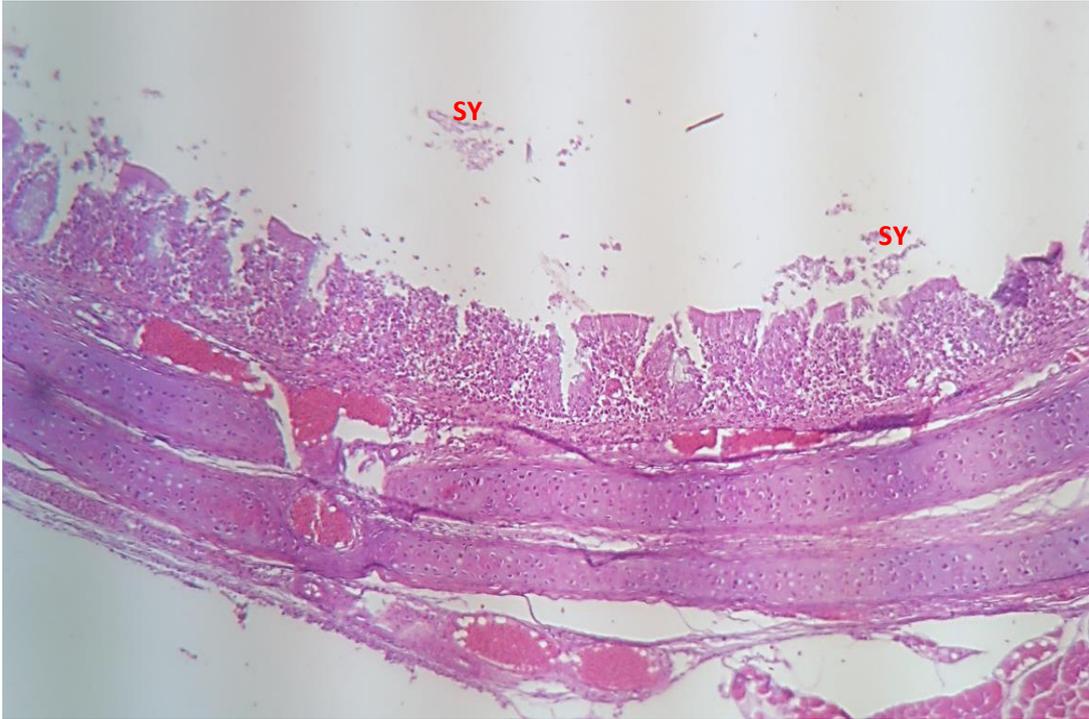


Figure 11 : Présence de cellules épithéliales desquamées sous forme de syncytium dans la lumière trachéale (SY). (Photo personnelle ,2021)

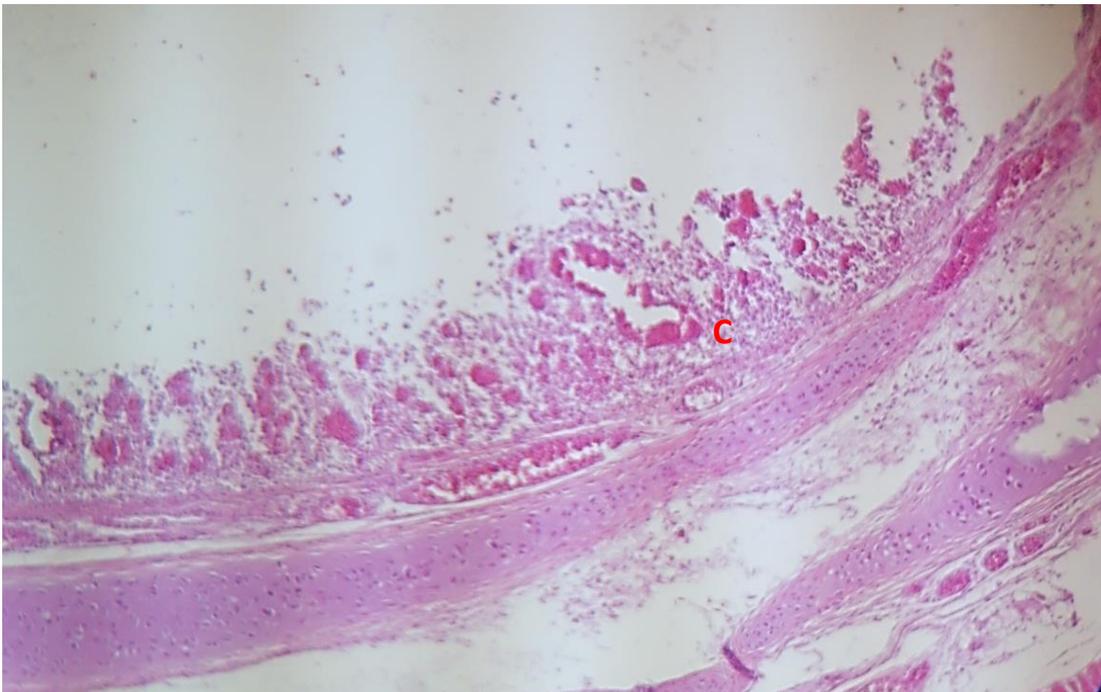


Figure 12 : Une congestion sévère des capillaires (C). (Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique

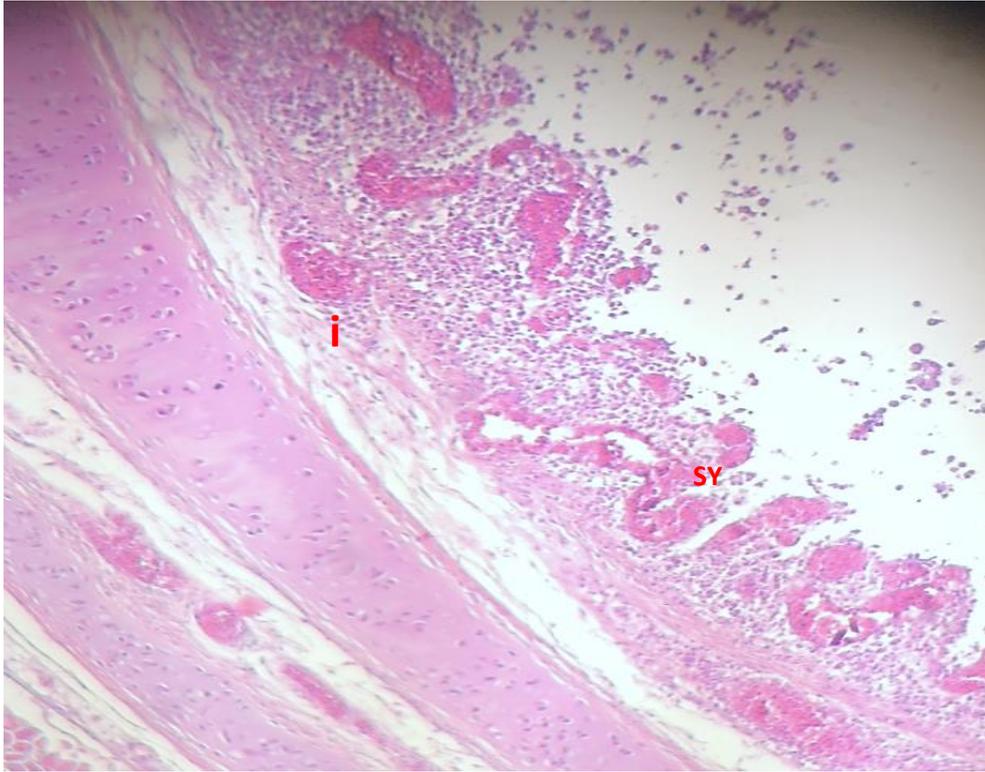


Figure 13 : Présence de cellules épithéliales desquamées sous forme de syncytium dans la lumière trachéale (SY) et une inflammation diffuse (i). (Photo personnelle ,2021)

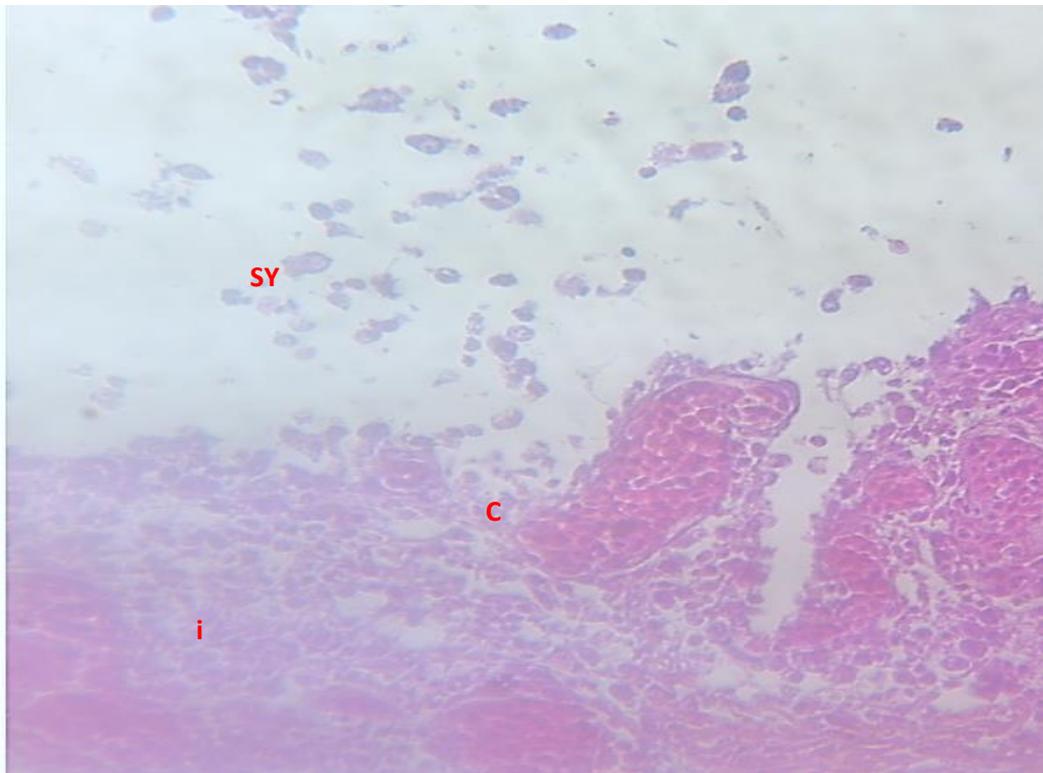


Figure 14 : Congestion marquée des capillaires (C), inflammation diffuse (i) et syncytium (SY).

(Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique

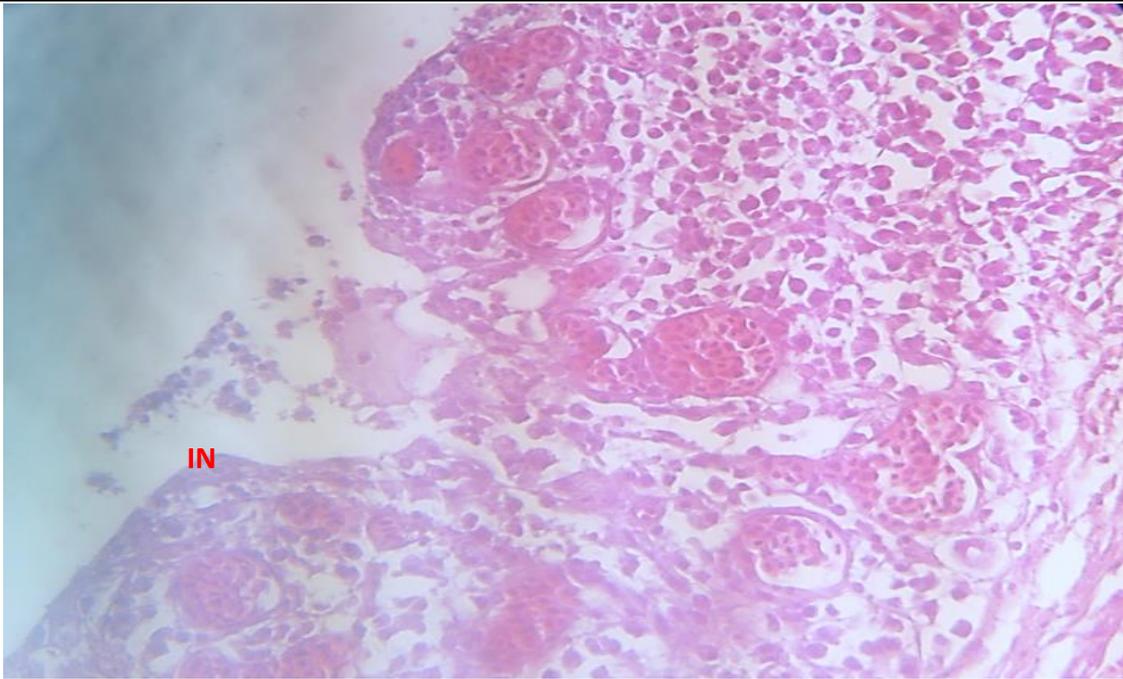


Figure 15 : Syncytium dans la lumière trachéale avec la présence de nombreuses inclusions intranucléaires (IN), typiques de la LTI. (Photo personnelle ,2021)

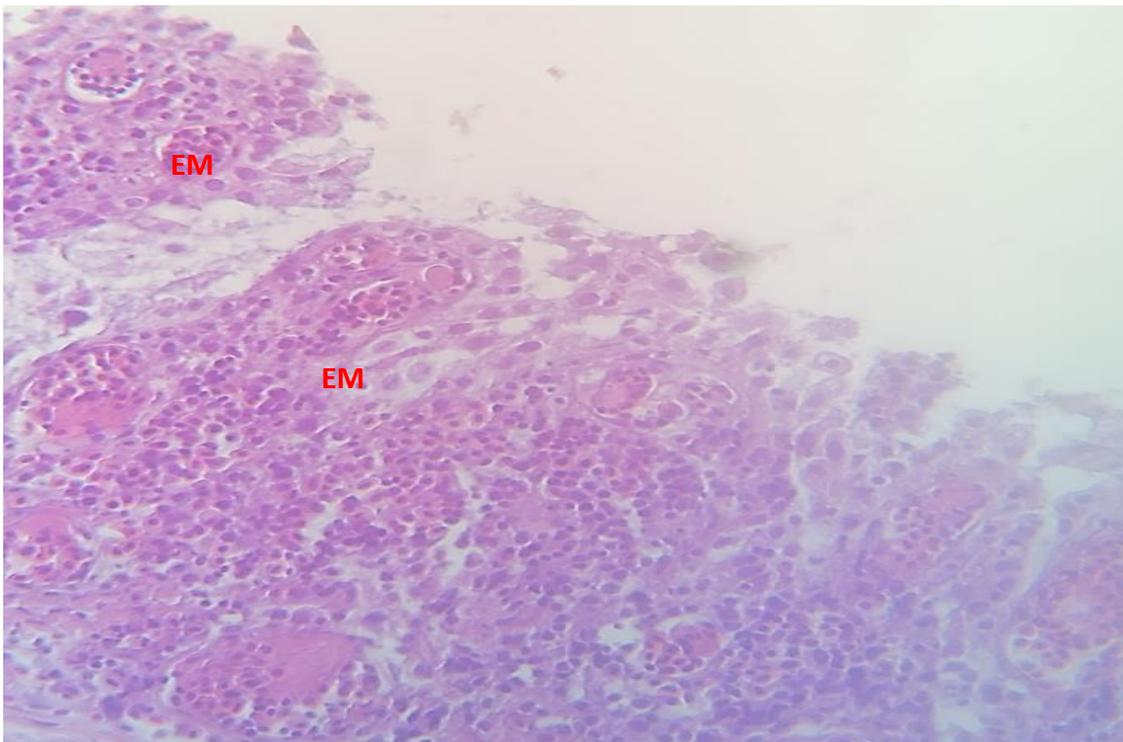


Figure 16 : Présence d'un épithélium métaplasique (EM). (Photo personnelle ,2021)

## II. Partie Pratique



Figure 17 : Syncytium dans la lumière trachéale (cercle), inflammation (i) et nécrose épithéliale (N).  
(Photo personnelle , 2021)

### II.4. Discussion

La laryngotrachéite infectieuse aviaire est une maladie très contagieuse, d'origine virale. L'agent causal est un *Gallid herpes virus type 1* (GaHV-1) appartenant à la famille des *herpesviridae* et au genre : *Iltovirus*

La laryngotrachéite infectieuse aviaire provoque des lésions sévères au niveau des voies respiratoires et d'importantes pertes économiques dues aux mortalités, à l'amaigrissement des oiseaux et aux chutes de ponte.

En Algérie, plusieurs observations cliniques (râles trachéaux, écoulement nasal, halètement et dyspnée avec expulsion par la toux d'un mucus caséux ou sanguinolent) ont été rapportées au cours de ces dernières années. Ces observations sont basées essentiellement sur des éléments cliniques (râles trachéaux, écoulement nasal, halètement et expulsion par la toux d'un mucus caséux ou sanguinolent.) et aucune donnée sur le profil des virus circulants n'a été mise en avant.

## II. Partie Pratique

---

Pour ce cas clinique, les lésions macroscopiques et microscopiques observées sont pathognomoniques et ont présenté un aspect très proche de celui décrit dans la littérature (Russell and Turner, 1983 ; Maricarmen et al, 2013 ; Abdul Aziz et al, 2016).

L'examen histologique a été un bon outil de diagnostic et de confirmation de la présence de la maladie. Cet examen doit être effectué 3 à 4 jours post-infection car la desquamation de l'épithélium est très rapide ce qui impact sur l'observation des lésions typiques de la LTI (Hayashi et al, 1985 ; Abdul Aziz et al, 2016).

L'examen histologique reste le moyen de diagnostic le plus rapide, d'autres tests peuvent être réalisés comme l'isolement viral sur œufs embryonnés de poulets âgés de 12 jours par inoculation dans la membrane chorioallantoïdienne ou des techniques PCR comme la PCR nichée qui met en évidence l'ADN viral dans les tissus inclus dans de la paraffine après fixation dans le formol.

L'examen sérologique n'est pas très pertinent pour le VLTI car l'immunité qu'il induit est essentiellement de type cellulaire. Même s'il n'a jamais été rapporté de grandes différences dans l'antigenicité des souches virales VLTI, une caractérisation moléculaire du virus circulant dans nos élevages doit être effectuée afin de mieux cerner la problématique de recrudescence de cette maladie dans nos élevages.

A la lumière des résultats histopathologique (dégénération et nécrose des cellules épithéliales avec la formation de syncytiums contenant des corps d'inclusion intranucléaires) et cliniques (Une dyspnée caractéristique de détresse respiratoire, par encombrement de la trachée, expulsion par la toux d'un mucus caséux ou sanguinolent), les suspicions de la LTI ont été confirmé.

D'autres agents pathogènes sont peut-être présents dans les élevages de l'étude et ont favorisé la sévérité des lésions constatées lors d'autopsie (péricardite, périhépatite, aérosacculites...etc.). Malheureusement nous n'avons pas exploité plus de pistes que celle de la LTI.

La lutte contre la LTI repose essentiellement sur la vaccination qui a toujours été le moyen de prévention et de contrôle du virus de la LTI même avec le risque de présence d'oiseaux porteurs latents du virus vaccinal vivant (caractéristiques de certains *herpesvirus*). Ce phénomène permet aux souches vaccinales de persister sur le terrain, avec une possible

## II. Partie Pratique

---

réversion vers la virulence et leur offre la possibilité de circuler dans d'autres élevages non vaccinés.

### II.5. Conclusion et recommandation

L'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement dont l'Algérie faisant partie. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage très sommaires, constituant le lit des infections notamment les pathologies virales à savoir la Laryngotrachéite Infectieuse (LTI), ce qui est à l'origine de la faible productivité en élevage de poule pondeuse (oeufs de consommation) .

Pour cela, notre enquête épidémiologique et histopathologique montre que la LTI représente toujours un problème pour le secteur avicole malgré la vaccination systématique, ce qui pourrait témoigner d'échecs vaccinaux sur le terrain.

Nombreux sont les facteurs de risque qui contribuent à l'aggravation des infections virales tels que le manque d'hygiène, l'absence de biosécurité et un programme de vaccination inadéquat, et qui peut entraîner d'énormes pertes économiques en termes de production (baisse de la ponte). Toutefois, il serait possible de limiter ses dégâts en améliorant les conditions d'élevage.

Son diagnostic sur le terrain est alors délicat en première intention et le recours au laboratoire représente un outil utile de confirmation de l'infection pour faire un diagnostic correct.

Un bon protocole de vaccination, comprenant la vaccination de masse des poules pondeuses, l'utilisation de vaccins, des mesures strictes de biosécurité, un diagnostic rapide sont nécessaires pour minimiser l'apparition de la maladie dans nos exploitations avicoles pour une meilleure production en matière des oeufs de consommation.

## II. Partie Pratique

---

A l'issue de ce présent travail, nous pouvons recommander ce qui suit :

1- Pour la réussite d'un élevage avicole, la maîtrise de la conduite d'élevage est nécessaire pour mettre la poule dans un milieu favorable.

2- Au cours de la période d'élevage, l'éleveur devra fixer des objectifs à savoir :

- Produire des jeunes poules saines, bien vaccinées ; pour assurer une bonne viabilité.
- Réaliser une croissance qui se traduit par une bonne homogénéité du lot.
- Obtenir un poids vif compatible avec la maturité sexuelle : 1550g à 5% de ponte pour les souches lourdes et 1350 g pour les souches légères.

Pour avoir une bonne productivité :

- 1- Améliorer les conditions d'élevage par l'instauration d'une conduite alimentaire et d'un calendrier vaccinale strict.
- 2- Eviter de laisser les portes des bâtiments ouvertes pour éviter l'intrusion de germes et l'apparition des maladies virales.
- 3- Contrôle strict du poids des poulettes afin de déterminer les quantités d'aliment à distribuer aux poulettes pour éviter tout retard dans leur maturité sexuelle.
- 4- Revoir le calendrier vaccinal et rechercher l'origine de la réapparition des maladies infectieuses en phase de production causant ainsi des pertes considérables sur le plan productivité et sur le plan économique.
- 5- Introduction de nouvelles techniques d'élevage, former et renforcer le personnel.
- 6- Sur le plan épidémiologique, des enquêtes descriptives avec un échantillon tiré au sort afin d'estimer la prévalence réelle de la LTI, puis l'extrapoler à l'ensemble de la population paraissent nécessaires.
- 7- Sur le plan économique, une sensibilisation des acteurs de la filière avicole quant à l'importance de la vaccination contre la LTI est nécessaire.

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques

- ABDULAZIZ ET AL, 2016 : AVIAN HISTOPATHOLOGIE, 4th Edition. Infectious laryngotracheitis. 6:24-232.
- ADAIR, B., TODD, D., MCKILLOP, E. & BURNS, K. 1985. Comparison of serological tests for detection of antibodies to infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 14, 461-469.
- ALARAJI, F., HAMMADI, H., ABED, A. & KHUDHAIR, Y. Molecular detection and phylogenetic tree of infectious laryngotracheitis virus in layers in Al-Diwaniyah province, Iraq, *Veterinar World*, 12 (4): 605-608. 2019. Abstract.
- ALEXANDER, H. S. & NAGY, É. 1997. Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens. *Avian diseases*, 646-653.
- ARMSTRONG, W. 1959. A slide smear technique for the diagnosis of laryngotracheitis. *Avian diseases*, 3, 80-84.
- AZIZ, T. 2010. Infectious laryngotracheitis (ILT) targets broilers. *World Poultry*, 25, 28-30.
- BAGUST, T., JONES, R. & GUY, J. 2000. Avian infectious laryngotracheitis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 19, 483-492.
- BAGUST, T. J., B.W.CALNEK & K.J.FAHEY, A. 1986. Laryngotracheitis (gallid-1) herpesvirus infection in the chicken 4. latency establishment by wild and vaccine strains of ILT virus. *Avian Pathology*, 15, 581-595.
- BARHOOM, S. Outbreak of laryngotracheitis (LT) in vaccinated commercial layer flocks in Palestine. Proceedings of the 2nd Scientific Conference of animal wealth research in the Middle East and North Africa, Cairo International Convention Center, 24-26 October, 2009, 2009. Massive Conferences and Trade Fairs, 176-182.
- BRANDLY, C. 1936. Studies on the egg-propagated viruses of infectious laryngotracheitis and fowl pox. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 88, 587-599.
- CHACÓN, J. L., NÚÑEZ, L. F. N., VEJARANO, M. P., PARRA, S. H. S., ASTOLFI-FERREIRA, C. S. & FERREIRA, A. J. P. 2015. Persistence and spreading of field and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in vaccinated and unvaccinated geographic regions, in Brazil. *Tropical animal health and production*, 47, 1101-1108.
- CHANG , YATES V.J. & D.E., D. A. H. F. 1960. Some observations of the propagation of infectious laryngotracheitis virus in tissue culture. *Avian diseases*, 4, 484-490.
- CHANG, P., JASTY, V., FRY, D. & YATES, V. 1973. Replication of a cell-culture-modified infectious laryngotracheitis virus in experimentally infected chickens. *Avian diseases*, 683-689.
- DALAB, A. E. 2012. Molecular Diagnosis of Explosive Outbreak of Infectious Laryngotracheitis (ILT) by Polymerase Chain Reaction in Palestine. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 36.

## Références bibliographiques

---

- DE MACEDO COUTO, R., PREIS, I. S., BRAGA, J. F. V., BRASIL, B. S., DRUMMOND, M. G., DA SILVA MARTINS, N. R. & ECCO, R. 2015. Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus in naturally infected egg layer chickens in a multi-age flock in Brazil. *Archives of virology*, 160, 241-252.
- DUFOUR-ZAVALA, L. 2008. Epizootiology of infectious laryngotracheitis and presentation of an industry control program. *Avian diseases*, 52, 1-7.
- EBRAHIMI, POURBAKSH S.A., SHAHSAVANDI, S., MOMAYEZ, R., AND GHOLAMI, M. R. & 2003. Isolation and Identification of Infectious Laryngotracheitis Virus from Commercial Flocks of Iran Using Various Techniques. *Arch. Razi Ins.*, 56, 11-22.
- ERIC, GINGERICH & DAVISON, A. S. 2005. Current practices to control infectious Laryngotracheitis in the U.S. *Northeastern Conference on Avian Diseases*, 37-39.
- GARCÍA, M. & ZAVALA, G. 2019. Commercial vaccines and vaccination strategies against infectious laryngotracheitis: what we have learned and knowledge gaps that remain. *Avian diseases*, 63, 325-334.
- GIMENO, I.M., CORTES, A.L., GUY, J.S., TURPIN, E., WILLIAMS, C., 2011. Replication of recombinant herpesvirus of turkey expressing genes of infectious laryngotracheitis virus in specific pathogen free and broiler chickens following in ovo and subcutaneous vaccination. *Avian Pathol.* 40, 395–403.
- GOMES, B. 2008. mise en oeuvre et gestion des mesures de protection de la santé animale contre la Laryngotrachéite infectieuse aviaire dans la région de Bastos, Jaboticabal, Sao Paulo, Brésil.
- GOUGH, A., PETTIT, J., GAGNON, A. & WEBER, L. 1977. An outbreak of infectious laryngotracheitis in commercial poultry flocks in Ontario. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 41, 146.
- GOWTHAMAN, V., KUMAR, S., KOUL, M., DAVE, U., MURTHY, T. G. K., MUNUSWAMY, P., TIWARI, R., KARTHIK, K., DHAMA, K. & MICHALAK, I. 2020. Infectious laryngotracheitis: Etiology, epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control—a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 40, 140-161.
- GOWTHAMAN, V., SINGH, S. D., DHAMA, K., BARATHIDASAN, R., MATHAPATI, B. S., SRINIVASAN, P., SARAVANAN, S. & RAMAKRISHNAN, M. A. 2014. Molecular detection and characterization of infectious laryngotracheitis virus (Gallid herpesvirus-1) from clinical samples of commercial poultry flocks in India. *VirusDisease*, 25, 345-349.
- GUY, JAMES S. & GARCIA, M. 2008. Laryngotracheitis. *Diseases of poultry*, 137-152.
- GUY, J. & BAGUST, T. 2003. Laryngotracheitis, In *Diseases of poultry*, 11th Ed. *Iowa State University Press, Ames*, 121-134.
- GUY, J., BARNES, H. & SMITH, L. G. 1992. Rapid diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure. *Avian Pathology*, 21, 77-86.

## Références bibliographiques

---

- GUY, J.S., GIMENO, I., WEST, M., 2010a. Experimental evaluation of in ovo administered virus-vectored laryngotracheitis virus vaccines for prevention of disease in broiler chickens. In: 2010 AAAP Annual Meeting, Atlanta, GA, United States of America.
- GUY, J.S., GIMENO, I.M., WEST, M., 2010b. Recombinant laryngotracheitis virus vaccines: evaluation of effectiveness for prevention of disease in commercial broiler chickens, Project report. Department of Population Health and Pathobiology, North Carolina State University College of Veterinary Medicine, Raleigh, North Carolina, pp. 1–17.
- HAYASHI, S., ODAGIRI, Y., KOTANI, T. & HORIUCHI, T. 1985. Pathological changes of tracheal mucosa in chickens infected with infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 943-950.
- HINSHAW, W., JONES, E. & GRAYBILL, H. 1931. A study of mortality and egg production in flocks affected with infectious laryngotracheitis. *Poultry Science*, 10, 375-382.
- HITCHNER, S., FABRICANT, J. & BAGUST, T. 1977. A fluorescent-antibody study of the pathogenesis of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 185-194.
- HUGHES, C., JONES, R., GASKELL, R., JORDAN, F. & BRADBURY, J. 1987. Demonstration in live chickens of the carrier state in infectious laryngotracheitis. *Research in Veterinary Science*, 42, 407-410.
- JAMES S, J., G. A. T. & BAGUST 2008. Laryngotracheitis in : SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry, 12th Edition*, 121-134.
- JOHNSON, D.I., VAGNOZZI, A., DOREA, F., RIBLET, S.M., MUNDT, A., ZAVALA, G., GARCÍA, M., 2010. Protection against infectious laryngotracheitis by in ovo vaccination with commercially available viral vector recombinant vaccines. *Avian Dis.* 54, 1251–1259.
- JORDAN & CHUBB 1962. The agar gel diffusion technique in the diagnosis of infectious laryngotracheitis (ILT) and its differentiation from fowl pox. *Res. Vet. Sci.*, 245-255.
- KEAM, L., YORK, J. J., SHEPPARD, M. & FAHEY, K. 1991. Detection of infectious laryngotracheitis virus in chickens using a non-radioactive DNA probe. *Avian diseases*, 257-262.
- KIRKPATRICK, N. C., MAHMOUDIAN, A., COLSON, C. A., DEVLIN, J. M. & NOORMOHAMMADI, A. H. 2006. Relationship between mortality, clinical signs and tracheal pathology in infectious laryngotracheitis. *Avian Pathology*, 35, 449-453.
- LINARES, J., BICKFORD, A., COOPER, G., CHARLTON, B. & WOOLCOCK, P. 1994. An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers. *Avian diseases*, 188-192.
- LEE, S.-W., MARKHAM, P.F., COPPO, M.J.C., LEGIONE, A.R., MARKHAM, J.F., NOORMOHAMMADI, A.H., BROWNING, G.F., FICORILLI, N., HARTLEY, C.A., DEVLIN, J.M., 2012. Attenuated animal vaccines have recombined to form virulent field viruses. *Science* 337, 188.
- MCNULTY, M., ALLAN, G. & MCCRACKEN, R. 1985. Infectious laryngotracheitis in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 39, 124-125.

## Références bibliographiques

---

- MEULEMANS, G. & HALEN, P. 1978. Some physico-chemical and biological properties of a Belgian strain (u 76/1035) of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 7, 311-315.
- MARICARMEN ET AL, 2013. Diseases of poultry. Infectious Laryngotracheitis. 5: 161-174.
- NEFF, C., SUDLER, C. & HOOP, R. 2008. Characterization of western European field isolates and vaccine strains of avian infectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism and sequence analysis. *Avian diseases*, 52, 278-283.
- OIE 2014. Avian infectious laryngotracheitis. *Man Diagn Tests Vaccines Terr Anim*, Chapter 2.3.3.
- OIE 2018. Chapter : 2.3.3 Avian infectious laryngotracheitis. *OIE terrestrial manual*.
- OLDONI, I., RODRIGUEZ-AVILA, A., RIBLET, S. M., ZAVALA, G. & GARCIA, M. 2009. Pathogenicity and growth characteristics of selected infectious laryngotracheitis virus strains from the United States. *Avian Pathology*, 38, 47-53.
- OLDONI, I., GARCÍA, M., 2007. Characterization of infectious laryngotracheitis virus isolates from the United States by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of multiple genome regions. *Avian Pathol.* 36, 167–176.
- OLDONI, I., RODRIGUEZ-AVILA, A., RIBLET, S., GARCIA, M., 2008. Characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) isolates from commercial poultry by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCRRFLP). *Avian Dis.* 52, 59–63.
- OLLIS, G. 2008. Infectious laryngotracheitis in poultry *Agri-Facts*
- PREIS, I. S., BRAGA, J. F., COUTO, R. M., BRASIL, B. S., MARTINS, N. R. & ECCO, R. 2013. Outbreak of infectious laryngotracheitis in large multi-age egg layer chicken flocks in Minas Gerais, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 591-596.
- PURCELL, D. 1971. Histopathology of infectious laryngotracheitis in fowl infected by an aerosol. *Journal of comparative pathology*, 81, 421-431.
- ROBERTSON, G. & EGERTON, J. 1981. Replication of infectious laryngotracheitis virus in chickens following vaccination. *Australian Veterinary Journal*, 57, 119-123.
- RODRIGUEZ-AVILA, A., OLDONI, I., RIBLET, S., GARCIA, M., 2008. Evaluation of the protection elicited by direct and indirect exposure to live attenuated infectious laryngotracheitis virus vaccines against a recent challenge strain from the United States. *Avian Pathol.* 37, 287–292.
- RODRIGUEZ-AVILA, A., OLDONI, I., RIBLET, S., GARCIA, M., 2007. Replication and transmission of live attenuated infectious laryngotracheitis virus (ILTV) vaccines. *Avian Dis.* 51, 905–911.
- RUSSELL, R. 1983. Respiratory tract lesions from infectious laryngotracheitis virus of low virulence. *Veterinary pathology*, 20, 360-369.

## Références bibliographiques

---

- RUSSELL, R. & TURNER, A. 1983. Characterization of infectious laryngotracheitis viruses, antigenic comparison by kinetics of neutralization and immunization studies. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47, 163.
- SAEPULLOH, M. 2004. Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILTAV) isolates from outbreak cases at Lipa City, Batangas Province, The Philippines. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 9, 26-36.
- SARY, K., CHÉNIER, S., GAGNON, C. A., SHIVAPRASAD, H., SYLVESTRE, D. & BOULIANNE, M. 2017. Esophagitis and pharyngitis associated with avian infectious laryngotracheitis in backyard chickens: two cases. *Avian diseases*, 61, 255-260.
- SCHOLZ, E., PORTER, R. E. & GUO, P. 1994. Differential diagnosis of infectious laryngotracheitis from other avian respiratory diseases by a simplified PCR procedure. *Journal of virological methods*, 50, 313-321.
- SEIFRIED, O. 1931. Histopathology of infectious laryngotracheitis in chickens. *The Journal of experimental medicine*, 54, 817-826.
- TIMURKAAN, N., YILMAZ, F., BULUT, H., OZER, H. & BOLAT, Y. 2003. Pathological and immunohistochemical findings in broilers inoculated with a low virulent strain of infectious laryngotracheitis virus. *Journal of veterinary science*, 4, 175-180.
- VAN KAMMEN, A. & SPRADBROW, P. 1976. Rapid diagnosis of some avian virus diseases. *Avian diseases*, 748-751.
- VANDERKOP, M. A. 1993. Alberta. Infectious laryngotracheitis in commercial broiler chickens. *The Canadian Veterinary Journal*, 34, 185.
- VAGNOZZI, A., ZAVALA, G., RIBLET, S.M., MUNDT, A., GARCIA, M., 2012. Protection induced by commercially available live-attenuated and recombinant viral vector vaccines against infectious laryngotracheitis virus in broiler chickens. *Avian Pathol.* 41, 21–31.
- VASUDEVAN, G., MONIKA, K. & SACHIN, K. 2016. Avian infectious laryngotracheitis: A neglected poultry health threat in India. *Vaccine*, 34, 4276-4277.
- WILKS, C. & KOGAN, V. 1979. An immunofluorescence diagnostic test for avian infectious laryngotracheitis. *Australian Veterinary Journal*, 55, 385-388.
- WILLIAMS, R., BENNETT, M., BRADBURY, J., GASKELL, R., JONES, R. & JORDAN, F. 1992. Demonstration of sites of latency of infectious laryngotracheitis virus using the polymerase chain reaction. *Journal of general virology*, 73, 2415-2420.
- YORK, J. J., YOUNG, J. & FAHEY, K. 1989. The appearance of viral antigen and antibody in the trachea of naive and vaccinated chickens infected with infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 18, 643-658.

# Annexe

---

## Fiche de prélèvement

### I. Informations générales :

1. Nom du vétérinaire : .....

2. Date de prélèvement : ...../...../.....

2. Lieu de prélèvement : .....

### II. Renseignements concernant l'élevage :

1. Type d'élevage :

\* *reproducteur chair*

\* *poule pondeuse*

\* *poulet de chair*

2. Age de la bande : .....

3. Effectif dans le Bâtiment : .....

4. Souche de poule ou poulet : .....

### III. Renseignements cliniques :

1. Date d'apparition de l'épisode clinique : ..../..../.....

2. Signes cliniques (symptômes + lésions) :

\* *Respiratoires*

\* *Digestifs*

\* *Rénaux*

\* *Génitaux*

\* *Autres* : .....

3. Mortalité : .....

4. Suspicion du vétérinaire : .....

5. Traitement préconisé : .....