

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
People's Democratic Republic of Algeria  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministry of Higher Education and Scientific Research



Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

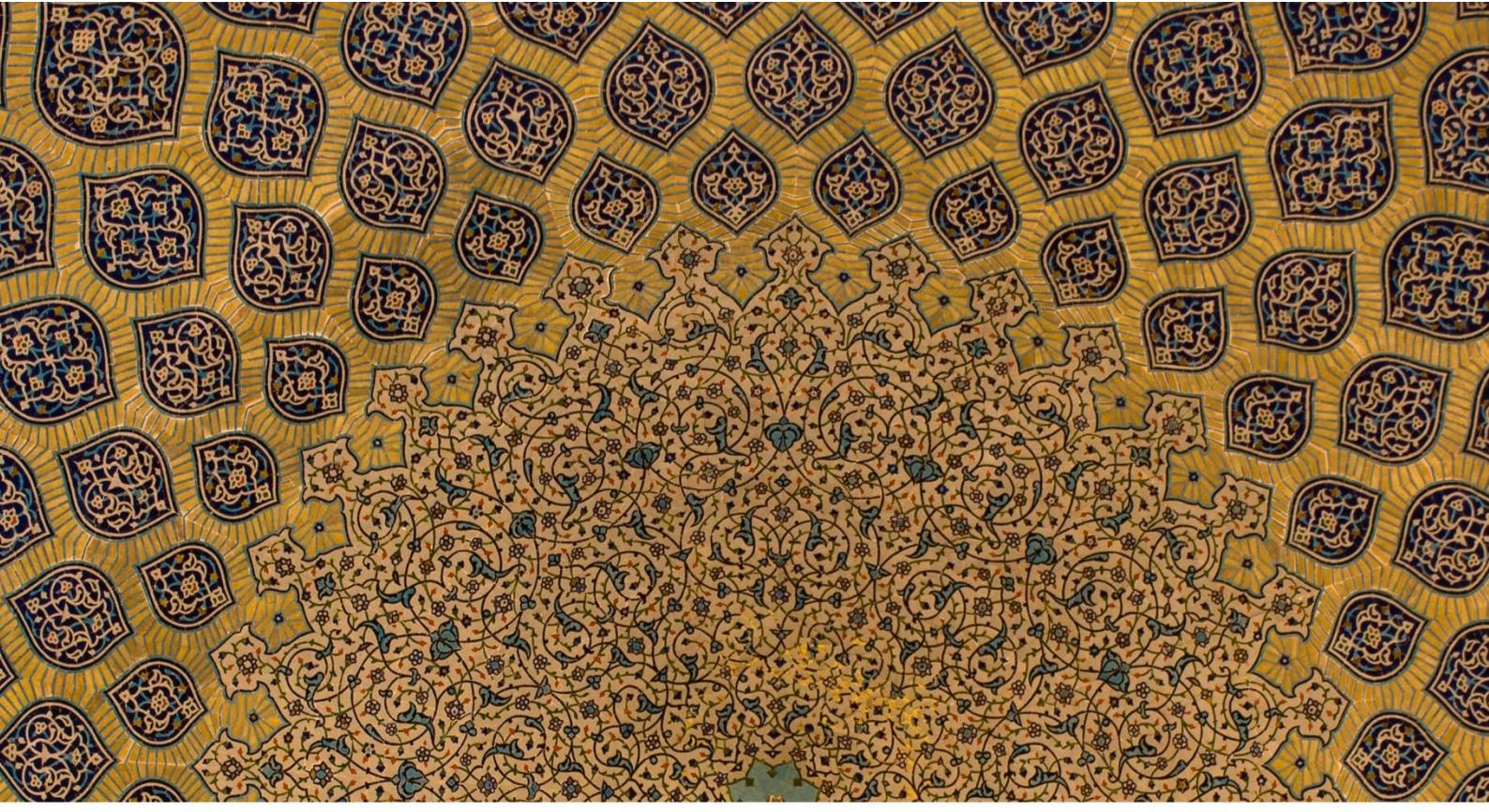
**Suivi sérologique de la Bronchite infectieuse dans un élevage avicole à Bouira**

Présenté par  
**IHKLEF ISLAM ZAKARIA**

Présenté devant le jury :

<b>Président :</b>	Dr KEBOUR Djamila	<b>Pr</b>	<b>ISV/Blida 1</b>
<b>Examinateur :</b>	Dr HEZIL Nadia	<b>MCA</b>	<b>ISV/Blida 1</b>
<b>Promoteur :</b>	Dr HAMMAMI Nabila	<b>MCA</b>	<b>ISV/Blida 1</b>

Année universitaire 2024/2025



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

Avant tout, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant pour la santé, la force et la persévérance qu'il m'a accordées tout au long de ce parcours académique. Mes remerciements les plus sincères et respectueux vont à **Madame HAMMAMI Nabila**, enseignante-chercheuse à l'Université de Blida 1, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité constante, et la qualité de ses conseils tout au long de cette recherche. Son accompagnement a été d'un grand soutien.

J'adresse également ma profonde reconnaissance à **Madame Djamila Kebour**, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi qu'à **Madame Nadia Hezil**, examinatrice, pour l'attention portée à ce mémoire et la pertinence de ses remarques constructives.

Je n'oublie pas de remercier chaleureusement l'ensemble des enseignants du **Département des Sciences Vétérinaires de l'Université Saad Dahlab – Blida 1** pour la qualité de l'enseignement dispensé, leur professionnalisme et leur engagement.

Ma gratitude va tout particulièrement à ma famille, pour son soutien indéfectible, ses prières constantes et sa confiance tout au long de ces années d'étude.

Enfin, je remercie mes camarades et amis, pour les moments d'échange, d'entraide et de solidarité, qui ont fait de cette aventure universitaire une expérience humaine inoubliable.

À toutes et à tous, je dis simplement : **merci du fond du cœur.**

IHKLEF ISLAM ZAKARIA

## Dédicace

### À mes chers parents,

Vous êtes ma source de force, mes racines profondes et mon abri sûr. Par votre patience infinie, vos sacrifices discrets et votre amour inébranlable, vous avez façonné la personne que je suis aujourd’hui. Cette réussite est avant tout la vôtre. Que Dieu vous accorde une longue vie, une santé florissante et une paix intérieure durable. Je vous dédie ce mémoire avec tout mon amour et ma gratitude éternelle.

### À ma mère,

Ta tendresse, tes prières et ta foi constante en moi ont toujours été mon plus solide pilier. Tu es présente dans chaque mot, chaque page et chaque souffle de ce travail.

### À mon père,

Ton regard exigeant, toujours teinté de bienveillance, m'a sans cesse poussée à donner le meilleur de moi-même. Ce mémoire est aussi un hommage à ton intégrité, ton labeur et ta dignité.

### À mes frères et sœurs,

Merci pour votre soutien discret mais constant, vos mots d'encouragement dans les moments de doute, et vos sourires réconfortants qui ont allégé les jours les plus éprouvants.

### À mon encadrante,

**Madame HAMMAMI Nabila**, votre rigueur, votre bienveillance intellectuelle et vos conseils éclairés ont profondément enrichi ce travail. Merci pour votre accompagnement exigeant et respectueux, et pour m'avoir permis d'apprendre en toute autonomie.

### À mes enseignants,

Merci pour la qualité de l'enseignement transmis et pour votre exemplarité. Vous avez semé en moi les fondements du raisonnement scientifique et éveillé en moi une curiosité intellectuelle durable.

### À mes camarades de promotion,

Merci pour les souvenirs partagés, les échanges enrichissants et les défis surmontés ensemble. Vous avez donné à ce parcours académique une dimension humaine et mémorable.

### Et enfin,

À toutes celles et ceux qui croient que le savoir est une forme de liberté —  
Ce mémoire vous est également dédié.

## RESUME

L'objectif de ce travail est de réaliser un monitoring sérologique dans un élevage reproducteur Ponte de souche Tetra SL dans la région de Bouira afin de contrôler l'efficacité vaccinale contre la Bronchite infectieuse aviaire. Au total 145 sujets ont été prélevés par la méthode de Campbell répartis sur 7 dates à l'âge de J1, 5 semaines, 7 semaines, 14 semaines, 27 semaines ,32 semaines et 36 semaines tout au long de l'élevage à savoir 145 sérum analysé par la technique ELISA avec des kit IDEvet. la moyennes et coefficient de variation ont été calculé.

Notre étude sérologique en élevage avicole a permis de mettre en évidence les anticorps anti Coronavirus à savoir respectivement: **J1** (TM : 14200 et %CV : 20), **5 semaines** (TM : 16000 et %CV : 25), **8 semaines** (TM : 12240 et %CV : 30), **14 semaines** (TM : 10300 et %CV : 30), **27 semaines** (TM : 14300 et %CV : 60), **32 semaines** (TM : 13650 et %CV : 20) et **36 semaines** (TM : 14180 et %CV : 20). En conclusion, la réponse vaccinale contre la bronchite infectieuse s'est révélée globalement satisfaisante, bien que marquée par une hétérogénéité à certaines périodes (%CV élevé). Il est donc recommandé d'ajuster le protocole vaccinal en fonction des résultats sérologiques et du contexte épidémiologique local.

**Mots-clés :**, Bronchite Infectieuse, Sérologie, ELISA, Vaccination, Elevage avicole, Enquête.

## **Summary**

The aim of this study was to carry out serological monitoring in a Tetra SL strain laying breeding flock in the Bouira region in order to check the effectiveness of the vaccine against avian infectious bronchitis. A total of 145 subjects were sampled using the Campbell method, spread over 7 dates at the age of D1, 5 weeks, 7 weeks, 14 weeks, 27 weeks, 32 weeks and 36 weeks throughout the rearing period, 145 sera analysed using the ELISA technique with the IDEvet kit. The mean values and coefficient of variation were calculated.

Our serological study in poultry farming revealed the presence of anti-Coronavirus antibodies with the following results: day 1 (mean titer: 14200 and %CV: 20), 5 weeks (mean titer: 16000 and %CV: 25), 8 weeks (mean titer: 12240 and %CV: 30), 14 weeks (mean titer: 10300 and %CV: 30), 27 weeks (mean titer: 14300 and %CV: 60), 32 weeks (mean titer: 13650 and %CV: 20), and 36 weeks (mean titer: 14180 and %CV: 20).

In conclusion, the overall response to the infectious bronchitis vaccine was satisfactory, although marked by heterogeneity at certain periods (high %CV). It is therefore recommended that the vaccination protocol be adjusted according to the serological results and the local epidemiological context.

**Keywords:** Infectious Bronchitis, Serology, ELISA, Vaccination, Poultry Farming, Investigation.

## ملخص

كان الهدف من هذه الدراسة هو إجراء مراقبة مصلية في قطاع تربية سلالة نتراس.ل. في منطقة البويرة من أجل التحقق من فعالية اللقاح D1 ضد التهاب الهوائية المعدى للطيور. تمأخذ عينات من 145 عينة باستخدام طريقة كامبل، موزعة على 7 تواريخ في عمر أسابيع و 7 أسابيع و 14 أسبوعاً و 27 أسبوعاً و 32 أسبوعاً و 36 أسبوعاً طوال فترة التكاثر، أي 145 مصلأ تم تحليلها باستخدام تقنية

تم حساب القيم المتوسطة ومعامل التباين IDEvet باستخدام مجموعة ELISA.

لقد سمح لنا دراستنا المصلية في مزرعة الدواجن بالكشف عن الأجسام المضادة ضد فيروس كورونا كما يلي على التوالي: اليوم الأول (المتوسط: 14200 ومعامل التغير %: 20)، 5 أسابيع (المتوسط: 16000 ومعامل التغير %: 25)، 8 أسابيع (المتوسط: 12240 ومعامل التغير %: 30)، 14 أسبوعاً (المتوسط: 10300 ومعامل التغير %: 30)، 27 أسبوعاً (المتوسط: 14300 ومعامل التغير %: 60)، 32 أسبوعاً (المتوسط: 13650 ومعامل التغير %: 20) و 36 أسبوعاً (المتوسط: 14180 ومعامل التغير %: 20).

وفي الختام، كانت الاستجابة العامة للقاح التهاب الشعب الهوائية المعدى مرضية، على الرغم من أنها اتسمت بعدم التجانس في فترات معينة (ارتفاع النسبة المئوية للاقح التهاب الشعب الهوائية المعدى). لذلك يوصى بتعديل بروتوكول التطعيم وفقاً للنتائج المصلية والسياق ..الوبائي المحلي

**الكلمات المفتاحية:** التهاب الشعب الهوائية المعدى، علم الأمصال، اختبار الأليزا، التطعيم، تربية الدواجن، التحقيق

# Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

*Introduction générale*..... 1

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**..... 2

**Chapitre I : La Bronchite infectieuse** .....

I-1/Définition :..... 3

I-2/Importance :..... 3

I-3/ Virologie :..... 3

    I-3-1 /Taxonomie :..... 3

    I-3-2 : Morphologie et structure :..... 3

    I-3-3/ Pouvoir antigène et immunogène : ..... 3

I-4/Les manifestations cliniques de la maladie et lésionnelles:..... 3

I-5/ EPIDEMIOLOGIE : .....

    I-5-1/ Épidémiologie descriptive :..... 7

    I-5-2/ Épidémiologie analytique :..... 7

        I-5-2-1/ Facteurs de réceptivité et de sensibilité : .....

        I-5-2-2-2 : Matières virulentes :..... 8

        I-5-2-3/ Mode de transmission :..... 8

    I-5-3/ Diagnostic :..... 8

        I-5-3-1/Diagnostic clinique, épidémiologique et lésionnel : .....

        I-5- 3-2 /Diagnostic de laboratoire :..... 9

I-6/ Bases de la lutte : .....

    I-6-2/ Prophylaxie..... 9

        I-6-2-1/Prophylaxie sanitaire :..... 9

        I-6-2-2 /Prophylaxie médicale :..... 9

**CHAPITRE II : DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE** .....

II-1/Introduction .....

II-2/Principes de la sérologie..... 11

    II-2-1/ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) .....

    II-2-2/Avantages et limites : .....

    II-2-3/Diagnostic sérologique de la bronchite infectieuse (BI) .....

    II-2-4/Interprétation des résultats : .....

**PARTIE EXPÉRIMENTALE**..... 14

## **Table des matières**

---

<b>I-Objectif :.....</b>	<b>15</b>
<b>II-Lieu et dates .....</b>	<b>15</b>
<b>III-Matériels et méthodes .....</b>	<b>15</b>
<b>IV.RESULTAT ET DISCUSSION .....</b>	<b>200</b>
<b>V.Conclusion : .....</b>	<b>22</b>

# Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> L'examen post mortem lors d'une infection par coronavirus révèle une inflammation avec accumulation d'un exsudat séreuse ou caséuse.....	4
<b>Figure 02:</b> Fragilité de la coquille et dépigmentation lors de la BI.....	5
<b>Figure 03 :</b> Œuf sans coquille lors d'une BI. Le virus provoque un dysfonctionnement des échanges de calcium qui est à l'origine de la fragilité des œufs.....	5
<b>Figure 04 : </b> Urolithiase au niveau des ureters.....	5
<b>Figure 05 : </b> Atrophie irréversible du tractus reproducteur et de l'ovaire d'où l'apparition des fausses pondeuses.....	6
<b>Figure 06:</b> Atrophie de la grappe ovarienne lors de la bronchite infectieuse. .....	7
<b>Figure 07 :</b> Matériels de prélèvement.....	17
<b>Figure 08 : </b> Tetra SL.....	17
<b>Figure 09 : </b> Prélèvement à partir de la veine alaire.....	18
<b>Figure 10 : </b> Les tubes collectés et emballés.....	18

## Liste de tableaux :

<b>Tableau 01:</b> Tableau des seuils indicatifs pour BI.....	13
<b>Tableau 02 :</b> Séro-monitoring BI.....	15
<b>Tableau 03 : Seuils indicatifs pour l'interprétation des résultats ELISA pour la bronchite infectieuse (BI).....</b>	20
<b>Tableau 04 : Évolution des titres moyens et coefficients de variation des anticorps contre la maladie Bronchite Infectieuse (IBV) en fonction de l'âge.....</b>	21

## Liste des abréviations

**BI:** Bronchite infectieuse

**ELISA :** Enzyme-Linked Immuno sorbent Assay

**ARN :** Acide ribonucléique

**GLYCOPROTEINE HN :**Glycoproyéinehémagglutinante et neuramidasique,

**GLYCOPROTEINE F:**Glycoprotéine de Fusion

**OIE:**Office internationale des épizooties

**ACIA :**Agence canadienne d'inspection des aliments

**MN:**Maladie de NEWCASTLE

**LTI :**Laryngotrachéite infectieuse

**IHA :** Test d'inhibition et d'hémagglutinatoin

**PCR :**Polymerase Chain Réaction

**OMSA :**Organisation mondiale de la santé animale

**GMT :**Titre moyen géométrique

**TM :**Titre moyen

**CV :**coefficient de variations

**JR :**Jours

**G :**Gor]

**MRC :** Maladie Respiratoire Chronique

## Introduction générale

### Introduction générale

La bronchite infectieuse aviaire (BIA) est une maladie virale les plus connu dans l'industrie avicole à l'échelle mondiale. Elle engendre des pertes économiques considérables estimées à plus de 80 % de la production avicole mondiale annuelle, par la chute de ponte qu'elle engendre et taux de mortalité accélérée (**Fontaine, 1987**).

Dans certaines zones à forte densité avicole, le taux de morbidité atteint 100 % et le taux de mortalité dépasse 80 % en cas de souche variante virulente (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

Pour contrer ces risques, les pays mettent en œuvre des mesures telles que la vaccination systématique, la surveillance et le renforcement de la biosécurité. Cependant, le développement de nouveaux variants vitaux compliquent encore davantage la lutte contre cette pathologie (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

En Algérie, le secteur avicole contribue à hauteur de 65 % à 70 % des besoins nationaux en protéines animales, ce qui en fait un pilier stratégique de la sécurité alimentaire. Néanmoins, des épidémies fréquentes de la bronchite infectieuse aviaire continuent de compromettre la rentabilité des élevages. Selon certaines études locales, la prévalence de la Bronchite infectieuse peut atteindre 60 % à 75 % dans certains élevages., elle reste endémique, avec une circulation persistante de souches variantes diverses malgré une couverture vaccinale estimée à 80 % dans les élevages. Cette situation met en évidence la nécessité d'adapter les protocoles de lutte aux réalités du terrain algérien selon le contexte épidémiologique et de renforcer la formation des acteurs du secteur.

Cette étude ayant objet pour objectif de mettre en évidence l'efficacité vaccinale à travers un monitoring sérologique

Notre travail comporte deux parties :

La première partie qui est bibliographique, s'articule autour de deux chapitres. Le premier présente la maladie de la Bronchite Infectieuse. Le second chapitre présente le diagnostic sérologique.

La seconde partie est consacrée à une étude expérimentale sur la maladie que nous avons recherchée à travers une enquête sérologique. Le matériel et les méthodes utilisées seront décrits, les résultats obtenus, l'interprétation et la discussion des résultats sont détaillé et enfin la conclusion et les recommandations qui en découlent de ce travail.

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## Chapitre I : La Bronchite infectieuse

### I-1/Définition :

La bronchite infectieuse est une maladie virale affectant la poule, plus particulièrement les poules pondeuses et les poussins. Elle est due à un Coronavirus. Elle est caractérisée sur le plan clinique par des signes généraux de fièvre, d'apathie et d'anorexie associés aux signes respiratoires. Chez les pondeuses, ces signes sont accompagnés d'une chute de ponte et d'une baisse de la qualité des œufs (**Karay et al ; 2012**).

### I-2/Importance :

Les principales pertes économiques sont surtout liées à la diminution des performances zootechniques (gain de poids et conversion alimentaire), aux condamnations à l'abattoir à cause d'aérosacculite, à une mortalité due aux agents pathogènes secondaires tels *E. Coli*, *M. gallisepticum* et enfin aux pertes chez les pondeuses suite à la chute de ponte ou aux déclassements des œufs (**Venne et al ; 1992**).

### I-3/ Virologie :

#### I-3-1 /Taxonomie :

Le virus appartient à la famille des coronaviridae et au genre *coronavirus*.

#### I-3-2 : Morphologie et structure :

C'est un virus pléomorphe, de forme arrondie, à ARN double brin et de polarité négative. Le génome penné la synthèse de trois protéines structurales différentes dont la protéine S. Sa sous unité SI est responsable de l'activité hémagglutinine du virus contre laquelle plusieurs anticorps neutralisants sont dirigés. La protéine S joue un rôle dans l'immunité à médiation cellulaire. On connaît actuellement sept sérotypes (**Lezzar; 2017**).

#### I-3-3/ Pouvoir antigène et immunogène :

Le pouvoir antigène est réel car la présence du virus dans un organisme se traduit par l'apparition des anticorps neutralisants et inhibant l'hémagglutination.

### I-4/Les manifestations cliniques de la maladie et lésionnelles:

La morbidité est proche de 100%. La mortalité est souvent faible (sauf avec la souche à tropisme rénal). L'incubation est courte (18-36h).

Les signes cliniques dépendent du sérotype et de son tropisme. Souvent, 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 souvent causée par des infections secondaires (**Karay et al ; 2012**).

#### Signes respiratoires :

Toux, râles trachéaux humides ou bruit de pompe chez les jeunes, éternuements, écoulement nasal séro-muqueux jamais hémorragique, parfois sinus enflés et conjonctivite sérieuse avec yeux humides. On les observe principalement chez le poulet. Ces signes peuvent être accompagnés de symptômes généraux chez les jeunes. La guérison souvent spontanée en deux semaines s'accompagne d'un retard de croissance marqué. Il y a de fréquentes complications de MRC, surtout chez les poulets en fin d'engraissement. Chez les pondeuses plus âgées, les signes sont plus discrets (figure 01) (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).



Dr. Jaime Ruiz

**Figure 01 :** L'examen post mortem lors d'une infection par coronavirus révèle une inflammation avec accumulation d'un exsudat séreux ou caséux (**Kaleta et al ; 1992**).

#### Signes reproducteurs :

Chute de ponte (10-50%), œufs de mauvaise qualité (coquille mince ou absente, pâle ou rugueuse, albumen trop liquide, œufs déformés) (figure 02), lésions à l'oviducte. On les rencontre surtout chez les pondeuses et les reproductrices. Le passage du virus sur des futures pondeuses de moins de deux semaines aura, outre les signes respiratoires, des conséquences désastreuses

sur la ponte (« fausses pondeuses »). Le passage de BI en début de ponte provoque une légère baisse de ponte qui rentre dans l'ordre en 1-2 semaines. La contamination juste après le pic a des conséquences catastrophiques. La maladie en fin de ponte entraîne son arrêt irréversible (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).



**Figure 02 :** Fragilité de la coquille et dépigmentation lors de la BI (**Kaleta et al ;1992**).



**Figure 03 :** Œuf sans coquille lors d'une BI. Le virus provoque un dysfonctionnement des échanges de calcium qui est à l'origine de la fragilité des œufs (**Kaleta et al ; 1992**).

**Signes rénaux** (avec certaines souches virales) : dépression, soif intense, fèces humide, mortalité (**Guérin et al ;2011**).



**Figure 04 :** Urolithiase au niveau des ureters (**Kaleta et al ; 1992**).

#### Lésions :

Trachéite avec mucus ou amas caséux que l'on retrouve aussi dans les bronches 1aires, mousse dans les sacs aériens, écoulement nasal chez les jeunes, parfois sinusite, reins gonflés et pâles avec parfois des cristaux d'urates, rupture des follicules ovariens dans l'abdomen, oviducte kystique chez les adultes ou atrophié chez les poules infectées en cours de croissance (**Guérin et al ;2011**).



**Figure 05 :** Atrophie irréversible du tractus reproducteur et de l'ovaire d'où l'apparition des fausses pondeuses (**Kaleta et al ; 1992**).

Ici, tractus normal à gauche, tractus atrophié à droite



Cornell University

**Figure 06:** Atrophie de la grappe ovarienne lors de la bronchite infectieuse (**Kaleta et al ; 1992**).

#### I-5/ EPIDEMIOLOGIE :

##### I-5-1/ Épidémiologie descriptive :

La bronchite infectieuse affecte les poulets de tout âge avec cependant plus de sévérité chez les poussins. L'infection naturelle de cette maladie est décrite chez les poulets et les faisans qui sont les seuls hôtes du virus. Dans un élevage, la maladie évolue sous une forme clinique aiguë en 48 heures chez les sujets de moins de six semaines (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

##### I-5-2/ Épidémiologie analytique :

###### I-5-2-1/ Facteurs de réceptivité et de sensibilité :

- **Facteurs extrinsèques :**

La mauvaise conduite de l'élevage favorise la persistance de la maladie et contribue à sa diffusion dans le milieu extérieur.

- **Facteurs intrinsèques :**

- **Espèces :**

L'espèce affectée est la poule (*Gallus gallus*). Le faisan est également cité comme hôte naturel (**Guérin et al., 2011**).

- **Age :**

La maladie affecte les oiseaux de tout âge mais elle est plus sévère chez les poussins (**brugere-Picoux et al ; 1992**).

**I-5-2-2 : Sources du virus et matières virulentes :****I-5-2-2-1/ Sources :**

Les oiseaux infectés sont les principales sources du virus. Le milieu extérieur est contaminé par les déjections. Les aliments contaminés et l'eau souillée constituent également des sources de virus (**Guérin et al ; 2011**).

**I-5-2-2-2 : Matières virulentes :**

Elles sont constituées par les fientes, le matériel et les installations, les aliments et l'eau contaminés ainsi que les organes (trachée, poumon, reins et bourse de Fabricius) et les produits d'excrétion (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

**I-5-2-3/ Mode de transmission :**

- **Contagion :**

La contagion est principalement de type horizontal. Le matériel et les installations contaminés constituent la source potentielle de transmission directe.

Le virus se transmet d'un oiseau infecté à un oiseau sain par aérosol (**Guérin et al ;2011**).

- **Voie de pénétration :**

La voie respiratoire reste la voie de prédilection pour le virus.

**1-3-4 Épidémiologie synthétique :**

Dans un élevage, la bronchite infectieuse apparaît lors de l'introduction du germe par des individus malades ou par des matériaux souillés. La résistance du virus en milieu extérieur accentue son expansion déjà réelle (**Kaleta et al ; 2012**).

**I-5-3/ Diagnostic :****I-5-3-1/*Diagnostic clinique, épidémiologique et lésionnel :***

On pensera à la maladie en présence d'un processus morbide caractérisé par des troubles respiratoires aigus et contagieux, accompagnés chez les pondeuses de chute de ponte et de production d'œufs animaux.

A l'autopsie, on notera la présence d'un exsudat caséux à la bifurcation de la bronche, dans les conduits nasaux et dans les sinus. Il s'ensuit une trachéite et une laryngite évoluant de la forme catarrhale à la forme fibrino-nécrotique ; une aérosacculite qui se présente sous forme d'une opacification des sacs aériens et une sinusite infra orbitaire. Dans le cas du virus néphrogène, le

rein est hypertrophié, pâle avec un dépôt d'urate blanchâtre dans le parenchyme. On a également signalé des cas d'ovarite chez les pondeuses (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

#### I-5- 3-2 /Diagnostic de laboratoire :

Plusieurs méthodes de diagnostics sont utilisées :

- **Virologie :**

Le meilleur moyen de déterminer les souches présentes dans une zone est l'isolement et l'identification virale. La trachée, les poumons, le rein, l'oviducte et les amygdales caecales sont les organes de choix. La culture du virus se fait sur embryon de poulet de 9 à 11 jours. L'inoculation s'effectue dans le sac allantoïdien. Il se produit alors un arrêt de croissance et une néphrose (**Guérin et al., 2011**).

- **Sérologie :**

Les méthodes sérologiques les plus utilisées sont l'ELISA indirect, l'inhibition de l'hémagglutination et la neutralisation virale. Le test de neutralisation est le plus spécifique lorsqu'il s'agit de sérotypage. L'inhibition de l'hémagglutination, moins coûteuse, est aussi applicable. Elle est capable de différencier les sérotypes chez les oiseaux lors de leur premier contact avec le virus et est plus sensible que le test de neutralisation. L'ELISA, l'outil idéal car d'usage facile, est cependant très coûteux (**Brugere-Picoux et al ; 1992**).

### I-6/ Bases de la lutte :

#### I-6-2/ Prophylaxie

##### I-6-2-1/Prophylaxie sanitaire :

Le virus étant largement répandu dans le milieu extérieur, il est utopique d'espérer éviter son introduction dans l'élevage. La désinfection en particulier et l'hygiène de l'élevage, de l'alimentation et de l'habitat permettront de réduire la pression de ce virus dans un élevage (**Fontaine ,1987**).

##### I-6-2-2 /Prophylaxie médicale :

La vaccination est très efficace. Deux types de vaccins, vivant et inactivé, sont disponibles sur le marché.

- Vaccins à virus vivants :

La souche H120, très atténuée, est utilisée chez les poussins d'un jour sans risque de provoquer des troubles respiratoires. La souche H52, moins atténuée est réservée aux rappels.

- Vaccins à virus inactivés :

Ils sont utilisés chez les pondeuses avant la ponte à l'âge de 14 à 20 semaines (**Kaleta et al ; 1992**).

## CHAPITRE II : DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

### II-1/Introduction

Le diagnostic sérologique est une méthode fondamentale en médecine vétérinaire pour identifier les maladies infectieuses, notamment chez les volailles. Cette approche repose sur la détection d'anticorps spécifiques dans le sérum, qui témoignent d'une exposition antérieure ou actuelle à un agent pathogène, ou d'une réponse immunitaire à la vaccination. Dans le contexte des maladies virales aviaires, telles que la bronchite infectieuse (BI), le diagnostic sérologique est crucial pour surveiller l'état immunitaire des troupeaux, confirmer les infections et évaluer l'efficacité des programmes de vaccination. Cette maladie, causé par le virus de la bronchite infectieuse (IBV), a un impact économique significatif sur l'industrie avicole en raison de son haute contagiosité et de son effet sur la productivité (**Alexander et al ;1976**).

### II-2/Principes de la sérologie

La sérologie vétérinaire consiste à détecter des anticorps ou des antigènes dans le sérum pour diagnostiquer des infections ou évaluer l'immunité. Les tests sérologiques les plus courants incluent l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), l'inhibition de l'hémagglutination (HI) et la neutralisation virale (**Veterian Key; 2016**). Parmi ceux-ci, l'ELISA est privilégié pour sa sensibilité, sa spécificité et sa capacité à traiter un grand nombre d'échantillons simultanément. Ces tests permettent de distinguer les oiseaux vaccinés des oiseaux infectés, bien que l'interprétation nécessite une connaissance des antécédents de vaccination et des conditions d'élevage (**IDEXX; 2017**).

#### II-2-1/ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

L'ELISA est une technique immuno-enzymatique largement utilisée pour détecter et quantifier les anticorps dans le sérum. Dans l'ELISA indirect, couramment employé pour ND et BI, un antigène viral est immobilisé sur une plaque à puits. Le sérum de l'animal est ajouté, permettant aux anticorps spécifiques, s'ils sont présents, de se lier à l'antigène (**Alhajj et al ;2023**).

Un anticorps secondaire conjugué à une enzyme (souvent la peroxydase de raifort) est ensuite ajouté, se liant aux anticorps primaires. L'ajout d'un substrat chromogène, comme le TMB, provoque une réaction colorimétrique mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm, indiquant la quantité d'anticorps présents (**Alhajj et al ;2023**).

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

### II-2-2/Avantages et limites :

L'ELISA présente plusieurs avantages :

- Haute sensibilité et spécificité : Permet une détection précise des anticorps.
- Automatisation : Facilite le traitement de multiples échantillons.
- Polyvalence : Applicable à diverses maladies aviaires.

Cependant, des limites existent :

- Faux positifs/négatifs : Possibles en raison de réactions croisées ou de variations dans les échantillons.
- Contexte requis : L'interprétation dépend des antécédents de vaccination et d'exposition (**Alexander et al ;1976**).

### II-2-3/Diagnostic sérologique de la bronchite infectieuse (BI)

La bronchite infectieuse, causée par le virus IBV (un coronavirus aviaire), affecte principalement les voies respiratoires et reproductrices des volailles. L'ELISA est utilisé pour détecter les anticorps contre IBV, permettant de surveiller les infections et l'efficacité des vaccins. Le kit "ID Screen® Infectious Bronchitis Indirect 2.0" d'IDVET est particulièrement efficace, détectant tous les variants d'IBV, y compris les souches QX et 793B, avec une haute sensibilité et un faible bruit de fond (**Merck Veterinary Manual ; 2024**).

### II-2-4/Interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats pour BI suit des principes similaires à ceux de ND :

- **Vaccination** : Des titres élevés peu après la vaccination indiquent une bonne immunité.
- **Infection** : Une augmentation des titres entre deux échantillons (par exemple, à 10-14 jours d'intervalle) suggère une infection récente.

Tests en série : Les tests de sérum appariés sont recommandés pour confirmer une infection, un profil « faible-élevé » indiquant une exposition récente (**BioChek ; 2017**).

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

**Tableau 01:** Tableau des seuils indicatifs pour BI (Innovative Diagnostics; 2023).

Titre (GMT)	Interprétation	Contexte
< 200	Négatif	Absence d'exposition ou vaccination
200–1000	Positif faible	Vaccination ou exposition ancienne
> 1000	Positif fort	Réponse vaccinale ou infection récente

**Note :** Les seuils dépendent du kit utilisé et des recommandations du fabricant.

Le diagnostic sérologique, en particulier par ELISA, est un outil indispensable pour la gestion des maladies virales aviaires comme ND et BI. Il permet non seulement de diagnostiquer les infections, mais aussi de surveiller l'efficacité des programmes de vaccination, contribuant ainsi à réduire les pertes économiques et à améliorer la santé des élevages avicoles. Les kits comme ceux d'IDVET offrent des solutions fiables et adaptées aux besoins de l'industrie avicole, avec des résultats reproductibles et une interprétation guidée par des seuils établis.

## **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

---

**PARTIE EXPÉRIMENTALE**

## **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

### **I-Objectif :**

L'objectif de notre étude est de réaliser un suivi sérologique afin d'évaluer l'efficacité de la vaccination contre la Bronchite infectieuse aviaire. Pour cela, nous avons utilisé la méthode sérologique ELISA permettant le titrage des anticorps spécifiques dirigés contre cette pathologie. L'étude a été menée au sein d'un élevage de reproducteurs ponte situé dans la région de BOUIRA, dans le but de vérifier la réponse immunitaire induite par la vaccination et d'en juger l'efficacité.

### **II-Lieu et dates**

Notre travail a été réalisé au niveau d'un élevage de type Reproducteur Ponte situé dans la région de BOUIRA de la période de 24/12/2024 au 24 / 09/2025 soit une période de 36 semaines.

La partie sérologie a été effectuée au niveau du laboratoire VetLab situé à Blida.

### **III-Matériels et méthodes :**

#### **Animaux et Prélèvements**

Les prélèvements ont été effectués sur des poussins reproducteurs de la souche Tetra SL, âgés d'un jour au début de l'essai. Les animaux ont été répartis au niveau des bâtiments. Afin de garantir un suivi longitudinal, des individus ont été bagués pour tenter de conserver la même cohorte tout au long de l'essai. Des échantillons de sang ont été collectés périodiquement après chaque vaccination afin de quantifier le taux d'anticorps jusqu'à l'âge de 36 semaines.

Durant toute la période de suivi, allant de la mise en place jusqu'à la 36<sup>e</sup> semaine, un total de 145 individus ont été prélevés, permettant la collecte de 145 sérums. Ces échantillons ont servi à l'analyse sérologique de la maladie étudiée.

#### **A- Technique de prélèvement :**

##### **Matériel de prélèvement :**

-Une lame de bistouri ou une aiguille.

-Des tubes secs de 5 ml.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

### Méthode de prélèvement :

- Les prises de sang sont réalisées à l'intérieur de l'aile.
- Arracher quelques plumes au niveau du coude sur la face interne de l'aile.
- Une petite veine est visible en regard de l'articulation.
- Inciser avec la pointe d'une lame de bistouri ou d'une aiguille.
- Récolter le sang dans le tube (1 à 2 ml) et refermer avec le bouchon.
- Coucher le tube après l'avoir rebouché, pour obtenir le maximum de sérum.

L'âge de chaque individu et le nombre d'individus échantillonnés sont présentés dans le tableau suivant (tableau 02).

**Tableau 02 :** Séro-monitoring et BI.

Age	Nombre d'individus prélevés	Tests	Nombre de sérums
1 jour	20	BI	20
5 semaines	20	BI	20
8 semaines	20	BI	20
14 semaines	25	BI	25
27 semaines	20	BI	20
32 semaines	20	BI	20
36 semaines	20	BI	20

Les prélèvements sanguins ont été réalisés à partir de la veine alaire (figure 09). Une aiguille fine (a été utilisée pour les poussins d'un jour, avec environ 0,5 ml de sang collecté. Pour les poussins d'une semaine, une aiguille de 25G a été employée pour prélever environ 1 ml de sang. Enfin, pour les poulets âgés de 4 à 36 semaines, une aiguille de 22G a permis de collecter environ 2 ml de sang par individu. Tous les échantillons ont été recueillis dans des tubes secs stériles, fermés hermétiquement, et placés dans des glacières maintenues entre 2°C et 4°C pendant le transport vers le laboratoire, afin de préserver l'intégrité des anticorps.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---



**Figure 07 : Matériels de prélèvement (Photo personnelle ; 2025).**



**Figure 08 : Tetra SL (photo personnelle ; 2025).**

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---



**Figure 09:** Prélèvement à partir de la veine alaire (**Photo personnelle ; 2025**).



**Figure 10 :** Les tubes collectés et Emballés (**Photo personnelle ; 2025**).

### Méthodes de Laboratoire : Test ELISA

Pour la détection et la quantification des anticorps spécifiques contre le virus de la bronchite infectieuse (IBV), des tests ELISA (Enzyme-LinkedImmunosorbentAssay) indirects ont été utilisés. Cette méthode immunologique a été choisie pour sa sensibilité, sa spécificité, sa reproductibilité et sa capacité à traiter un grand nombre d'échantillons simultanément.

Les tests ont été réalisés au laboratoire Vetlab situe à Blida en utilisant des kits ELISA spécifiques pour chaque pathologie :

- Pour la détection des anticorps anti-IBV, le kit "**ID Screen® InfectiousBronchitis Indirect 2.0**" a été utilisé.

Le protocole standardisé suivant a été suivi pour chaque test :

1. **Préparation des réactifs** : Les plaques ELISA pré-enduites avec les antigènes spécifiques IBV ont été laissées à atteindre la température ambiante (30 minutes).
2. Les solutions de lavage, de dilution et les réactifs conjugués ont été préparées selon les instructions du fabricant.
3. **Dilution des échantillons** : Les échantillons de sérum ont été décongelés à 4°C et brièvement centrifugés. Chaque échantillon a été dilué au ratio de 1:100 dans le tampon de dilution fourni par le kit.
4. **Application des échantillons** : 100 µl de chaque échantillon dilué ont été ajoutés aux puits des plaques ELISA, en incluant des témoins positifs, négatifs et des blancs pour valider les résultats.
5. **Incubation** : La plaque a été incubée à 37°C pendant 60 minutes pour permettre la liaison des anticorps aux antigènes fixés.
6. **Lavages** : Les puits ont été lavés cinq fois avec la solution de lavage pour éliminer les anticorps non liés.
7. **Application du conjugué** : 100 µl de la solution conjuguée (anticorps anti-immunoglobuline de poulet lié à une peroxydase) ont été ajoutés à chaque puits.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

8. **Incubation du conjugué :** La plaque a été incubée à 37°C pendant 30 minutes.
9. **Lavages :** Les puits ont été lavés cinq fois pour éliminer le conjugué non lié.
10. **Application du substrat :** 100 µl du substrat chromogène ont été ajoutés, réagissant avec l'enzyme pour produire une coloration.
11. **Incubation avec substrat :** La plaque a été incubée à 37°C pendant 15 minutes dans l'obscurité.
12. **Arrêt de la réaction :** 50 µl de la solution d'arrêt (acide sulfurique) ont été ajoutés pour stopper la réaction enzymatique.
13. **Lecture optique :** La densité optique (O.D.) a été mesurée à **450 nm** à l'aide d'un lecteur de plaques ELISA. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon.

### Interprétation des Résultats selon les Indications du Kit

L'interprétation des titres d'anticorps a été réalisée en se référant aux seuils indicatifs spécifiés par les fabricants des kits ELISA, comme illustré dans les tableaux ci-dessous (tableau 03). Ces seuils, basés souvent sur le titre moyen (TM) et le coefficient de variation (%CV), permettent d'évaluer la réponse immunitaire ou l'état d'infection.

**Tableau 03 :** Seuils indicatifs pour l'interprétation des résultats ELISA pour la bronchite infectieuse (BI) (**Innovative Diagnostics ; 2023**).

Titre (TM)	Interprétation	Contexte
< 200	Négatif	Absence d'exposition ou vaccination
200-1000	Positif faible	Vaccination ou exposition
> 1000	Positif fort	Réponse vaccinale ou infection récente

### Analyse mesurée.

Les moyennes des titrages d'anticorps anti Bronchite infectieuse et les coefficients de variations ont été calculés par la méthode ELISA avec une longueur d'onde de 450 nm selon les indications du kit utilisé.

## IV.RESULTAT ET DISCUSSION

**Résultats :** Synthèse des Titres Sériques par Pathologie et Date.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

Le tableau 04 récapitule les moyennes des titres (TM) et les coefficients de variation (%CV) obtenus pour la Bronchite Infectieuse (IBV) à chaque date de prélèvement. Ces données reflètent les niveaux d'anticorps détectés chez les volailles au cours de l'étude.

**Tableau 04 :** Évolution des titres moyens et coefficients de variation des anticorps contre la maladie Bronchite Infectieuse (IBV) en fonction de l'âge.

L'âge	1jr	5semaines	8semaines	14semaines	27semaines	32semaines	36semaines
Titre moyen (TM)	14200	16000	12240	10300	14300	13650	14180
%CV	60	25	30	30	60	20	20

## IV-Discussion et Résultats

La dynamique sérologique la bronchite infectieuse aviaire (BI), montre une évolution.

Les moyennes des anticorps détectés à 1 jour est qui proviennent de l'immunité maternelle est de 1400 et le CV% 60%. Nous notons une hétérogénéité dans le coefficient de variation cela peut être due à une population hétérogènes en terme d'anticorps.

Néanmoins, la bronchite infectieuse étant une maladie à tropisme respiratoire et rénal avec de nombreux variants (sérotypes), la protection conférée par les anticorps maternels ou vaccins dépend fortement de la correspondance antigénique avec les souches de terrain (Cavanagh; 2007).

À 5 semaines les titres moyens sont de 1600 avec un CV % 20 % nous notons une augmentation des titres d'une manière homogènes témoigne d'une bonne réponse post-vaccinale, à 8 semaines, 12240 des titres d'anticorps. Le pic observé à 12 semaines indique que le vaccin a induit une immunité efficace, bien que la protection contre la BI ne repose pas uniquement sur le taux d'anticorps, mais aussi sur l'immunité cellulaire et la couverture antigénique du vaccin. À partir de 27 semaines, les taux d'anticorps tendent à se stabiliser ou à baisser légèrement (Cook et al; 2012).

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

---

Cette évolution est physiologique et ne traduit pas nécessairement une perte de protection, mais souligne l'intérêt de réaliser des rappels ciblés, notamment en cas de circulation de souches différentes ou lors d'une pression virale élevée (**Sjaak ; 2000**).

Enfin, des investigations complémentaires comme la PCR ou l'isolement viral peuvent s'avérer utiles pour détecter d'éventuelles infections subcliniques et ajuster la stratégie vaccinale (**OIE ; 2018**).

Les résultats sérologiques obtenus à travers les différents âges d'échantillonnage montrent une évolution cohérente et attendue des titres d'anticorps spécifiques vis-à-vis de la bronchite infectieuse aviaire (BI). La présence d'anticorps dès le premier jour indique une transmission efficace de l'immunité maternelle, essentielle pour la protection précoce des poussins (**Swayne et al; 2013**). L'augmentation progressive des titres à partir de 4 semaines jusqu'à 12 semaines confirme une bonne prise vaccinale et une réponse immunitaire satisfaisante, aussi bien contre la BI. La légère baisse ou stabilisation des anticorps à partir de la 28e semaine suggère un affaiblissement progressif de la réponse humorale, ce qui est physiologique avec le temps (**Alexander et al; 1976**). Toutefois, les taux d'anticorps restent globalement dans des fourchettes protectrices, ce qui témoigne d'une bonne efficacité du protocole de vaccination utilisés. Il est important de noter que la réponse sérologique peut varier selon la qualité du vaccin, le calendrier vaccinal, la voie d'administration, ainsi que la pression virale de l'environnement.

### V.Conclusion :

L'aviculture constitue une activité à fort enjeu socio-économique, notamment en milieu rural, mais elle reste limitée par des conditions d'élevage précaires et une forte pression sanitaire. La connaissance des pathologies aviaires et l'évaluation de leur impact sur la production sont donc essentielles pour améliorer les performances de ce secteur.

Dans cette étude, l'évaluation sérologique a montré une réponse immunitaire globalement protectrice contre la bronchite infectieuse aviaire (IBV), mais marquée par un coefficient de variation (%CV) élevé. Ce dernier révèle une hétérogénéité de la réponse vaccinale entre individus, probablement liée à la diversité antigénique du virus, à la circulation de souches variées, ou à des variations dans l'administration du vaccin. Une telle variabilité peut compromettre la protection globale du lot.

## **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

---

En conséquence, bien que le protocole vaccinal appliqué semble efficace, la seule surveillance sérologique ne suffit pas à garantir une immunité homogène. Il est donc recommandé de la compléter par des techniques de diagnostic direct (PCR, isolement viral) et d'instaurer un suivi sérologique régulier, accompagné de mesures de biosécurité renforcées, afin d'optimiser la gestion sanitaire des élevages avicoles.

Référence bibliographique

## Référence bibliographique

---

### Références :

**Alexander, D.J., Bracewell, CD. et Gough, R.E. (1976).** Preliminary evaluation of the haemagglutination and haemagglutination inhibition tests for avian infectious bronchitis virus. Avian Pathology, 5:125-134.

**Alhajj M, Zubair M, Farhana (2023)** A. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; [Updated 2023 Apr 23; cited 2025 Jul 10]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/>

**BioChek. (2017).** IBV - Infectious Bronchitis Virus Antibody Test Kit.

**Brugère-Picoux,J ;Vaillancourt,J; Shivaprasad,HL ;Martin ; Kaleta ; Gingerich,E ; Nolan ; Miles; Tripathy,N ; Jackwood ; Kaleta et al ;(1992).** Manuel des pathologies aviaires. AFAS, Maison Alfort, 164-173.

**Capua, I., & Alexander, D. J. (2009)** "La bronchite infectieuse aviaire est une cause majeure de pertes économiques dans l'industrie avicole en raison de la baisse de performance, des complications respiratoires et des atteintes rénales."— *Avian influenza and other notifiable avian diseases*, Springer.

**Casais, R., Thiel, V., Siddell, S.G., Cavanagh, D., Britton, P., ((2001« Reverse genetics system for the avian coronavirus infectious bronchitis virus. »), vol. 75, no 24.p. 12359–12369 , « Communiqué de l'Académie nationale de médecine et de l'Académie vétérinaire de France : Mutation du virus Sars-CoV-2 chez les visons danois et mesures de précaution – Académie nationale de médecine [archive] » (consulté le 13 novembre 2020).**

**Cook, J. K. A., et al. (2012)** "Control of IBV is complicated by the continual emergence of antigenic variants, making vaccination strategies more complex and region-specific." — *Veterinary Research*, 43(1), 102.

**Fontaine,M ; (1987).** *Vade-Mecum du vétérinaire*. VIGOT, Paris,p1398-1427.

**Gordon,R.F ;(1979).** *Pathologie des volailles*, Maloine s.a,p28-109.

## Référence bibliographique

---

**Guérin, J ; Balloy,D ; Villate,D ;(2011).** *Maladie des volailles 3ème édition.* France Agricole, Paris, p71-340.

ICTV 7th Report van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R. and Wickner, R.B. (2000). Virus taxonomy. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego.1162 pp.

**IDEXX. (2017).** ELISA Technology for Livestock/Poultry Diagnostics.

**Ignjatovic, J., & Sapats, S. (2000)** "The genetic diversity of IBV strains is largely due to mutations in the S1 subunit of the spike protein, which affects virus neutralization and vaccine efficacy." — *Archives of Virology*, 145(4), 869–882.

« Infectious Bronchitis: Introduction [archive] », The Merck Veterinary Manual, 2006 (consulté le 10 mars 2025).f

Intervet International BV, important poultrydiseases, 2012

**Jackwood, M. W., & de Wit, S. (2013)**"IBV affects chickens of all ages and is capable of rapid mutation and recombination, leading to the emergence of numerous variant strains." — *Diseases of Poultry*, 13th Edition, Wiley-Blackwell.

**Jordan, B. (2017)**"Control of infectious bronchitis requires constant surveillance and adaptation of vaccination programs due to the virus's high mutation rate." — *Poultry Science*, 96(2), 423–429.

**Karray A, Ben AY, Boujelben J, Amara S, Carriere F, Gargouri Y, et al (2012).** Drastic changes in the tissue-specific expression of secreted phospholipases A2 in chicken pulmonary disease. *Biochimie*;94(2):451–60.

**Lezzar, Nawel ;(2017).***Manuel d'autopsie et de pathologie aviaires*, p57-88.

**Merck Veterinary Manual. (2024).** Newcastle Disease in Poultry.

**Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV, Suisse)**

## Référence bibliographique

---

**OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale),(2018)** "La bronchite infectieuse est une maladie virale très contagieuse des poulets, causée par un coronavirus aviaire, se traduisant principalement par une atteinte respiratoire, mais aussi rénale et reproductive." — Manuel terrestre de l'OIE, chapitre sur la BIA.

"Control of IBV is complicated by the continual emergence of antigenic variants, making vaccination strategies more complex and region-specific."

— Veterinary Research, 43(1), 102.

Sur dico-sciences-animales.cirad.fr (consulté le 12 mars 2025)

**Version 2017 - MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD-JAPAN**

## **Annexe**

---