

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB de Blida**

**Faculté des Sciences Agro-vétérinaires**

Département des Sciences Vétérinaires

**MEMOIRE DE MAGISTER**

Spécialité : Épidémiologie appliquée à la santé animale

**Séroprévalence de la  
Laryngotrachéite infectieuse chez la  
poule pondeuse**

Par

**Abdelaziz LOUNAS**

Devant le jury composé de :

A. BERBER	Maître de conférences A, U. de Blida	Président
M. OUMOUNA	Maître de conférences A, U. de Blida	Examineur
R.R TRIKI YAMANI	Maître de conférences A, U. de Blida	Examineur
M. BACHIR-PACHA	Maître de conférences A, U. de Blida	Promoteur
K.RAHAL	Professeur, U. de Blida	Co-promoteur

Blida, Juin 2011

## ملخص

تحتل تربية الدجاج البياض في الجزائر مكانا بارزا في تسويق المنتجات الإستهلاكية (بيض الإستهلاك), يقدر عدد الدجاج البياض ب 23 مليون دجاجة. هذا الانتاج على نطاق واسع يخضع لظاهرة انخفاض التبييض التي لا يوجد لها وصف، و لا أية معلومات عن الخسائر الاقتصادية الناجمة عنها أو عن مسبباتها. يهدف هذا العمل من ناحية، لشرح التشخيص الذي قام به البيطرة الممارسين و دراسة حالة انخفاض التبييض في الجزائر باستخدام مسح وصفي. ثانيا ، دراسة واحدة من مسببات هاته الظاهرة (لرناقتريبيت) من خلال مظاهره الاجسام المضادة في المصل وتقييم أثرها الاقتصادي مقارنة بالتطعيم. نتائج الاستبيان تبين أن ظاهرة انخفاض البيض في قطعان الدجاج البياض جد منتشرة (100 % من البيطرة المستجوبين تعرضوا لهته الظاهرة)، وترتبط في جميع الحالات تقريبا مع وضع البيض الشاذ ( $5\pm 95$ ) ومجموعة متنوعة من الأعراض الأمر الذي يجعل من الصعب تشخيص المسببات. النتائج المصلية تكشف لأول مرة في الجزائر وجود فيروس لرناقتريبيت في قطعان من الدجاج البياض. معدل إيجابية المصل لمزارع الدجاج هو 60 %.

اقتصاديا ، التطعيم ضد لرناقتريبيت يساعد على منع خسائر تبلغ قيمتها أكثر من 248600 دينار على شريط واحد في مزرعة الدجاج البياض(10000) .

**الكلمات المفتاحية :** الدجاج البياض, انخفاض التبييض, إيجابية المصل, لرناقتريبيت.

## RESUME

En Algérie, L'élevage de poules pondeuses occupe une place prépondérante dans l'approvisionnement du marché national en produits finis (œufs de consommation), il est estimé à 23 Millions de poules pondeuses [1]. Cette production à large échelle est sujette à des phénomènes de chute de ponte dont aucune description de ce phénomène, ni aucune information sur les pertes économiques engendrées, ou sur leur étiologie précise, ne sont disponibles.

Ce travail a pour objectifs d'une part, d'explicitier à l'aide d'une enquête descriptive par questionnaire la situation des chutes de ponte en Algérie, de connaître le diagnostic qui est établi par les vétérinaires praticiens et d'autre part, d'étudier une de ses étiologies (Laryngotrachéite infectieuse) à travers la mise en évidence des anticorps sériques du VLTI par la technique ELISA et d'évaluer leur impact économique, par rapport à la vaccination.

Les résultats du questionnaire montrent que le phénomène de chute de ponte est très répandu dans les élevages de poules pondeuses (100% des vétérinaires interrogés ont rencontrés des chutes de ponte), il est associé dans la quasi-totalité des cas avec la ponte d'œufs anormaux (95±5%) et une grande variété de symptômes ce qui rend difficile son diagnostic étiologique.

Les résultats sérologiques révèlent pour la première fois en Algérie la circulation du VLTI dans les élevages de poules pondeuses. Le taux de séropositivité des élevages de poules est 60 %.

Sur le plan économique, la vaccination contre la LTI permet de prévenir des pertes sèches évaluées à plus de 248600 DA sur une seule bande dans un élevage de 10000 poules pondeuses.

**Mots clés :** poules pondeuses, chute de ponte, séropositivité, Laryngotrachéite infectieuse.

## REMERCEMENTS

Je remercie le Docteur A. BERBER, Maître de conférences A à l'université SAAD DAHLAB de Blida, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Je remercie aussi le Docteur M. OUMOUNA, Maître de conférences A à l'Université Saad-Dahleb de Blida, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir apporter ses compétences à notre jury.

Je remercie également le Docteur R.R. TRIKI-YAMANI, Maître de conférences A à l'Université Saad-Dahleb de Blida, pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

Mes remerciements vont M. BACHIR PACHA, Maître de conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida, pour son soutien et sa confiance, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

Mes remerciements vont également au Docteur K. RAHAL, Professeur à l'université SAAD DAHLAB de Blida, pour son soutien tout au long de ce travail, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances.

Je remercie particulièrement le Docteur A. CHABANE (Vétérinaire praticien) pour l'aide précieuse qu'il a accordé à la réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, particulièrement :

H. SID (Maître assistant B à l'Université Saad-Dahleb de Blida)

A. FETTAH (Vétérinaire praticien, spécialiste en pathologie aviaire)

Sincères remerciements.

## **DEDICACES**

**A mes parents, pour m'avoir toujours encouragé et soutenu dans mes choix,  
pour m'avoir permis de faire ce beau métier. C'est grâce à vous si j'en suis là  
aujourd'hui, je suis fier de vous ! Merci pour tout. Je vous aime.**

**A la mémoire de ma sœur Dalila.**

**A mes sœurs et mes frères pour leurs encouragements,**

**A toute ma famille, grands et petits pour leurs encouragements,**

**A tous mes amis (es), pour leur soutien et pour les bons moments partagés  
ensemble.**

## TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	2
TABLE DES MATIERES	4
LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	8
<b>1. LA FILIERE PONTE EN ALGERIE</b>	<b>10</b>
1.1 Evolution de la filière ponte en Algérie	10
1.2 Evolution de la production et de la consommation annuelle par habitant, d'œufs de consommation	14
1.3 Problèmes de la filière ponte	15
<b>2. ETUDE DE LA LARYNGOTRACHEITE INFECTIEUSE AVIAIRE</b>	<b>17</b>
2.1 Introduction	17
2.2 Historique	17
2.3 Importance économique	18
2.4 Epidémiologie	18
2.5 Etiologie	23
2.6 Etude clinique	26
2.7 Réponse immunitaire	29
2.8 Diagnostic	30
2.9 Traitement	31
2.10 Stratégie d'intervention	31
<b>3. OUTILS DU DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DE LA LTI</b>	<b>37</b>
3.1 Introduction	37
3.2 Epreuves sérologiques	38
3.3 Identification de l'agent pathogène	42

4. PARTIE EXPERIMENTALE	47
4.1. Problématique	47
4.2. Objectifs de l'étude	48
4.4. Première partie : Enquête par questionnaire	49
4.4.1. Matériel et méthodes	49
4.4.2. Résultats et discussion	56
4.4.3. Conclusion	74
4.5. Deuxième partie : Etude sérologique	75
4.5.1. Matériel et méthodes	75
4.5.2. Résultats	80
4.5.3. Discussion	94
4.5.4. Conclusion	100
4.6. Troisième partie : Etude économique	101
4.6.1. Matériel et méthode	101
4.6.1.1. Estimation technique	101
4.6.1.2. Conversion monétaire	105
4.6.1.3. Comparaison avantages/coûts	106
4.6.2. Conclusion	109
CONCLUSION GENERALE	110
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	111
APPENDICE	
A. Liste des abréviations	112
B. Fiche du questionnaire	113
C. Résultats des questionnaires	115
D. Fiche signalétique par élevage	122
E. Procédure technique du test ELISA	124
F. Tableau de fiches signalétiques	125
G. Résultats sérologiques	127
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	128

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.1 :</b>	Evolution de la consommation annuelle des œufs de consommation d'après Kaci, 2007.	14
<b>Tableau 2.1 :</b>	Résumé de quelques études sérologiques de la LTI.	20
<b>Tableau 4.1 :</b>	Récapitulatif du questionnaire de l'enquête.	52
<b>Tableau 4.2 :</b>	Nombre de sujets nécessaire pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée.	55
<b>Tableau 4.3 :</b>	Nombre de sujets nécessaire pour un échantillon correspondant à un taux de sondage supérieur à 10% à partir du nombre n donné par le tableau 4.2.	55
<b>Tableau 4.4 :</b>	Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur <i>ELISA</i> .	80
<b>Tableau 4.5 :</b>	Titres individuels des élevages séro-négatifs pour la LTI.	88
<b>Tableau 4.6 :</b>	Titres individuels des élevages séro-positifs pour la LTI.	88
<b>Tableau 4.7 :</b>	Récapitulatif des élevages séro-positifs et séro-négatifs Pour la LTI par série de prise de sang.	89
<b>Tableau 4.8 :</b>	Séro-positivité pour la LTI dans les différentes régions d'étude.	92
<b>Tableau 4.9 :</b>	Séro-positivité pour la LTI selon la durée de chute de ponte.	92
<b>Tableau 4.10 :</b>	Séro-positivité de la LTI selon le pourcentage de chute de ponte.	93
<b>Tableau 4.11 :</b>	Séro-positivité de la LTI selon l'aspect clinique des élevages.	93
<b>Tableau 4.12 :</b>	Les médicaments utilisés dans le contrôle de la LTI.	104
<b>Tableau 4.13 :</b>	Conversion monétaire des coûts et des avantages.	106
<b>Tableau 4.14 :</b>	Evaluation du rapport A/C selon plusieurs facteurs : Taux de mortalité, taille de l'élevage, % de CP.	107

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

<b>Figure 2.1 :</b>	Micrographie électronique d'une cellule infectée par le VLTI (Agrégation des particules virales).	23
<b>Figure 2.2 :</b>	Dyspnée d'un poulet lors de la LTI avec expectoration du sang.	27
<b>Figure 2.3 :</b>	Conjonctivite d'un poulet atteint de la LTI.	27
<b>Figure 2.4 :</b>	Trachéite de différents degrés lors de la LTI : Hémorragique, Fibrino-hémorragique, Caséuse.	28
<b>Figure 3.1 :</b>	Les étapes d'un test ELISA.	38
<b>Figure 4.1 :</b>	Canevas général de l'étude.	48
<b>Figure 4.2 :</b>	Représentation schématique de la démarche générale de préparation d'un questionnaire.	49
<b>Figure 4.3 :</b>	Répartition des vétérinaires selon le nombre d'élevages suivis.	60
<b>Figure 4.4 :</b>	Répartition des vétérinaires selon l'ancienneté.	60
<b>Figure 4.5 :</b>	Répartition des vétérinaires selon le nombre d'élevages suivis et l'ancienneté.	61
<b>Figure 4.6 :</b>	Répartition des vétérinaires en fonction de la région d'exercice et l'ancienneté.	61
<b>Figure 4.7 :</b>	Répartition des vétérinaires en fonction de l'ancienneté et le nombre d'élevages suivis.	62
<b>Figure 4.8 :</b>	Répartition des chutes de ponte par classes de chute de ponte.	63
<b>Figure 4.9 :</b>	Répartition des chutes de ponte par région.	64
<b>Figure 4.10 :</b>	Durée des chutes de ponte observées.	64
<b>Figure 4.11 :</b>	Moment d'apparition des chutes de ponte.	65
<b>Figure 4.12 :</b>	Les différentes étiologies suspectées.	65
<b>Figure 4.13 :</b>	Répartition des étiologies suspectées par classes de chute de ponte.	66
<b>Figure 4.14 :</b>	Répartition des suspicions des pathologies virales.	68

<b>Figure 4.15</b> : Répartition des symptômes associés aux chutes de ponte.	68
<b>Figure 4.16</b> : Répartition des pathologies virales suspectées selon la région d'exercice des vétérinaires.	69
<b>Figure 4.17</b> : Répartition des chutes de ponte accompagnées d'œufs anormaux.	71
<b>Figure 4.18</b> : Répartition de la vaccination contre les pathologies virales de la poule pondeuse.	72
<b>Figure 4.19</b> : Répartition de la vaccination selon la région.	72
<b>Figure 4.20</b> : Répartition globale des vétérinaires selon l'accord aux prélèvements.	73
<b>Figure 4.21</b> : Répartition de l'accord aux prélèvements selon la région d'exercice des vétérinaires.	74
<b>Figure 4.22</b> : Réponse immunitaire de la poule lors d'une infection.	77
<b>Figure 4.23</b> : Technique de prélèvement.	78
<b>Figure 4.24</b> : Les étapes de décantation du sérum.	79
<b>Figure 4.25</b> : Capacité des élevages visités.	81
<b>Figure 4.26</b> : Types de bâtiments de pondeuse des élevages visités.	81
<b>Figure 4.27</b> : Origine des poules pondeuses.	82
<b>Figure 4.28</b> : Différentes souches de pondeuse dans les élevages visités.	82
<b>Figure 4.29</b> : Les différents programmes vaccinaux de pondeuse dans les élevages visités.	83
<b>Figure 4.30</b> : Moments d'apparition des chutes de ponte.	83
<b>Figure 4.31</b> : Durée des chutes de ponte.	84
<b>Figure 4.32</b> : Pourcentages des chutes de ponte.	84
<b>Figure 4.33</b> : Aspects des œufs rencontrés lors des chutes de pontes.	85
<b>Figure 4.34</b> : Symptômes observés chez les poules pondeuses.	86
<b>Figure 4.35</b> : Lésions observés chez les poules pondeuses.	86
<b>Figure 4.36</b> : Aspect clinique des chutes de ponte.	86
<b>Figure 4.37</b> : Suspensions des causes de chute de ponte.	87

<b>Figure 4.38 :</b> Représentation graphique des élevages séro-positifs et Séro-négatifs pour la LTI.	91
<b>Figure 4.39 :</b> Représentation graphique des séroconversions positifs.	91
<b>Figure 4.40 :</b> Evaluation des coûts/avantages de la vaccination.	102

## INTRODUCTION

La production des œufs de consommation s'est fortement développée en Algérie ces dernières années, elle est estimée à 5 milliards d'œufs par an [1]. Dans le cadre de cette production à large échelle, le syndrome « chute de ponte » de l'ordre de 10 à 40 % est une problématique émergente touchant les élevages de poules pondeuses. Les professionnels de cette filière décrivent des épisodes de chute de production, associés ou non à des signes cliniques et dont l'étiologie n'a pu être définie à ce jour. Les descriptions de ce syndrome, faites par les vétérinaires de la filière, sont variées et ne permettent pas d'évaluer les pertes engendrées par ces épisodes.

Parmi les étiologies possibles, les maladies virales sont prédominantes. Un programme de vaccination national a été mis en place pour certaines de ces maladies, néanmoins d'autres qui sont liées aux chutes de ponte ne sont pas concernées (Laryngotrachéite infectieuse (LTI), Egg drop syndrom (EDS), Encéphalomyélite infectieuse aviaire (EMIA), Bronchite infectieuse (BI)).

Des études très récentes partout dans le monde (USA, Brésil, Norvège, Palestine, Australie) montrent que la LTI était à l'origine des chutes de ponte chez les poules pondeuses pouvant dépasser les 30 % [2][3][4][5]. La forme modérée de cette maladie est émergente dans les élevages de poules pondeuses, elle se manifeste par des symptômes respiratoires très légers et une chute de ponte modérée (10-15%) qui prête à confusion avec les autres maladies respiratoires virales (BI, SIGT).

En Algérie, à notre connaissance, aucune étude n'a été menée pour déterminer les causes des chutes de ponte, en l'occurrence la LTI, bien que celles-ci soient signalées par différents praticiens s'occupant des pondeuses.

Dans une première partie, ce travail dresse, après une description de la filière ponte en Algérie, un bilan bibliographique de la Laryngotrachéite infectieuse aviaire responsable de chutes de ponte chez la poule pondeuse et leurs méthodes de diagnostic de laboratoire.

Nous terminerons cette étude par une enquête par questionnaire auprès de 73 vétérinaires praticiens exerçant essentiellement les suivis d'élevages avicoles, elle a pour objectif de décrire le phénomène de chute de ponte et de dresser un protocole de prélèvements sanguins. Ensuite elle consiste en une enquête sérologique visant la recherche d'une éventuelle circulation du VLTI à travers la mise en évidence d'anticorps dans les sérums de poules. Enfin une estimation de pertes engendrées par une éventuelle manifestation de la LTI dans un élevage de 10000 poules pondeuses.

# CHAPITRE 1

## LA FILIERE PONTE EN ALGERIE

### 1.1 Introduction :

La filière avicole évolue depuis 1988 dans un environnement de transition en passant d'une économie planifiée à une économie de marché. Cette évolution est due essentiellement à l'intérêt accordé par les pouvoirs publics au développement de cette filière pour acquérir une entière autonomie. En parallèle la dépendance vers l'amont est devenue structurelle et dont le fonctionnement est progressivement intégré au marché mondial des intrants et des technologies avicoles (En 2005 : 539 Millions de dollars, soit 18 % du total des importations agro – alimentaires « 3milliards de dollars ») [6]. Dans ce contexte, La filière est appelée à relever un double défi : Produire pour satisfaire la demande nationale en produits avicoles, améliorer la qualité des produits finis (œufs, poulets) et les performances des élevages en instaurant des mesures de protection du cheptel contre les maladies infectieuses dont les maladies virales.

### 1.2 Evolution de la filière ponte en Algérie :

Avant 1969, en Algérie la production d'œufs de consommation n'est pas évaluée. Durant cette période la production avicole reposait sur l'élevage familial et quelques micro-unités de production de viande blanche [7].

#### 1.2.1 Première période (1969 - 1979) : Emergence de l'aviculture intensive en Algérie

Cette période s'est caractérisée par la création de structures visant à organiser le secteur de la production.

#### 1.2.1.1 Office National des Aliment de Bétail (ONAB) :

Il fut créé en 1969 et avait plusieurs missions :

- la fabrication des aliments du bétail,
- la régulation du marché des viandes rouges
- le développement de l'élevage avicole.

Il a installé plusieurs unités dans le but de structurer l'activité avicole. Ses objectifs étaient multiples, en amont de la production, apporter la quasi-totalité des facteurs de production et en aval, assurer une certaine part des produits finis et mettre en place un réseau d'abattage [7].

#### 1.2.1.2 Coopératives avicoles :

A partir de 1974, il y a eu création de six coopératives avicoles de Wilaya. Ces structures avaient été mises en place grâce à des initiatives locales et n'avaient de ce fait pas reçu tout le financement et l'encadrement nécessaires. Elles devaient assurer la distribution des facteurs de production, le suivi technique des producteurs, l'appui technique et la vulgarisation des aviculteurs [7].

#### 1.2.1.3 Secteur privé :

Il est resté le plus grand producteur, possédant environ 75% de la capacité d'incubation. Sa part de production en œufs de consommation représentait en 1979 environ 55% de la production nationale [7].

Cette étape peut être considérée comme ayant été nécessaire à la maturation et au développement de l'aviculture. Suite aux insuffisances constatées (maîtrise insuffisante de la technique et de la gestion, personnel insuffisamment qualifié, maintenance mal assurée), de nouvelles orientations et une nouvelle organisation globale de l'aviculture permirent de dresser un plan avicole de 1980 à 1984.

### 1.2.2 Deuxième période (1980 - 1984) :

Les grandes idées qui ont prévalu sont :

- ✚ La restructuration de l'ONAB qui n'est chargé que de la fabrication des aliments du bétail.
- ✚ La généralisation de l'aviculture sur toutes les Wilaya (Est, Centre, Ouest) par la création des offices régionaux de l'aviculture (ORAVIO, ORAC, ORAVIE). Créés pour prendre en charge uniquement la production avicole, ils sont chargés de fournir les facteurs de production.
- ✚ La création de l'Office National des Approvisionnements et Services Agricoles (ONAPSA) qui est chargé d'assurer la distribution de l'aliment et des produits vétérinaires.
- ✚ La création de l'Institut de Développement des Petits Elevages (ITPE) en 1978, qui est chargé de la recherche et participe au perfectionnement et à la vulgarisation.
- ✚ La généralisation des coopératives avicoles sur toutes les wilaya du pays.
- ✚ Cette période se caractérise également, par l'encouragement des secteurs autogéré et privé qui sont chargés de la production des produits finis dont l'œuf de consommation.

Les résultats obtenus durant cette période ont montré une meilleure prise en charge du développement de l'aviculture, qui s'est traduite par des niveaux de réalisation des objectifs assez remarquables comparés à ceux de 1979.

### 1.2.3 Troisième période (1985-1989) :

Cette période constitue une continuité de la précédente avec une augmentation des objectifs de consommation (120 œufs /habitant/an). Le plan de cette période se résume dans la recherche d'une meilleure intégration de l'aviculture dans l'économie nationale en renforçant les structures et les facteurs de production par le biais de crédits spéciaux et par la création d'une structure spécialisée dans la formation avicole et l'organisation du circuit de vulgarisation.

#### 1.2.4 Quatrième période (1990 à nos jours) : la production avicole à l'épreuve des réformes économiques.

La production avicole évolue depuis 1990 dans un environnement caractérisée par la mise en œuvre de réformes économiques dans le sens du passage d'une économie planifiée vers une économie de marché. Ces réformes progressent dans le sens du désengagement de l'Etat de la sphère économique et du renforcement de son rôle de régulateur et de puissance publique. La suppression du monopole de l'Etat et l'arrivée de nouveaux entrants aboutissent à une bipolarisation au niveau de cette filière [8].

Au mois d'avril de l'année 1997 l'ONAB passe officiellement à l'autonomie et devient société par actions (SPA). Plus précisément, elle devient société mère d'un groupe industriel composé de sept entreprises dont les trois Groupes Avicoles Régionaux : GAC (Ex ORAC), GAE (ex. ORAVIE), GAO (ex. ORAVIO), une société de maintenance et deux entreprises de production de compléments vitaminés dits « prémix ». Elle détient également des participations dans une entreprise de fabrication de produits vétérinaires (PASNA), une entreprise de transport maritime (CNAN BULCK) et une autre de négoce international (SCTI).

Chaque Groupe avicole régional contrôle à son tour des unités d'aliments du bétail (UAB) et des entreprises avicoles. Au total, ce sont 150 entreprises filiales, toutes activités confondues, qui composent le portefeuille des trois Groupes régionaux.

En 2005, un nouveau schéma organisationnel de la filière a été mis en place avec l'intégration des entreprises publiques dans des Sociétés de Gestion et de Participation (SGP) (Proda, SAAC...) contrôlé par le Conseil de Participations de l'Etat. Ce processus de restructuration vise à organiser le désengagement progressif de L'Etat de la sphère économique et le redressement des entreprises publiques économiques en vue de l'amélioration de l'efficacité et de la compétitivité de leurs activités, de la modernisation de leur outil de production et leur insertion dans la division internationale du travail [6].

### 1.3 Evolution de la production et de la consommation annuelle par habitant, d'œufs de consommation :

Le tableau suivant représente une évaluation de la consommation des œufs par habitant et par an sur plusieurs années.

**Tableau 1.1** : Evolution de la consommation annuelle des œufs de consommation d'après Kaci, 2007 [6].

Années	Œufs de consommation (Unités/Hab/An)
1966 / 1967 (A.A.R.D.E.S)	0.47
1979 / 1980 (D.S.C.N / C.N.E.R.E.S)	1.06
1988 (ONS)	3.02
1998 (OFAL)	70
2004 (ONAB)	105
2005 (ONAB)	117

A travers les chiffres énoncés dans le tableau, nous remarquons que la production d'œufs de consommation n'a pas beaucoup évolué avant 1988, la consommation était ajustée par des importations.

En 1989, l'augmentation de la production d'œufs de consommation a été spectaculaire.

En 2009, L'Algérie dispose de 23 Millions de poules pondeuses produisant environ 5 Milliards d'œufs de consommation [1].

Pour la courbe de ponte, le pic de ponte moyen dans le secteur privé était de 80-85%, alors qu'au niveau des offices on avait des pics de ponte plus faibles (grands complexes). Dans les secteurs privés et autogérés, le nombre d'œufs produits se situe entre 200 et 220 œufs par poule [7]. En 2006, la production d'œufs de consommation s'évalue à plus de 3,5 milliard d'unités [9].

Globalement, les performances zootechniques obtenues avec la poule pondeuse sont en progression, du fait de la prédominance de l'élevage en cages. Ce type d'élevage est mieux maîtrisé et les risques sanitaires sont minimisés.

Toutefois les performances des poudeuses sont limitées et beaucoup reste à faire comparativement au taux de production mondiale (800 Milliards) et européenne (80 Milliards).

Le taux de consommation annuel par habitant est de 142 œufs/an/habitant, alors qu'actuellement en Europe il est de 264 œufs/habitant/an. [1] [10].

#### 1.4 Problèmes de la filière ponte :

Les enquêtes menées ces dernières années montrent que la majorité des élevages sont loin d'être industriels dans leur conduite et dans les performances enregistrées. Les conditions de l'habitat, de l'alimentation, d'hygiène et de prophylaxie ne répondent pas aux normes zootechniques préconisées, ceci entraîne l'abandon de l'activité jugée peu rentable et par conséquent, l'augmentation des prix des produits de la volaille sur le marché [11].

Les contraintes de la filière ponte se résume dans les points suivants :

- La dépendance alimentaire et technologique. (539 millions USD en 2005 : Intrants alimentaires).
- Les ruptures d'approvisionnement en facteurs de production
- La qualité de l'aliment est parfois reprochable (chute de ponte, œufs de mauvaise qualité...).
- Le dysfonctionnement de la filière avicole avec une inexistence de pôles industriels structurants en aval. Ceci se traduit par la constitution d'activités techniquement interdépendantes mais peu articulées les unes par rapport aux autres.
- Le manque de technicité des producteurs.
- Les grands complexes avicoles réalisés dans la décennie 70-80 sont difficilement gérables et les performances restent relativement faibles. pour la production d'œufs, des complexes de 100 000 -200 000 et 300 000 poules ont été mis en place ; les meilleurs résultats ont toujours été enregistrés avec ceux de 100 000 poules poudeuses.
- Les marchés des produits avicoles se caractérisent par leur opacité (en matière d'information).
- La faiblesse de la productivité des élevages avicoles qui s'écartent des résultats enregistrés dans les pays développés. Une des explications, la

faiblesse de la couverture sanitaire (apparition de nouvelles maladies non concernées par le protocole vaccinale, mauvaise pratique de la vaccination) [12][6][7][13].

### 1.5 Conclusion :

Durant son évolution, la filière ponte est restée dépendante d'énormes importations en matière d'aliments, de cheptels, d'équipements et de produits vétérinaires. Elle a connu un certain nombre de problèmes à savoir la faiblesse d'organisations professionnelles structurées capables de participer à la régulation de l'approvisionnement de la filière en produits finis (œufs), et la faiblesse de la productivité des élevages (chutes de ponte) dont l'étiologie virale est fortement suspecté (LTI, EDS, BI). Pour sortir de cette situation, on doit d'une part, développer une politique de régulation et de soutien de la filière avicole en assurant une disponibilité de matières premières sur le marché, la mise à niveau des élevages pour un coût supportable et d'autre part, connaître la situation sanitaire réelle de nos élevages et agir contre les maladies virales par un programme vaccinale adéquat.

## CHAPITRE 2

### ETUDE DE LA LARYNGOTRACHEITE INFECTIEUSE AVIAIRE

#### 2.1 Introduction :

La Laryngotrachéite infectieuse aviaire (LTI) est une maladie respiratoire, très contagieuse causée par un *herpesvirus* qui affecte principalement les poulets, avec des conséquences graves pour la production en raison de la mortalité et /ou baisse de la production d'œufs, et qui doivent être signalées aux unités des Services vétérinaires officiels [14][15].

Ces dernières années la Laryngotrachéite infectieux (LTI) est réapparue sous une forme apparemment très légère posant des problèmes dans les élevages de poules pondeuse [5][16]. Seulement quelques oiseaux dans un élevage infecté peuvent montrer les signes respiratoires classiques et la mortalité peut être faible avec une chute de ponte pouvant atteindre 30 % [3].

#### 2.2 Historique :

Cette maladie a été décrite la première fois en 1925 par May et Tittsler [17], cependant quelques références indiquent son existence avant cette date [18][19][20]. Elle a été appelée Laryngotrachéite, la grippe diphtérie et pneumonie [17]. Quelques premiers investigateurs se sont également référés à la maladie en tant que bronchite infectieuse. En 1931 le nom Laryngotrachéite infectieuse aviaire venait à être adopté par le Comité spécial sur les maladies des volailles de l'Association américaine des médecins vétérinaires [19][21].

L'étiologie virale de LTI a d'abord été démontrée par Beaudette en 1937, étant la première maladie virale des volailles contre laquelle un vaccin a été développé [21]. En 1963, Cruickshank et al [22] ont démontré que l'étiologie de la LTI est un herpesvirus.

### 2.3 Importance économique :

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 [15]. Les épidémies de la forme clinique modérée sont communes chez les poules pondeuses et sporadiques chez le poulet de chair [23][24].

Son importance économique est liée aux pertes dues à la mortalité et / ou diminution de la production d'œufs. Des pertes catastrophiques dans les zones de productions intensives ont été causées par la propagation du virus sauvage et le virus vaccinal. La diminution du taux de ponte est modérée allant de 5% à 15% sans altérer les caractéristiques de la coquille. La mortalité varie sensiblement de 10% à 20% et peut atteindre des valeurs aussi élevées que 50% à 70% [25][20][26].

### 2.4 Epidémiologie :

#### 2.4.1 Epidémiologie descriptive :

La LTI a une répartition géographique cosmopolite, elle est cyclique dans les zones endémiques, surtout dans les zones à forte densité de production [27][28].

Les données sur la prévalence sont rares dans la littérature, Cependant on peut mentionner qu'en 2009, Barhoom Observe en Palestine, sur 3 élevages de poules pondeuses, une séroprévalence de 100 % [5]. Ebrahimi en 2003, dans une étude portée sur 5 élevages de poules pondeuses (en Iran) a trouvé une prévalence élevage de 100 % [29]. Johnson et *al*, En 2004 [30], a montré que 57,1% des élevages de poulets de chair et de reproductrices étaient positifs pour la LTI.

En Norvège, des données du programme de surveillance durant 6 années (1998-2004) montrent l'absence de toute infection de la LTI dans les élevages de poules pondeuses et reproductrices chair [4].

Très récemment, au Brésil, Gomes (2008) [3] a rapporté une prévalence assez importante dans la région de Bastos (59.4%) dans des élevages de poules pondeuses durant 4 ans (de 2002 à 2006). L'étude a été menée suite au signalement de l'apparition des signes respiratoires atypiques dans les élevages de poules pondeuses de la région de Bastos.

**Tableau 2.1** : Résumé de quelques études sérologiques de la LTI.

<b>Pays</b>	<b>Nature et Taille de l'échantillon</b>	<b>Symptômes observés</b>	<b>Test (s) utilisé(s)</b>	<b>Prévalence élevage</b>	<b>Auteur(s)</b>
Palestine	3 élevages de poules pondeuses (50000)	-chute de ponte = 30% -Mortalité =12%. -symptômes respiratoires sévères.	-isolement viral. -neutralisation du virus. -ELISA. -histopathologie.	100 %.	Barhoom, 2009.
USA	168 élevages de Repro-chair et poulet de chair	Suspicion clinique de la LTI.	ELISA	57.1 %.	Johnson et al, 2004.
Iran	5 élevages de poules pondeuses.	-mortalité = 3%. -symptômes respiratoires.	- Isolement du virus. - Neutralisation du virus. - Histopathologie.	100 %.	Ebrahimi, 2003

Norvège	- poules pondeuses (16 élevages, 30 poules/élevage)  -repro-chair (92 élevages, 30poules/élevage)	-contrôle systématique (1998-2004) (programme de surveillance).	ELISA	0 %.	Heier et al, 2004.
Brésil	- 74 Fermes de poules pondeuses (1904 poules examinées).  2002-2006.	- signes respiratoires atypiques  - chute de ponte de 30%.	- ELISA	- PE = 59.4%.  - PI = 20.6%.	Gomes, 2008.

## 2.4.2 Epidémiologie analytique:

### 2.4.2.1 Espèces affectées :

Le poulet est l'hôte naturel du virus, quelque 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 [31][32]. Winterfield et So (1968) [33] pouvaient induire des lésions dans l'appareil respiratoire supérieur de jeunes dindonneaux bien que la dinde présente une résistance naturelle au VLTl. Ils ont également, rapporté l'isolement du VLTl dans la trachée. Portz *et al.* En 2008 [34] ont rapporté l'infection naturelle du dindon par le VLTl et les signes cliniques sont semblables a ceux du poulet.

Il semble que les pigeons, colombes, moineaux, étourneaux, corbeaux, canards, pintades soient réfractaires à l'infection [35]; cependant, Yamada et al (1980) [36] ont rapporté l'infection subclinique et la séroconversion chez les canards.

### 2.4.2.2 Transmission du virus :

La transmission du virus se fait par contact direct entre oiseaux, par la litière ou par l'utilisation de matériel contaminé. La transmission du virus contenu à l'intérieur ou à l'extérieur de l'œuf n'a pas été démontrée [37][38]. Les voies d'entrée naturelles sont les voies respiratoire et oculaire [21]. L'ingestion peut également être un mode d'infection [39]. Après l'infection, le VLTl se réplique dans l'épithélium du larynx et de la trachée. Les particules virales sont présentes dans les tissus trachéaux et sont sécrétées pendant 6-8 jours pi. Le virus peut rester dans la trachée à 10 jours pi [40][32][41].

## 2.5 Etiologie :

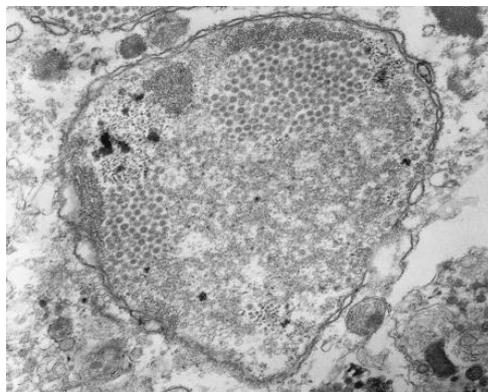
### 2.5.1 Classification du virus:

Le virus de Laryngotrachéite infectieux (VLTl) appartient à la famille des *Herpesviridae*, superfamille des *Alphaherpesvirinae*. Le virus est taxonomiquement identifié comme *herpesvirus 1 des gallinacés* et il est classé dans le genre *littovirus* [42][43][44][45].

### 2.5.2 Morphologie du virus:

Les micrographes électroniques obtenus sur des cultures de cellules d'embryon de poulet infectées par le virus de la LTI démontrent la présence des particules virales icosaédres (fig 2.1). Watrach et al (1963) [46] ont décrit les nucléocapsides hexagonales de VLTl de 80 —100 nm de diamètre. Les nucléocapsides présentent une symétrie icosaèdre et elles sont composées de 162 capsomères prolongées.

La particule virale a un diamètre de 195 —250 nm, elle comporte une enveloppe irrégulière entourant la nucléocapside. L'enveloppe contient les spicules des glycoprotéines virales [22][46].



**Figure 2.1 :** Micrographie électronique d'une cellule infectée par le VLTl (agrégation des particules virales) [47].

### 2.5.3 Composition chimique du virus :

L'acide nucléique du VLTI est composé d'ADN avec une densité de 1,704 g/mL, une valeur similaire à celle d'autres herpesvirus [48]. Le poids moléculaire de l'ADN virale du VLTI est approximativement  $100 \times 10^6$ , le génome ayant deux formes isométriques [49][50]. Plummer et al (1969) [48] ont rapporté que l'ADN virale de la LTI possède un ratio guanine/cytosine de 45%, qui est inférieur à beaucoup d'autres herpesvirus. Le génome d'ADN est une molécule bicaténaire composé de 155-kb linéaire [51][52]. Des données successives sur le gène thymidine kinase du VLTI montrent l'homologie d'ADN entre VLTI et divers autres alphaherpesviruse [53][54].

Les glycoprotéines du VLTI, comme d'autres herpesvirus, sont responsable de la stimulation humorale et cellulaire de la réponse immunitaire [55]. Cinq principales glycoprotéines d'enveloppe avec les poids moléculaires de 205, 160, 115, 90, et de 60 kD ont été rapportées par York et al pour être les principaux immunogènes du VLTI [56][57]. La caractérisation des glycoprotéines du VLTI a été entreprise dans plusieurs laboratoires; les gB, gC, gD, gX, gK, et le gp60 ont été séquencées [58].

### 2.5.4 Réplication virale :

La réplication du virus se fait selon le même schéma que les autres herpesvirus [59][60] : attachement à la cellule hôte, puis libération de la nucléocapside, transportée jusqu'à la membrane nucléaire, libération de l'ADN de la nucléocapside puis migration de ce dernier dans le noyau par les pores nucléaires et transcription et réplication de l'ADN viral dans le noyau [61]. La transcription de l'ADN viral produit environ 70 protéines, dont la majorité est structurale. L'ADN répliqué se fixe à l'intérieur du noyau aux nucléocapsides synthétisées, puis ces structures migrent via la couche interne de la membrane nucléaire, acquérant ainsi leur enveloppe. Les particules virales enveloppées migrent ensuite par le réticulum endoplasmique et sont regroupées dans des vacuoles avant d'être libérées par exocytose ou lyse cellulaire [62].

### 2.5.5 Sensibilité aux agents chimique et physique :

Le virus de Laryngotrachéite (VLTl) est sensible aux agents chimiques en particulier lipolytiques, tels que le chloroforme et l'éther [63]. L'infectiosité du virus de Laryngotrachéite survit pendant plusieurs mois une fois stocké à + 4 °C dans les diluants appropriés, tels que le glycérol ou le bouillon nutritif. Cependant, la thermostabilité de l'infectiosité du VLTl a été le sujet des rapports qui changent considérablement. Par exemple, Cover et Benton [64] ont signalé que VLTl a été détruit en 44 heures à 37 ° C, dans les tissus trachéaux ou dans des membranes chorioallantoïde (CAMs) après 5 heures à 25 ° C.

Une solution du crésol de 3% inactive le VLTl dans moins d'une minute; les surfaces de laboratoire peuvent être décontaminées aisément avec des iodophores commerciaux. L'inactivation complète de l'infectiosité du VLTl a été réalisée avec un mélange de 5 % de peroxyde d'hydrogène par fumigation [65].

### 2.5.6 Classification des souches virales :

#### 2.5.6.1 Antigénicité :

Les souches du virus de Laryngotrachéite semblent être antigéniquement homogènes basées sur la neutralisation du virus et les tests d'immunofluorescence [64][66]. Cependant, la variation antigénique mineure entre les souches a été suggérée, et quelques souches sont mal neutralisées par les antisérums hétérologues [67].

#### 2.5.6.2 Pathogénicité :

Les souches naturelles du VLTl varient selon la virulence, de souches hautement virulentes qui engendrent une morbidité et mortalité élevées chez les poulets exposés, aux souches de faible virulence qui produisent une infection légère à non apparente [64][68].

Des variétés de virus de Laryngotrachéite également, ont été observées en se basant sur la virulence pour les embryons de poulet [69], La morphologie dans la culture cellulaire [67], et la morphologie sur la membrane chorioallantoïde

(CAME) d'œufs embryonnées. La différenciation des souches du VLTI de virulences variables, en particulier le type sauvage et le virus modifié du vaccin vivant, est un problème pratique important [69].

#### 2.5.6.3 Classification moléculaire :

Les méthodes moléculaires comprenant les analyses de restriction de l'endonucléase de l'ADN virale [70][49][52], l'hybridation de l'ADN virale [71][72], et la PCR-RFLP (PCR-Polymorphisme de longueur des fragments de restriction) [73][74], et la séparation électrophorétique des fragments d'ADN ont été utilisés pour distinguer les différentes souches du VLTI [24][52].

L'analyse de restriction de l'endonucléase de l'ADN virale a été employée intensivement dans les études épidémiologiques des manifestations cliniques pour différencier le type sauvage et les virus modifiés du vaccin vivant [75][76].

Plus récemment, des procédures de PCR ont été employées pour distinguer les souches du VLTI [77][78][29].

### 2.6 Etude Clinique :

#### 2.6.1 Période d'incubation :

Les signes cliniques apparaissent généralement 6 - 12 jours suivant l'exposition naturelle [79]. L'inoculation expérimentale par la voie intra-trachéale a une période d'incubation plus courte (de 2-4 jours) [80][81].

#### 2.6.2 Symptômes :

Cliniquement, la plupart des troupeaux présentent une maladie respiratoire sévère comprenant des difficultés respiratoires et l'expectoration de sang d'origine trachéale. D'autres troupeaux n'auront qu'une maladie respiratoire modérée et une conjonctivite [47]. Dans certains troupeaux de poules il peut n'y avoir aucun trouble de la ponte alors que dans d'autres cas on peut observer une diminution du taux de production des œufs de 5 à 15% sans modification de la qualité de la coquille [82].



**Figure 2.2 :** Dyspnée d'un poulet lors de la LTI avec expectoration du sang.



**Figure 2.3 :** Conjonctivite d'un poulet atteint de la LTI. [83].

### 2.6.3 Morbidité et mortalité :

Les formes épizootiques de la LTI causent un taux de morbidité très élevé (90 —100%) [18][20][38]. Cependant, Les formes enzootiques légères de la maladie causent une morbidité très basse (5%) [84].

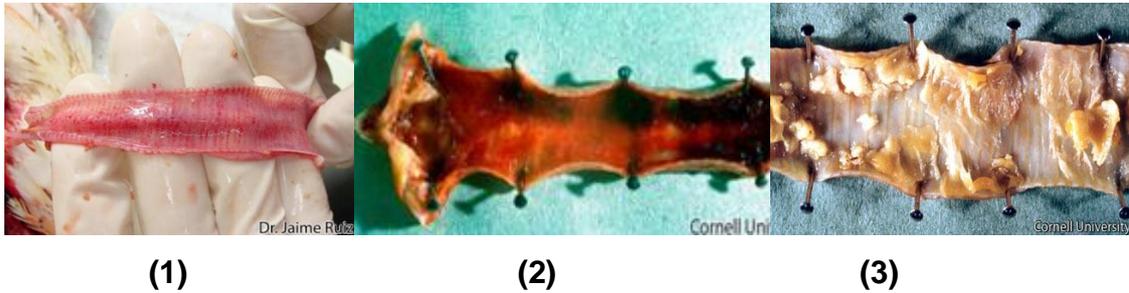
Le taux de mortalité présente de grandes variations selon les troupeaux. Chez les poulets ce taux peut varier de 0.7% à 50%. Chez les poulettes, le taux de mortalité varie de 1.3% à 16% alors que chez les pondeuses, il varie de 0% à 12%. Le taux de mortalité journalier chez les poulettes et les pondeuses n'est pas caractéristique alors que celui des troupeaux de poulets non vaccinés double chaque jour après le début des symptômes [82].

### 2.6.4 Lésions :

#### 2.6.4.1 Lésions macroscopiques :

Les lésions nécropsiques sont essentiellement localisées à la trachée. Occasionnellement, on observe une pneumonie et une aérosacculite. La lésion macroscopique la plus fréquente est une hémorragie avec ou sans présence de matériel caséux dans la trachée ; cependant certains troupeaux ne présentent pas la forme classique de la maladie. Dans ces troupeaux les seules lésions peuvent être une conjonctivite, une sinusite et une trachéite mucoïde [85]. Cependant les oiseaux infectés expérimentalement par aérosol présentent

toujours des lésions du poumon et des sacs aériens [86]. Les infections bactériennes secondaires sont rarement observées conjointement à la LTI. Cependant, chez les poulets atteints par la LTI à l'âge de 3 à 4 semaines et restant sur le terrain pendant encore 3 à 4 semaines avant l'abattage, une aérosacculite sévère due à *Escherichia coli* a pu être observée. Il est aussi rare d'observer des infections virales concomitantes [82].



**Figure 2.4 :** Trachéite de différents degrés lors de la LTI : Hémorragique (1), Fibrino-hémorragique (2), Caséuse (3). [87]

#### 2.6.4.2 Lésions microscopiques :

Les lésions microscopiques varient avec l'étape de la maladie. Les premiers changements microscopiques intéressent la muqueuse trachéale; perte de cellules et infiltration de la muqueuse par des cellules inflammatoires. À mesure que l'infection virale progresse, les cellules épithéliales respiratoires agrandissent, perdent des cils, et deviennent œdémateuses. Des cellules multinucléaires (syncytium) sont formées, et des lymphocytes, histiocytes, et des cellules de plasma émigrent dans la muqueuse et la sous muqueuse après 2 à 3 jours. Plus tard, la destruction et la desquamation des cellules donnent une surface de muqueuse couverte par une couche mince des cellules basiques et l'hémorragie peut se produire dans les cas de destruction épithéliale grave avec rupture des capillaires sanguins. Des corps d'inclusions intranucléaires sont trouvés dans les cellules épithéliales en 3 jours post-infection [86]. Les corps d'inclusion sont généralement présents seulement aux premières étapes de l'infection (1-5 jours) [88][89].

### 2.6.5 Processus pathogénique de l'infection :

L'infection des poulets par le virus de la LTI a pour conséquence la réplication du virus dans l'épithélium du larynx et de la trachée et potentiellement dans d'autres membranes de muqueuses telles que la conjonctive, les sinus respiratoires, les sacs aériens, et les poumons.

Les souches du virus de la LTI sont généralement hautement cytolytiques dans ces tissus, en particulier la trachée, ayant comme résultat la destruction et l'hémorragie épithéliale grave. Plusieurs études ont indépendamment confirmé que le virus est habituellement présent dans les tissus trachéaux et les sécrétions trachéales pendant 6-8 jours pi [40][32][86]; le virus peut rester à un niveau très bas jusqu' à 10 jours pi [41].

### 2.7 Réponse immunitaire :

#### 2.7.1 Immunité active :

Une variété de réponses immunitaires est produite après l'infection par le VLTI [90]. Les anticorps neutralisant le virus deviennent détectables dans les 5-7 jours pi, font un pic autour de 21 jours, et puis s'affaiblissent aux niveaux bas au cours des mois suivants. Les anticorps neutralisant le virus peuvent être détectés pendant une année ou plus [91]. Des anticorps peuvent être détectés dans les sécrétions trachéales 7 jours pi puis font un plateau à 10 - 28 jours pi. Le nombre d'IgA et d'IgG synthétisées dans la trachée a augmenté sensiblement chez les poulets expérimentalement infectés entre 3 et 7 jours pi [40][92]. L'immunité à médiation cellulaire (CMI) n'a pas été intensivement étudiée. Ceci est dû à la complexité des études de CMI ; cependant, des réponses d'hypersensibilité retardée au VLTI ont été démontrées [57].

Les réponses immunitaires humorales au VLTI, bien que liés à l'infection, ne sont pas le mécanisme primaire de la protection, et une corrélation faible généralement a été trouvée entre les titres d'anticorps du sérum et le statut immunitaire des bandes [90]. En outre, Fahey et York (1990) [93], avec l'utilisation de poulets bursectomisés, ont démontré que les anticorps muqueux ne sont pas essentiels pour empêcher la réplication du virus chez les poulets vaccinés. Le

médiateur principal de la résistance à la LTI est la réponse immunitaire cellulaire locale dans la trachée [93].

Fahey et al (1984) [94] ont démontré que la résistance à la LTI pourrait être transférée en utilisant des cellules de la rate et des leucocytes du sang périphérique à partir des donneurs immunisés congéniques.

Fahey et al (1983) [95] ont déterminé que la sensibilité des poulets au VLTI a diminué avec l'âge. Ils ont également constaté que, suite à l'infection par VLTI, les mâles de poulet de chair sont plus sensibles que les femelles de ce même type et que les températures environnementales élevées (35°C) engendrent une mortalité plus élevée chez les souches lourdes que chez les souches légères.

### 2.7.2 Immunité passive :

Les anticorps maternels du VLTI se transmettent à la progéniture par l'intermédiaire de l'œuf [96]. Cependant, ces anticorps maternels ne confèrent pas une protection contre l'infection ou n'interfèrent pas avec la vaccination [95].

## 2.8 Diagnostic :

### 2.8.1 Diagnostic épidémio-clinique :

En général, le diagnostic de la LTI exige l'aide de laboratoire parce que d'autres agents pathogènes respiratoires de volaille peuvent causer des signes cliniques et des lésions semblables. Seulement dans les cas de la maladie aiguë grave avec un taux de mortalité élevée et l'expectoration du sang, la LTI peuvent être diagnostiqués sur la base des signes cliniques. Autrement, le diagnostic de la LTI devrait être basé sur une ou plusieurs procédures confirmatoires du diagnostic de laboratoire [97].

### 2.8.2 Diagnostic de laboratoire :

Historiquement le diagnostic rapide de la LTI était réalisé à partir des lésions nécropsiques, de l'examen histologique, de l'isolement viral ou de la mise en évidence des anticorps par immunofluorescence [85]. D'autres tests ont été

utilisés pour le diagnostic de la LTI, dont les tests avec les sondes à ADN non-radioactives [98][72], à l'immunoperoxydase [89], ELISA [100], la microscopie électronique et la PCR [101]. Plus récemment le test PCR a été développé pour la mise en évidence de l'ADN viral sur les tissus inclus dans la paraffine après fixation dans le formol [102]. Il y a une forte corrélation entre l'examen histopathologique et la détection par le test PCR dans les cas de la LTI, ce dernier test étant considéré comme un outil supplémentaire pour l'identification rapide du virus de la LTI [16][73][74].

### 2.8.3 Diagnostic différentiel :

La maladie respiratoire liée à LTI doit être distinguée d'autres germes pathogènes respiratoires des volailles pouvant causer des signes cliniques et des lésions semblables. Ceux-ci incluent la forme diphtérique du poxvirus et des infections causées par le virus de la maladie de Newcastle, le virus de l'influenza aviaire, le virus de la bronchite infectieuse, adénovirus des volailles, et *Aspergillus* spp [47][103].

### 2.9 Traitement :

Aucun médicament ne s'est avérée 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 [47].

### 2.10 Stratégie d'intervention :

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 [47][104][105].

### 2.10.1 Vaccination :

La vaccination s'est avérée être une méthode satisfaisante pour développer une résistance dans les populations de poulet sensibles. On recommande l'usage du vaccin seulement dans les secteurs géographiques où la maladie est endémique, Puisque l'immunisation peut résulter chez les oiseaux infectés latents ou porteurs [47].

Plusieurs types de vaccins sont développés contre le VLTI :

#### 2.10.1.1 Vaccins à virus vivant modifié :

L'immunisation contre la LTI a été accomplie la première fois par application de virus virulent par voie cloacale [106]. Plus tard, Il a été démontré que l'immunité pourrait être induite par la vaccination des poulets par des virus atténués (vivants modifiés) par voie infraorbitaire [66], instillation intranasale [80], des follicules plumeux [107], Instillation oculaire [108], et oralement dans l'eau de boisson [109].

Des souches sauvages du VLTI ont été atténuées par le passage successif dans les cultures cellulaires [110][111], et les œufs embryonnées [112].

Une attention particulière doit être donnée aux procédures d'administration du vaccin pour assurer une immunisation adéquate ; il faut s'assurer que la dose du virus est suffisante pour fournir l'immunisation efficace, et quand il s'agit des vaccins à virus vivants modifiés les manipuler avec soin en suivant les instructions des fabricants pour le stockage, resuspension, dilution, et application [113].

L'administration du vaccin à virus vivant modifié de la LTI dans l'eau de boisson ou par pulvérisation sont les méthodes souhaitables pour l'application massive de ces vaccins; cependant, plusieurs problèmes ont été associés à ces voies d'inoculation. Robertson et Egerton (1981) [39] et Hilbink et al (1981) [109] ont démontré que l'administration des vaccins de la LTI dans l'eau de boisson a

comme conséquence une proportion élevée de poulets qui ne développent pas une immunité protectrice. La réussite de la vaccination dans l'eau de boisson exige que le virus vaccinal entre en contact avec les cellules épithéliales nasales en raison de l'aspiration du virus par les narines. Les études de Robertson et Egerton (1981) [39] ont prouvé que celle-ci s'est produite rarement chez les poulets vaccinés dans l'eau de boisson.

L'application incorrecte des vaccins de la LTI par la pulvérisation peut induire des réactions défavorables en raison de l'atténuation insuffisante du virus vaccinal, la pénétration profonde dans l'appareil respiratoire due à la petite taille de gouttelettes [114] ou dose excessive [115].

L'utilisation des vaccins à virus vivants modifiés a été associée aux multiples effets indésirables comprenant la diffusion du virus vaccinal aux animaux non vaccinés [116][117][118][119], atténuation insuffisante, production des infectés latents [40], et virulence accrue en raison du passage *in vivo* (d'oiseau-à-oiseau) [120]. La diffusion des virus vaccinaux de la LTI de poulets vaccinés aux poulets non vaccinés a été démontrée [116][117][118][119]. Une telle diffusion devrait être évitée du fait du retour possible du virus vaccinal à la virulence [120]. Alternativement, le virus vaccinal peut avoir comme conséquence la maladie clinique chez les poulets non vaccinés dus à l'atténuation insuffisante [47].

#### 2.10.1.2 Vaccins inactivés :

Des vaccins expérimentaux ont été préparés à partir du VLTI entièrement inactivé [121][95] ou des préparations des glycoprotéines du VLTI purifiées [57]. Ces vaccins ont montré une stimulation des réponses immunitaires chez les poulets à des degrés variables de protection après inoculation du VLTI. Cependant, l'utilisation de ces vaccins sur le terrain est peu probable et due au coût élevé de la préparation et de la livraison [47].

#### 2.10.1.3 Vaccins basés sur la technologie de l'ADN recombinant :

Des vaccins basés sur la technologie de l'ADN recombinant ont été développés pour le contrôle du VLTI [122][123][124]. Okamura et al (1994) [123] et Schnitzlein et al (1994) [125] ont développé des virus recombinants du VLTI manquant de la thymidine kinase, un facteur de virulence de *herpesvirus*, en

insérant des gènes marqueurs *Lac-Z* dans le gène de la thymidine kinase d'ADN virale. Saif et al (1994) [126] ont rapporté l'utilisation d'un herpesvirus des dindes (HVT) contenant des gènes recombinants du VLTI pour l'immunisation des poulets. Ce vaccin a produit une protection contre l'inoculation du VLTI semblable à celle induite par les vaccins à virus vivants modifiés. Une variété de stratégies pour le développement des vaccins de la LTI basés sur la technologie de l'ADN recombinant ont été passées en revue par Bagust et Johnson (1995) [58]. Ils ont proposé que ce type de vaccin puisse être employé en même temps que des mesures de quarantaine et d'hygiène pour le développement des programmes régionaux d'éradication du VLTI.

#### 2.10.1.4 Nouvelle approche vaccinale :

L'immunisation génétique est une autre approche pour produire l'immunité protectrice aux maladies infectieuses. Les vaccins d'ADN peuvent être relativement rapides et faciles pour se produire. L'ADN du plasmide n'est pas infectieux et il ne se réplique pas. En outre, l'ADN du plasmide est stable et peut être stockée dans des conditions qui détruisent un virus vivant. En plus, l'ADN du plasmide peut être administré par une variété de méthodes, y compris l'administration in ovo. Les premières expériences de vaccins d'ADN du VLTI ont été rapportées en 1995 [127][128]. Des oiseaux vaccinés en intramusculaire avec de la glycoprotéine d'ADN se sont avérés avoir des niveaux de protection comparables à ceux vaccinés avec les vaccins à virus vivants atténués. Le perfectionnement de l'efficacité vaccinal d'ADN et le développement d'une application pratique rentable de cette technologie seront recommandés avant son acceptation par l'industrie de volaille.

#### 2.10.1.5 Protocole vaccinal :

Les poulets peuvent être vaccinés avec succès dès le premier jour de vie; cependant, les poulets de moins de 2 semaines d'âge ne répondent pas comme les oiseaux adultes. En plus, les réactions les plus graves sont probablement produites chez les jeunes poulets [129][110][130].

La LTI peut être bien contrôlée dans les lots des poules pondeuses par la vaccination avec les vaccins à virus vivants modifiés. Les lots de pondeuses sont généralement vaccinés deux fois avant le début de la production d'œufs; les vaccins typiques sont administrés par instillation oculaire approximativement à 7 semaines d'âge et le rappel à 15 semaines d'âge par instillation oculaire, pulvérisation, ou dans l'eau de boisson. Les études de Fulton et al (2000) [131] ont démontré l'importance de deux vaccinations pour le développement de la protection contre l'inoculation du virus.

Pour le poulet de chair, le cycle court de croissance, le type de production (all in-all out), et un niveau élevé de biosécurité peut réduire le besoin prophylactique de vaccination. Cependant, la vaccination des lots de poulets peut être nécessaire quand ceux-ci sont à proximité des foyers de la LTI ou quand la maladie s'est précédemment produite à la ferme. Dans ces circonstances, les poulets de chair sont généralement vaccinés à 10 —12 jours d'âge, habituellement dans l'eau de boisson [47].

#### 2.10.2 Eradication :

L'éradication du VLTI dans les élevages de volailles semble être faisable suite à plusieurs propriétés biologiques et écologiques du virus. Ces propriétés incluent le degré élevé de la spécificité d'hôte du virus, la fragilité relative de l'infectiosité du VLTI en dehors du poulet, et la stabilité antigénique du génome du VLTI. Puisque les souches du VLTI sont antigéniquement homogènes, le vaccin simple du VLTI produit une immunité croisée protectrice pour toutes les souches du VLTI.

L'éradication du VLTI sera facilitée dans l'avenir par le développement des vaccins génétiques, ceux-ci produisent une immunité protectrice sans induction des infectés latents, et il sera plus facile à initier les programmes d'éradication [58].

### 2.11 Conclusion :

La LTI est la première maladie contre laquelle un vaccin aviaire est développé, c'est une maladie respiratoire se manifestant sur plusieurs formes : sévère, modérée et très légère. Des études récentes montrent que la LTI est réapparue chez la poule pondeuse sous une forme très légère pouvant induire des pertes économiques énormes en termes de production (chute de ponte pouvant dépasser les 30%) [2][3]. Son diagnostic sur le terrain est alors délicat en première intention et le recours au laboratoire représente un moyen de confirmation de l'infection.

## CHAPITRE 3

### OUTILS DU DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DE LA LTI

#### 3.1 Introduction :

Ces dernières années la Laryngotrachéite infectieuse (LTI) est réapparue sous une forme apparemment très légère posant des problèmes dans les élevages de poules pondeuses [16][5]. Seulement quelques oiseaux dans un élevage infecté peuvent montrer les signes respiratoires classiques et la mortalité peut être faible avec une chute de ponte pouvant atteindre 30 % [3]. Avec la présence des souches relativement légères dans les populations de volailles il est essentiel que des tests adéquats soient disponibles pour l'identification des oiseaux et des élevages infectés.

Plusieurs méthodes ont été recommandées pour le diagnostic de la LTI comprenant l'isolement du virus, inoculation du poulet, immunofluorescence, histopathologie et la diffusion en gel [132]. Bien que le test de diffusion en gel soit simple et relativement rapide, il est avéré détecter l'antigène viral dans seulement 75% des trachées dans lesquelles le virus a été isolé par inoculation d'œufs [133]. De même, l'immunofluorescence sur les sections trachéales a détecté seulement 60% des sujets d'échantillons dans lesquels le virus a été isolé [63].

L'ELISA, test très sensible, est maintenant largement répandu pour mesurer les anticorps des différents germes dans les sérums compris le VLTI [5][3][134]. Dans ce chapitre nous allons décrire en détail l'application du test ELISA pour détecter les anticorps produits contre le VLTI dans les sérums de poules pondeuses.

## 3.2 Epreuves sérologiques :

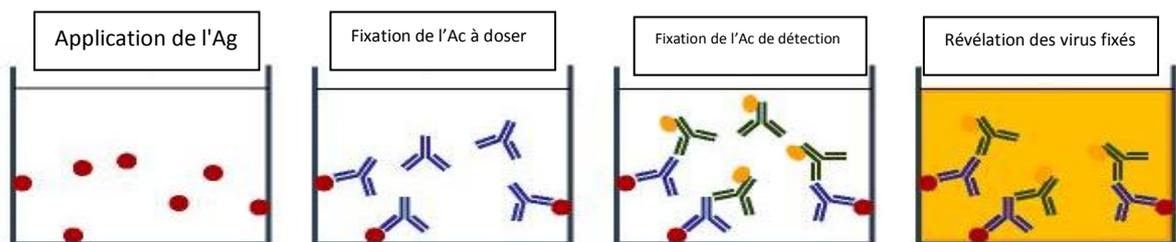
### 3.2.1 ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) :

#### 3.2.1.1 Principe du test :

Le terme ELISA vient d'Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Il s'agit d'un procédé (immuno absorption enzymatique) qui permet de doser les antigènes (corps considéré comme étranger par l'organisme) et les anticorps grâce à l'utilisation d'un marqueur (molécule dont la détection permet d'identifier ces éléments). Dans la méthode ELISA, ces marqueurs sont des enzymes.

#### 3.2.1.2 Mode opératoire :

Le test comporte 4 étapes :



**Figure 3.1 :** Les étapes d'un test ELISA.

#### 3.2.1.2.1 Application de l'antigène :

Cette étape peut être préparée à l'avance au labo afin de pouvoir réaliser le reste du test en une seule séance, elle consiste en la distribution de 200µL d'une solution concentrée d'antigène dans chacun des puits utilisés de la plaque (sauf dans les puits constituant le témoin négatif sans antigène). Ensuite, les plaques sont incubées à 4°C durant une nuit et les puits sont lavés pour enlever l'excès d'antigène, les vider en retournant la plaque au dessus de l'évier et en la tapant sur un papier absorbant. Enfin, remplir les puits avec la pissette contenant le

tampon de lavage, du bas vers le haut de la plaque pour éviter les surverses. Renouveler trois fois l'opération.

#### 3.2.1.2.2 Fixation de l'anticorps à doser :

On dépose 100µL de chaque dilution de l'anticorps à doser dans les puits (sauf dans les puits constituant le témoin négatif sans anticorps). Ensuite, les plaques sont incubées 30 minutes à 1 heure, à 37°C. Un lavage enlève l'excès d'anticorps non fixé, vider les puits et laver trois fois.

#### 3.2.1.2.3 Fixation de l'anticorps de détection :

On dépose 100µL de la solution d'anticorps de détection conjugué à une enzyme dans les puits (sauf dans les puits constituant le témoin négatif sans anticorps de détection). Puis, Incuber 30 minutes à 1 heure, à 37°C. Les puits sont ensuite lavés pour enlever les anticorps en excès non fixés.

#### 3.2.1.2.4 Révélation des anticorps fixés :

On incube, pendant 10 minutes à température ambiante à l'obscurité, 50µL d'une solution révélatrice contenant un substrat de l'enzyme dans les puits (sauf dans les puits constituant le témoin négatif sans substrat). Ensuite, on interprète les résultats.

#### 3.2.1.2.5 Interprétation des résultats :

Si la réaction est positive les puits contenant l'anticorps à doser vont se colorer. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps à doser. Les puits ne contenant pas l'un des réactifs (témoins négatifs ou sérum testé ne contenant pas les anticorps recherchés) restent incolores.

#### 3.2.1.3 Différents types d'ELISAs :

L'ELISA est une technique biochimique, principalement utilisée en immunologie, mais pas uniquement pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. La technique utilise un ou deux anticorps. L'un

de ceux-ci est spécifique à l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorogène.

L'ELISA pouvant être utilisé tant pour évaluer la présence d'un antigène (ELISA direct) que celle d'un anticorps dans un échantillon (ELISA indirect), c'est un outil efficace à la fois pour déterminer des concentrations sériques d'anticorps (titre d'anticorps ou séroconversion), que pour détecter la présence d'un antigène. Il a également trouvé des applications dans l'industrie de l'alimentation, afin de détecter des allergènes alimentaires, comme le lait, les cacahuètes, les noix et les œufs (ELISA par compétition). C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est limité par la disponibilité en anticorps spécifique [135][136][137][91].

### 3.2.2 Séroneutralisation :

Les tests de SN sont réalisés sur des MCAs d'œufs embryonnées de poulets âgés de 9 à 11 jours, où les anticorps spécifiques doivent neutraliser la formation des foyers nécrotiques dus au VLTI.

Ces tests peuvent également être effectués de manière alternative sur des cultures cellulaires où les anticorps spécifiques neutralisent le VLTI en prévenant l'ECP. Des dilutions de sérums de 1/100 sont ajoutées à un volume égal d'une solution virale à concentration constante. Cette concentration peut être équivalente soit à 100 DIE50 (Dose de virus infectant 50 % des embryons), soit à 100 DICT50 (Dose de virus infectant 50 % de la culture tissulaire). Ces mélanges sont mis en incubation à 37°C pendant 1 h pour permettre la neutralisation virale.

Lorsque le test est réalisé sur des œufs, les mélanges virus/sérum sont inoculés par la voie chorioallantoïdienne, avec l'emploi d'au moins 5 œufs par dilution. Les œufs sont obturés puis incubés à 37°C pendant 6 à 7 jours. Le point limite est enregistré à la plus forte dilution du sérum où l'on n'observe pas de foyers nécrotiques sur les MCAs .

Quand les tests sont pratiqués sur des cultures cellulaires, les dilutions de sérums sont préparées dans des microplaques à 96 cupules, puis le virus est ajouté. Après la période nécessaire pour la neutralisation, des cellules fraîches de foie ou de rein d'embryon de poulet sont ajoutées dans chaque cupule. Les

plaques sont mises en incubation à 37°C dans une atmosphère à 5 % de CO<sub>2</sub> et examinées tous les jours pour un ECP ; le point limite à 50 % est lu après environ 4 jours quand le « témoin virus » indique que 30-300 DICT50 ont été utilisées dans ce test. Pour le test utilisant la culture cellulaire, une neutralisation du virus au 1/8 (dilution initiale) ou plus est considérée comme positive [91].

### 3.2.3 Immunodiffusion en gélose :

Pour les tests d'IDG, l'antigène est préparé à partir des MCAs infectées par le virus où des cultures cellulaires infectées.

Des antisérums témoins positifs et négatifs sont utilisés dans ce test qui est lu après 24 à 48 h d'incubation à la température du laboratoire ou à 37°C. Les tests d'IDG sont simples, économiques et utiles pour un dépistage de la LTI dans l'élevage mais sont moins sensibles que les autres méthodes [91][138].

### 3.2.4 Epreuve d'immunofluorescence indirecte :

Pour les épreuves d'immunofluorescence indirecte, l'antigène est préparé sur plusieurs microcultures cellulaires infectées par le virus LTI et multipliées sur des lames multiports recouvertes de téflon. Quand l'ECP apparaît, les cultures sont fixées dans l'acétone pendant 10 min. Les dilutions du sérum à tester sont préparées dans le PBS et appliquées sur chaque microculture, les lames étant mises par la suite en incubation pendant 1 h à 37°C. Les lames sont rincées avec du PBS, égouttées puis traitées avec une dilution appropriée d'une solution commerciale d'IgG anti-poulet préparée sur lapin et marquée par l'ICTF. Après 1 h d'incubation à 37°C, les lames sont lavées de nouveau et des lamelles sont montées avec un milieu de montage non coloré. Elles sont examinées par épifluorescence à la lumière ultraviolette et le titre du point limite est donné par la lecture de la plus forte dilution du sérum montrant une fluorescence spécifique. Cette épreuve est plus sensible que l'IDG mais l'interprétation des résultats peut être subjective [91].

### 3.2.5 Comparaison des tests sérologiques :

Le premier test sérologique utilisé pour la détection des anticorps de la LTI est le test de précipitation en gel d'agar [139]. Cependant, ce test est maintenant considéré incertain [140][141]. En revanche, le test de séroneutralisation (SN) s'est avéré long, mais très fiable, précis et adapté aux mesures quantitatives [91]. Pour le criblage de masse de sérums, L'ELISA s'est avéré le test sérologique le plus pratique parce qu'il est simple à exécuter rapide, et nécessite seulement très peu de sérum et d'antigène [142].

Les résultats de Bauer et al (1999) montrent que la sensibilité et la spécificité de l'ELISA est supérieure à celle du SN.

### 3.3 Identification de l'agent pathogène :

#### 3.3.1 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  $-70^{\circ}\text{C}$  ou moins pour limiter une perte du titre viral. Il faut éviter les congélations et décongélations répétées qui diminuent l'infectiosité du virus [14].

L'exsudat et les cellules épithéliales raclés de la trachée sont dilués au 1/10 dans un milieu nutritif contenant de la pénicilline et de la streptomycine, le

mélange étant agité vigoureusement. La suspension obtenue est centrifugée à faible vitesse pour enlever les débris, puis 0,2 ml du liquide surnageant est inoculé sur la MCA d'œufs embryonnés de poulet âgés de 10 à 12 jours. Les œufs sont obturés avec de la paraffine et mis à incuber à 37°C pendant plus de 7 jours. Ils sont mirés tous les jours puis on recherche les foyers nécrotiques typiques sur les MCA des embryons morts ou survivants au-delà de 7 jours [5][29]. Alternativement, on peut utiliser des cultures cellulaires de foie ou de rein d'embryon de poulet [67].

Dans chaque cas, 3 passages de matériel biologique au moins sont nécessaires avant de considérer qu'un prélèvement est négatif. L'isolement d'un virus LTI peut être confirmé par un test de Séronéutralisation (SN) sur œufs ou sur culture cellulaire en utilisant un antisérum LTI hyperimmun. Alternativement, des particules virales peuvent être identifiées rapidement dans le liquide de cultures cellulaires ou sur les foyers nécrotiques des MCAs par microscopie électronique et l'antigène viral peut être détecté par immunofluorescence sur des cultures cellulaires infectées fixées avec de l'acétone ou sur des coupes congelées de MCA [143][144].

### 3.3.2 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 x 30 à 45 pour les particules caractéristiques des herpesvirus [145].

### 3.3.3 Immunofluorescence :

Pour les épreuves d'immunofluorescence des antigènes viraux, les cellules épithéliales obtenues par raclage de trachée sont étalées sur une lame de verre. Alternativement des coupes de trachée d'une épaisseur de 5 µm obtenues par congélation rapide sont fixées dans l'acétone à la température du laboratoire pendant 10 min. Ces prélèvements peuvent être colorés directement en utilisant des immunoglobulines anti-virus LTI marquées par de l'isothiocyanate de fluorescéine (ITCF) appliquées pendant 1 h, suivies d'un rinçage pendant 15 min dans un bain d'une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS) à pH 7,2, sous agitation magnétique. Sinon, ils peuvent être colorés indirectement en utilisant un sérum de poulet anti-LTI de dilution appropriée appliqué pendant 1 h. La lame est rincée minutieusement avec du PBS pendant 15 min et les immunoglobulines anti-virus LTI marquées sont appliquées pendant 30 min. Après un dernier rinçage, la préparation est recouverte d'une lamelle avec un milieu de montage non coloré. Les préparations sont examinées à l'aide d'un microscope à fluorescence sous lumière ultra-violette pour rechercher une fluorescence spécifique intranucléaire dans les cellules épithéliales [146][147].

### 3.3.4 Immunodiffusion en gélose :

Les antigènes du virus LTI peuvent être mis en évidence sur un exsudat trachéal, les 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. 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 [29][133].

### 3.3.5 Méthode immuno-enzymatique :

La méthode ELISA utilisant les anticorps monoclonaux (AcM) peut être employée pour mettre en évidence les antigènes viraux. L'antigène viral est distribué sous un volume de 50 µl dans les cupules des microplaques préalablement recouvertes d'IgG de lapin anti-virus LTI diluées au 1/200 dans 0,05 M de tampon carbonate/bicarbonate, de pH = 9; et mis en incubation pendant 1 h. Puis 50 µl d'AcM dirigés contre les principales glycoprotéines du virus LTI, dilués au 1/50 dans du PBS, sont ajoutés dans chaque cupule, suivis par 50 µl d'une dilution au 1/1 000 d'IgG anti-souris purifiée d'origine caprine conjuguée à la peroxydase. Le substrat, l'acide 5-aminosalicylique (6,5 mM), est ajouté dans les cupules au volume de 100µl. Après 30 min, les plaques sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 nm et la lecture de l'absorbance pour chaque cupule est corrigée par la soustraction de la lecture obtenue avec les cupules témoins contenant du tampon dilué au lieu de l'exsudat trachéal. La limite positif/négatif est déterminée par la valeur moyenne de l'absorbance obtenue avec plusieurs prélèvements négatifs (matériel trachéal sans virus LTI) plus 3 écart-types [148].

### 3.3.6 Histopathologie :

Les trachées destinées à un examen histologique doivent être placées dès leur prélèvement sur les oiseaux dans une solution de formol et incluses dans des blocs de paraffine. Des inclusions Intranucléaires peuvent être observées dans les cellules de l'épithélium trachéal sur des coupes longitudinales colorées par l'hématoxyline et l'éosine. Il s'agit des inclusions classiques de type A de Cowdry des herpesviroses, mais elles peuvent n'être présentes que pendant les 3 à 5 jours suivant l'infection. Dans les cas sévères où la plupart des cellules infectées

se sont détachées de la trachée, les inclusions seront visibles sur les cellules intactes dans les débris cellulaires présents dans la lumière trachéale [149].

### 3.3.7 Méthodes moléculaires :

Des méthodes moléculaires pour identifier l'ADN du virus LTI dans les prélèvements ont été rapportées. Un test d'hybridation Dot Blot avec des fragments ADN de virus cloné s'est révélé très sensible pour la détection du virus alors que l'ELISA était négative [150][151][101].

La PCR s'est révélée plus sensible que l'isolement viral dans les prélèvements, en particulier lorsque d'autres contaminants viraux comme les adénovirus sont présents [101][16]. Alexander et Nagy (1997) [152] ont montré que la PCR et l'isolement viral présentent la même sensibilité du milieu de la phase d'infection jusqu'à la fin de celle-ci, alors que la PCR se révèle supérieure pendant la phase de guérison.

Jusqu'à présent, le problème des méthodes de détection du virus LTI était la difficulté de pouvoir différencier les souches du terrain des souches vaccinales. Ce problème pourrait être résolu avec les travaux de Chang *et al.* (1997) [153], qui utilisent la PCR conjointement avec la PCR-RFLP (PCR-Polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Cette approche permettrait aussi de mieux comprendre l'épidémiologie et l'évolution du virus LTI. En effet, l'analyse des souches coréennes du virus LTI par la PCR-RFLP, qui permet de classer les virus en fonction de la thymidine kinase et des gènes des glycoprotéines, montre que la méthode peut être utilisée pour distinguer les souches de faible et de forte virulence [154].

## CHAPITRE 4

### PARTIE EXPERIMENTALE

#### 4.1. Problématique :

La situation sanitaire de l'aviculture algérienne est améliorée ces dernières années par l'instauration d'un programme de vaccination contre certaines maladies virales (New Castle, Gumboro, Bronchite infectieuse, Encéphalomyélite, Réovirose). Néanmoins, certaines maladies ne sont pas concernées, notamment la Laryngotrachéite, la Rhinotrachéite et les Adénoviroses, et le syndrome de la grosse tête, qui peuvent avoir une incidence économique directe sur l'industrie de la volaille, en induisant des chutes de ponte, de l'ordre de 10 à 40% [155].

Il existe bien évidemment d'autres causes reliées aux conditions d'élevage (stress, densité, ambiance) relatives à l'alimentation et autres problèmes dus aux agents infectieux (parasitaires, bactériens) [156].

Des études très récentes un peu partout dans le monde (USA, Brésil, Norvège, Australie, Palestine) montrent que la LTI était à l'origine des chutes de pontes chez les poules pondeuses pouvant dépasser les 30 % [29][3][4][5].

En Algérie, aucune étude n'a été menée pour déterminer les causes des chutes de ponte, bien que celles-ci soient signalées par différents praticiens s'occupant de pondeuses.

A partir de là, les principales questions qui se posent sont les suivantes :

- Quelle est la situation des chutes de ponte en Algérie, sur le plan clinique ?
- Quel est le diagnostic qui est fait par les vétérinaires praticiens sur le terrain?
- Le virus LTI est-il présent dans nos élevages ?
- Le virus LTI est-il lié aux chutes de ponte ?

#### 4.2. Objectifs de l'étude :

Pour réaliser ce travail nous avons tracé les objectifs suivants :

1. Evaluer la situation des chutes de ponte en Algérie à travers l'opinion des vétérinaires praticiens du terrain.
2. Connaître le diagnostic qui est fait par les vétérinaires praticiens sur le terrain.
3. Vérifier l'éventuelle circulation du virus LTI dans les élevages de poule pondeuse, à travers la mise en évidence d'anticorps sériques.
4. Connaître la part des chutes de ponte éventuellement causées par la LTI parmi les élevages présentant une chute de ponte, par la mise en évidence d'une séroconversion dans les élevages de poules pondeuses.
5. Evaluer l'impact économique de la pathologie, par rapport à la vaccination.

#### 4.3. Matériel et méthodes :

Cette étude expérimentale se présente en trois parties :

- Une enquête de terrain effectuée à l'aide d'un questionnaire destiné aux vétérinaires praticiens,
- La recherche d'une éventuelle circulation du virus LTI à travers la mise en évidence d'anticorps dans le sérum de poules (enquête sérologique).
- Une étude économique avantages-coûts d'une éventuelle manifestation clinique de la LTI.

Le canevas général de l'étude est le suivant :



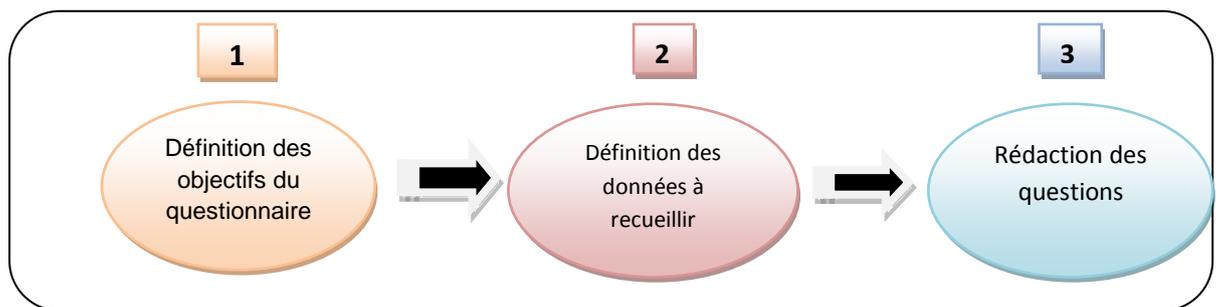
**Figure 4.1** : canevas général de l'étude.

#### 4.4. Première partie : Enquête par questionnaire

Afin d'appréhender l'importance des chutes de ponte en Algérie, et de connaître le diagnostic qui est fait par les vétérinaires praticiens sur le terrain, nous avons choisi de questionner les vétérinaires praticiens.

##### 4.4.1. Matériel et méthodes :

L'élaboration de ce questionnaire se fait en plusieurs étapes :



**Figure 4.2 :** Représentation schématique de la démarche générale de préparation d'un questionnaire [157].

##### 4.4.1.1. Préparation du questionnaire :

###### 4.4.1.1.1. Définition des objectifs du questionnaire :

Avant de commencer à rédiger les questions d'un questionnaire, nous avons défini précisément les objectifs, c'est-à-dire les informations que nous souhaitons obtenir.

L'objectif principal de notre questionnaire est, comme nous l'avons vu plus haut, d'évaluer la situation des chutes de ponte en Algérie (fréquence, importance), et de connaître le diagnostic qui est fait par les vétérinaires praticiens sur le terrain.

Par ailleurs, il m'a paru intéressant d'interroger les vétérinaires sur leurs mesures préventives contre les maladies virales qui peuvent causer un épisode de

chute de ponte (BI, ESD, LTI) pour connaître approximativement le statut immunitaire des élevages présentant une chute de ponte (vacciné, non vacciné).

L'objectif de la dernière question posée sur l'accord du vétérinaire de participer à l'enquête sérologique est de désigner les vétérinaires sentinelles pour repérer les élevages présentant une chute de ponte.

#### 4.4.1.1.2. Définition des données à recueillir :

Le questionnaire ainsi finalisé, présenté en Annexe B, comporte 4 parties distinctes:

- Des données générales concernant le vétérinaire,
- Des données principales des chutes de ponte (durée, fréquence, période),
- Les étiologies probables et leurs symptômes,
- Les vaccinations mises en place.

#### 4.4.1.1.3. Rédaction des questions :

##### 4.4.1.1.3.1. Choix du type de questionnaire :

Différents types de questionnaire existent pour récolter les informations voulues lors d'une enquête descriptive : technique, d'opinion ou mixte. Dans notre étude, le questionnaire est mixte car il est constitué à la fois de questions ouvertes et de questions fermées. A titre d'exemple :

- ✓ Quels étaient les pourcentages de chutes de ponte? De ....% à ....%.
- ✓ A quoi sont dues, d'après vous, ces chutes de ponte ?
  - Affections virales .....%
  - affections Bactériennes ..... %
  - affections Parasitaires ..... %
  - origine Alimentaire..... %
  - Autres ..... % Précisez.....

#### 4.4.1.1.3.2. Elaboration des questions :

Nous avons formulé les questions selon deux types : les questions dites «ouvertes» laissent la réponse totalement libre, et les questions «fermées» donnent le choix aux vétérinaires entre quelques réponses prédéfinies.

Pour la commodité d'exploitation des résultats et l'assurance d'obtenir un taux de réponse correct, nous avons choisi la formulation de la majorité des questions de façon fermée. Néanmoins, celles permettant d'établir le statut immunitaire des élevages de poules pondeuses et le soupçon de la LTI sur le terrain ne pouvaient être que mixtes voire ouvertes.

Le tableau suivant représente un résumé du questionnaire utilisé dans notre enquête.

**Tableau 4.1** : Récapitulatif du questionnaire de l'enquête.

Objectifs du questionnaire	Données à recueillir	Rédaction des questions
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Identification des vétérinaires interrogés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Statut des vétérinaires interrogés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Nombre d'élevages suivis</li> <li>➤ Région d'exercice</li> <li>➤ Nombre d'années d'exercice</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Evaluer la situation des chutes de ponte en Algérie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Caractéristiques principales des chutes de ponte</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pourcentages des chutes de ponte</li> <li>➤ Durée des chutes de ponte</li> <li>➤ Période des chutes de ponte</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Connaitre le diagnostic qui est fait par les vétérinaires praticiens sur le terrain.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Etiologies probables et leurs symptômes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Causes des chutes de ponte</li> <li>➤ Les différentes étiologies virales des chutes de ponte</li> <li>➤ Chutes de ponte accompagnées d'œufs anormaux</li> <li>➤ Taux de mortalité accompagnée aux chutes de ponte</li> <li>➤ Les symptômes associés aux chutes de ponte</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Savoir si les vétérinaires connaissent les maladies virales qui font l'objet de la vaccination.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mesures vaccinales mises en place</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Plan de vaccination de la poulette démarrée</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Désigner les vétérinaires sentinelles pour repérer les élevages présentant une chute de ponte.</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Accord aux prélèvements sérologiques</li> </ul>

#### 4.4.1.2. Testage du questionnaire :

Avant de lancer le questionnaire sur une grande échelle nous l'avons testé plusieurs fois (3 fois) chez un nombre restreint de vétérinaires (5 vétérinaires du centre Algérien), ce testage a pour but de vérifier la compréhensibilité des questions et leur utilité. Nous avons tenu compte de toute suggestion de modification de fond ou de forme pour améliorer le questionnaire.

#### 4.4.1.3. Remplissage du questionnaire :

Quant à la récolte des informations, elle est faite par les différents enquêteurs dans l'Est, le centre et l'ouest (5 enquêteurs). Pour pallier au souci d'harmonisation et de standardisation nous avons effectué une formation commune des enquêteurs.

Pour assurer un bon taux de réponse, nous avons décidé de faire remplir le questionnaire en face à face par les vétérinaires. Ce procédé, quoiqu'assez onéreux et chronophage, était néanmoins réalisable car le nombre de vétérinaires à interroger était restreint (73 vétérinaires).

#### 4.4.1.4. Population d'étude :

La population d'étude ciblée regroupe tous les vétérinaires qui font le suivi d'élevage de poules pondeuses. Nous l'avons estimé à 400 vétérinaires. Cette population a été estimée à partir du nombre d'élevages de poules pondeuses, qui représente 4000 au niveau national [6], c'est-à-dire que l'on a considéré une moyenne de 10 élevages / vétérinaire.

#### 4.4.1.5. Détermination de l'échantillon :

L'enquête n'est pas réalisée sur l'ensemble de la population (400 vétérinaires) mais sur une partie de celle-ci, appelée échantillon. Ce type d'enquête, dite par sondage, a plusieurs avantages par rapport à une enquête exhaustive :

- Réduire les coûts car une enquête de ce type nécessite des moyens financiers et mobilise le ou les enquêteurs pendant une durée déterminée.
- Assurer la faisabilité de l'enquête en réduisant le nombre de vétérinaires à interroger.

Ce protocole permet donc d'obtenir les informations voulues plus rapidement, et à un coût moindre.

L'échantillon choisi pour extrapoler les résultats obtenus à la population totale doit être représentatif d'une part, et assez élevé numériquement pour assurer des résultats précis d'autre part. Pour déterminer la taille de l'échantillon, il est nécessaire de définir deux paramètres : [157]

- La prévalence attendue (ou proportion attendue).
- La précision relative souhaitée.

Dans notre cas, la prévalence attendue choisie est le pourcentage de vétérinaires qui font des suivies d'élevages de poules pondeuses. En l'absence de données sur le nombre de ces vétérinaires spécialisés, celle-ci a donc été estimée à 15 %, c-à-d 400 vétérinaires spécialisés dans les suivis d'élevages de poules pondeuses parmi les 6000 exerçant à titre privé.

La précision relative a été fixée à 60 %. En effet, c'est une précision assez bonne dans le cadre d'une première étude, en plus, elle permet de rendre l'enquête réalisable.

L'intersection entre la colonne de la prévalence attendue (15%) et la rangée de la précision relative (60%) définit ( $n = 61$ ) le nombre d'individus à introduire dans l'échantillon. (Voir tableau 4.2)

**Tableau 4.2 :** Nombre de sujets nécessaire pour l'estimation d'une prévalence en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée dans le cas d'un taux de sondage inférieur à 10% [157].

Précision relative	Prévalence attendue (p. cent)													
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
10 p. cent	3 8032	18 824	12 422	9 220	7 300	3 458	2 177	1 537	1 153	897	714	577	470	385
20 p. cent	9 508	4 706	3 106	2 305	1 825	865	545	385	289	225	179	145	118	97
30 p. cent	4 226	2 092	1 381	1 025	812	385	242	171	129	100	80	65	53	43
40 p. cent	2 377	1 177	777	577	457	217	137	97	73	57	45	37	30	25
50 p. cent	1 522	753	497	369	292	139	88	62	47	36	29	24	19	16
60 p. cent	1 057	523	346	257	203	97	61	43	33	25	20	17	14	11
70 p. cent	777	385	254	189	149	71	45	32	24	19	15	13	11	10
80 p. cent	595	295	195	145	115	55	35	25	20	17	14	13	11	10
90 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10
100 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10

Dans le cas où le taux de sondage est supérieur à 10 % (61/400). On peut redéfinir la taille de l'échantillon (n'), elle est située à l'intersection entre la colonne indiquant la taille de la population et la rangée correspondant au nombre (n) d'unité nécessaire pour un taux de sondage inférieur à 10% (Voir tableau 4.3).

**Tableau 4.3 :** nombre de sujets nécessaire pour un échantillon correspondant à un taux de sondage supérieur à 10% à partir du nombre n donné par le tableau 4.2 [157].

n	Taille de la population																						
	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	600	700	800	900	1 000	1 500	2 000	2 500	3 000	4 000	5 000	10 000	20 000
10	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
20	15	17	18	19	19	19	19	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
30	19	24	25	27	27	28	28	28	29	29	29	29	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
40	23	29	32	34	35	36	36	37	37	38	38	38	39	39	39	39	40	40	40	40	40	40	40
50	25	34	38	40	42	43	44	45	45	46	47	47	48	48	48	49	49	50	50	50	50	50	50
60	28	38	43	47	49	50	52	53	53	54	55	56	56	57	57	58	59	59	59	60	60	60	60
70	30	42	48	52	55	57	59	60	61	62	63	64	65	65	66	67	68	69	69	69	70	70	70
80	31	45	53	58	61	64	66	67	68	69	71	72	73	74	75	76	77	78	78	79	79	80	80
90	33	48	57	63	67	70	72	74	75	77	79	80	81	82	83	85	87	87	88	89	89	90	90
100	34	50	60	67	72	75	78	80	82	84	86	88	89	90	91	94	96	97	97	98	99	100	100
110	35	53	64	71	77	81	84	87	89	91	93	96	97	99	100	103	105	106	107	108	108	109	110
120	36	55	67	75	82	86	90	93	95	97	100	103	105	106	108	112	114	115	116	117	118	119	120
130	37	57	70	79	86	91	95	99	101	104	107	110	112	114	116	120	123	124	125	126	127	129	130
140	37	59	73	83	90	96	100	104	107	110	114	117	120	122	123	129	131	133	134	136	137	139	140
150	38	60	75	86	94	100	105	110	113	116	120	124	127	129	131	137	140	142	143	145	146	148	149
160	39	62	78	89	98	105	110	115	119	122	127	131	134	136	138	145	149	151	152	154	156	158	159

....

#### 4.4.1.6. Analyses statistiques :

L'analyse statistique visant à comparer les résultats obtenus a été réalisée grâce à des calculs de chi 2 d'indépendance. L'extrapolation des résultats sur l'ensemble de la population est accompagnée par le calcul des intervalles de confiance (IC).

L'intervalle de confiance fournit l'étendue des valeurs dans lesquelles nous nous attendons à trouver la valeur réelle de l'indicateur étudié, avec une probabilité donnée. De cette façon, il donne une estimation de la différence potentielle entre ce qui est observé et ce qui arrive vraiment dans la population, ce qui aide dans l'interprétation de la valeur de l'indicateur observé.

L'intervalle de confiance de 95% est le plus utilisé. Il ne doit être calculé que lorsqu'il s'agit d'une estimation sur un échantillon et non pas lorsque les analyses ont porté sur l'ensemble de la population [157].

#### 4.4.1.7. Analyse des données :

L'ensemble des données recueillies a été retranscrit dans un fichier Excel et codifié de façon à pouvoir les exploiter plus facilement.

#### 4.4.2. Résultats et discussion :

L'enquête a été réalisée auprès de 73 vétérinaires praticiens sur les 80 contactés. Ces vétérinaires font des suivis d'élevages de poule pondeuse dans les régions Centre, Est, Ouest de l'Algérie. (Annexe C).

##### 4.4.2.1. Plan d'échantillonnage :

Notre enquête n'a pas été faite sur la totalité de la population des vétérinaires praticiens, elle a porté sur une partie de celle-ci appelée échantillon. Cet échantillon doit être adapté aux objectifs de l'enquête descriptive.

Pour pouvoir extrapoler les résultats obtenus à travers l'échantillon sur la population d'étude on doit respecter deux paramètres essentiels : exactitude et précision de l'échantillon [157].

L'exactitude dépend de la représentativité de l'échantillon, assurée au mieux par le tirage au sort. Notre échantillon serait non représentatif puisque nous n'avons pas pu prévoir de tirage au sort, par absence d'une liste exhaustive recensant les vétérinaires faisant le suivi d'élevage de poule pondeuse. La discussion et l'extrapolation des résultats devraient donc être faites avec prudence.

La précision est tributaire du nombre d'individus à inclure dans l'échantillon. Nous avons pris 73 vétérinaires parmi les quelques 400 exerçant dans les suivis d'élevages de poules pondeuses, nos résultats sont plus précis que ce qui était prévu au départ, puisque il dépasse le nombre prévu dans la table d'échantillonnage (73 vétérinaires questionnés au lieu de 53).

Grace au testage du questionnaire nous avons pu apporter plusieurs modifications avant de le lancer à grande envergure. A titre d'exemple, nous pouvons citer les modifications suivantes :

- La reformulation des questions 1 et 12. Pour la première, elle était un peu large englobant toute la filière ponte (RP, RC, PP), et dans l'objectif de bien définir la population d'étude nous n'avons gardé que la poule pondeuse (PP). Concernant la douzième question, les noms des vaccins sont remplacés par les noms des maladies puisque on risquait d'oublier les noms commerciaux des vaccins de la poule pondeuse existant sur le marché.
- L'ajout des classes pour mieux appréhender l'importance des chutes de ponte (question n° 5) et de préciser l'importance des étiologies suspectées (question n°8).

Malgré le respect des règles d'éthique pour la rédaction du questionnaire, de récolte des données, notamment, l'anonymat des vétérinaires, nous avons enregistré 8 cas de refus de remplissage du questionnaire. La plupart d'entre eux sont des nouveaux vétérinaires qui font peu de suivi d'élevage de poules pondeuses.

Enfin, le mode d'obtention des réponses en face-à-face à permis de réduire le nombre de refus de participation (8 cas seulement) et le nombre des

questions sans réponses. Cependant, il y avait 2 questions où le taux de réponse était faible. Il s'agit des questions 10b posée sur le taux de mortalité accompagnant la chute de ponte (taux de réponse = 27%), et la question n° 13 sur la connaissance de la LTI sur le terrain (taux de réponse = 20%). Ce taux de réponse faible pourrait s'expliquer par le taux de mortalité faible voir négligeable dans la majorité des cas des chutes de ponte. Aussi, nous pensions que la LTI est une pathologie très peu suspectée voir méconnue sur le terrain ce qui a conduit à beaucoup de non réponses (question n°13).

Dans la partie résultats nous n'avons pas traité ces deux questions (question n°10b et n°13) à cause du peu d'informations fiables.

#### 4.4.2.2. Les biais :

Les biais ont comme conséquence une image différente de la réalité. Ils entraînent une déformation de la réalité [157].

##### 4.4.2.2.1. Biais d'échantillonnage :

Notre échantillon est non représentatif de la population d'étude (les vétérinaires qui font des suivis d'élevages de poules pondeuses) du fait de l'absence du tirage au sort et l'introduction dans l'échantillon d'une manière aléatoire 73 vétérinaires. Cette non représentativité est un handicap majeur pour l'interprétation et l'extrapolation des résultats.

Pour pallier ce biais nous recommandons l'élaboration d'une liste exhaustive des vétérinaires faisant les suivis d'élevages de poules pondeuses et de pratiquer le tirage au sort selon la démarche suivante :

Se rapprocher des grossistes des médicaments vétérinaires d'une région donnée, susceptibles de nous communiquer les noms des vétérinaires faisant des suivis d'élevage de poules pondeuses, de reproductrice-chair). Pour les reconnaître, on peut par exemple obtenir la liste des vétérinaires qui achètent particulièrement les vaccins spécifiques à la filière ponte (RC, RP, PP).

À partir de cette liste, tirer au sort le nombre de vétérinaires prévu (selon la méthode de la table de nombre au hasard) et aller les visiter un par un. Au cas où

ces vétérinaires désignés ne sont pas disponibles, les remplacer par une liste d'attente.

#### 4.4.2.2.2. Biais d'observation :

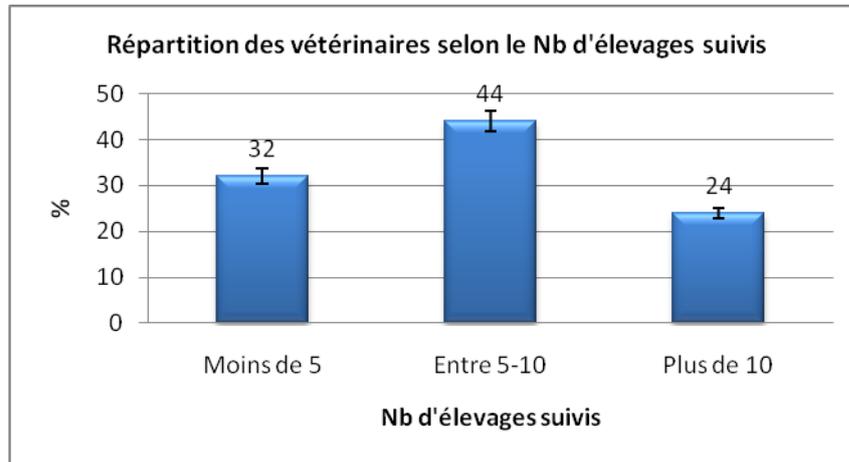
Différents facteurs peuvent provoquer des réponses erronées ou des non réponses de la part des vétérinaires interrogés.

S'agissant du questionnaire, et bien que nous avons accordé une attention particulière à son élaboration et que nous avons testé plusieurs fois, nous avons enregistré des sans réponses à certaines questions et l'impossibilité d'exploiter certaines autres. Cela pourrait être dû au nombre insuffisant des enquêteurs participant au remplissage du questionnaire (5 enquêteurs : 3 au centre, 1 à l'est, 1 à l'ouest), et à la conception de certaines questions (nous avons omis d'ajouter une case «ne sais pas» ou «non concerné» désignant l'avis neutre du vétérinaire interrogé).

Quant aux enquêteurs (en nombre de 5), ils n'ont pas reçu tous une formation commune à travers des séances de travail évolutives expliquant les objectifs de chaque question. De ce fait, nous avons remarqué une variabilité inter-enquêteur. En effet, il semblerait que l'enquêteur de l'Est a interrogé une catégorie de vétérinaires (les anciens) au dépend d'une autre (les nouveaux). Nous pensions aussi, qu'il y avait un défaut de compréhension des questions par les enquêteurs. Ce biais de sélection pourrait affecter la qualité des résultats en déviant de la réalité entre les régions d'étude. La solution serait de consacrer une séance pour former tous les enquêteurs en même temps.

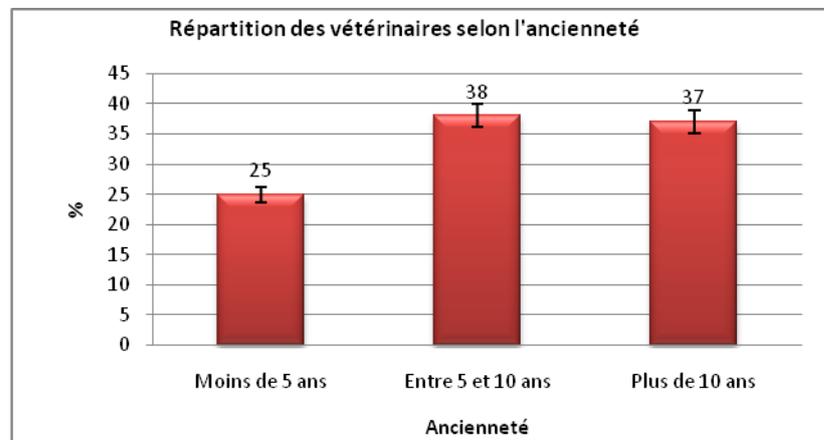
#### 4.4.2.3. Nombre d'élevages suivis et nombre d'années d'expérience :

Le degré de spécialisation des vétérinaires questionnés est relatif.  $44 \pm 5$  % des vétérinaires interrogés font des suivis entre 5 et 10 élevages, ceux qui font occasionnellement le suivi d'élevage de la poule pondeuse ( $32 \pm 5$  %), la part des vétérinaires qui font des suivis de plus de 10 élevages est ( $24 \pm 4$  %) (Figure 4.3).



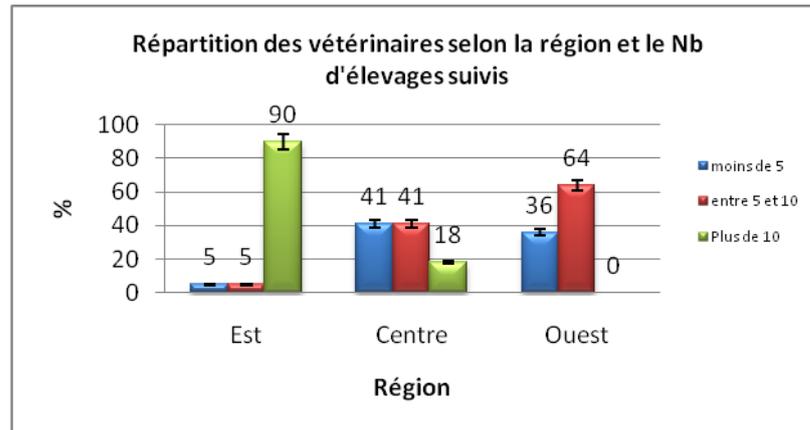
**Figure 4.3 :** Répartition des vétérinaires selon le nombre d'élevages suivis.

Nous avons remarqué que  $38 \pm 10$  % des vétérinaires interrogés ont entre 5 et 10 ans d'années d'exercice. Les anciens représentent  $37 \pm 10$  % de l'échantillon et les nouveaux  $25 \pm 9$  % (Figure 4.4).



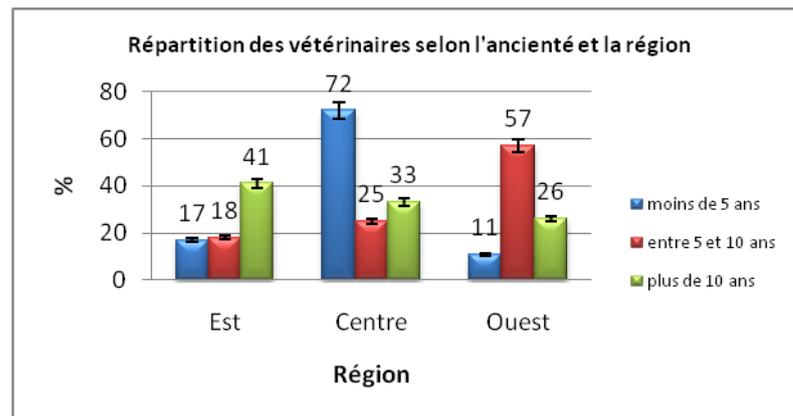
**Figure 4.4 :** Répartition des vétérinaires selon l'ancienneté.

Cette différence est tout de même régionale puisque nous avons constaté que  $90 \pm 6$  % des vétérinaires de l'Est font des suivis de plus de 10 élevages. Par contre dans l'Ouest plus de deux tiers des vétérinaires font entre 5 et 10 élevages ( $64 \pm 10$  %) et aucun d'eux n'a fait plus de 10 suivis. Dans la région centre plus de 80 % des vétérinaires font moins de 10 élevage (Figure 4.5).



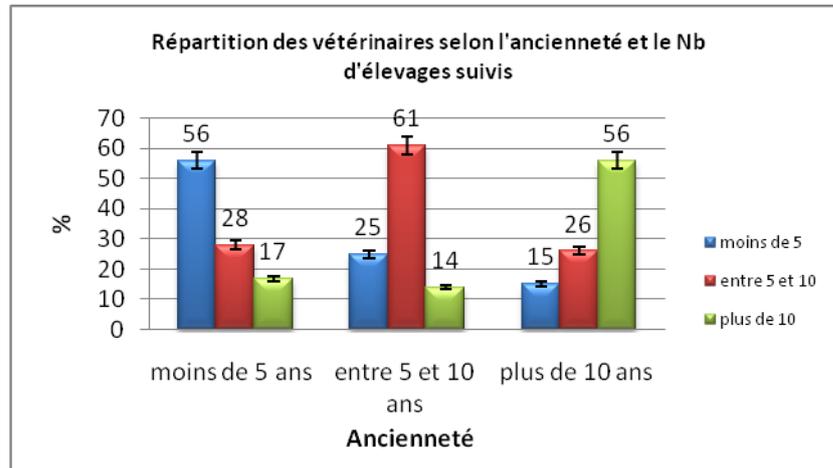
**Figure 4.5 :** Répartition des vétérinaires selon le nombre d'élevages suivis et l'ancienneté.

Le même constat est fait pour l'ancienneté des vétérinaires. Les vétérinaires de l'Est semblent être les plus anciens avec un pourcentage de  $41 \pm 10$  %. Dans la région Ouest il y a une prédominance des vétérinaires peu expérimentés avec un pourcentage de  $57 \pm 10$  % (entre 5 et 10 ans). Alors que dans la région centre se sont plutôt des jeunes vétérinaires de moins de 5 ans ( $72 \pm 9$  %) (Figure 4.6).



**Figure 4.6 :** Répartition des vétérinaires en fonction de la région d'exercice et l'ancienneté.

Nous avons remarqué, aussi, que les nouveaux vétérinaires font moins de suivis d'élevages ( $56 \pm 10$  %) par rapport aux anciens que la majorité ( $56 \pm 10$  %) suivent plus de 10 élevages (Figure 4.7). Le test statistique n'a montré aucune différence significative entre les valeurs des vétérinaires répartis en fonction de l'ancienneté et le nombre d'élevages suivis ( $P > 0.05$ ).



**Figure 4.7 :** Répartition des vétérinaires en fonction de l'ancienneté et le nombre d'élevages suivis.

Pour résumer, nous pouvons dire que sur le plan de la représentativité, il y a une hétérogénéité entre les régions :

Dans la région Est, l'échantillon semble être composé de vétérinaires pratiquant depuis plus de dix ans et étant spécialisés en aviculture (suivis de plus d'élevages de poules pondeuses).

Dans la région Ouest, ce sont en majorité (à plus de 68%) des vétérinaires exerçant depuis moins de dix ans et suivant moins d'élevages.

Dans la région Centre ce sont en majorité (à plus de 70%) des vétérinaires exerçant depuis moins de cinq ans et suivant moins de cinq élevages.

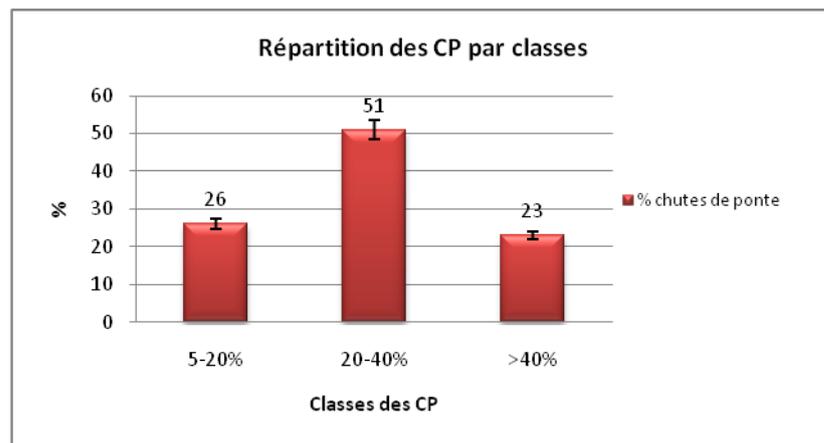
La question qui se pose est la suivante : y-a-t-il réellement des vétérinaires plus spécialisés et plus anciens dans la région Est de l'Algérie, sachant que c'est aussi une région intensive de production avicole ?

Ces résultats montrent bien qu'il pourrait y avoir un biais d'échantillonnage, dans le sens où les enquêteurs à l'Est algérien ont sélectionné consciemment ou non des vétérinaires plus anciens et plus spécialisés en aviculture. C'est une hypothèse qu'il conviendrait de vérifier.

Nous n'avons pas pris en considération la taille des élevages suivis, qui nous aurait permis de différencier les problèmes rencontrés selon les élevages industriels et traditionnels.

#### 4.4.2.4. Accidents de ponte :

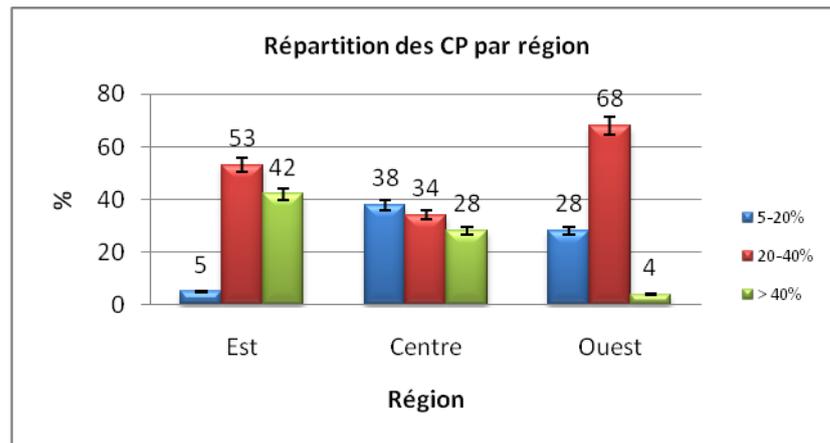
Tous les vétérinaires interrogés ont rencontré des chutes de ponte, dont la moitié ( $51 \pm 11$  %) ont répondu avoir rencontré des taux de 20 à 40 %, et le quart ont rencontré des chutes de ponte de plus 40%, ce qui pourrait correspondre à des pertes importantes sur le plan économique (Figure 4.8). Nous avons obtenu une différence hautement significative entre les différentes classes de chute de ponte ( $P < 0.05$ ).



**Figure 4.8 :** Répartition des chutes de ponte par classes.

Selon la région d'exercice,  $42 \pm 10$  % des vétérinaires de l'est ont rencontré des chutes de ponte de plus de 40%. Ceux de la région ouest ont trouvé beaucoup plus de chutes de 20-40% ( $68 \pm 10$  %). Dans la région centre il y a, plus ou moins une homogénéité entre les différentes classes de chutes de ponte (Figure 4.9).

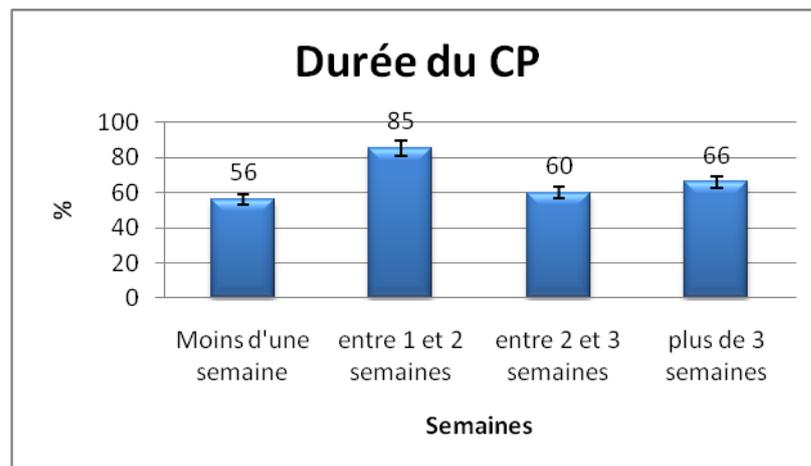
L'analyse statistique nous a permis d'enregistrer une différence significative entre les classes de chutes de ponte selon la région d'exercice des vétérinaires ( $P < 0.05$ ).



**Figure 4.9 :** Répartition des chutes de ponte par région.

#### 4.4.2.5. Durée de la chute de ponte :

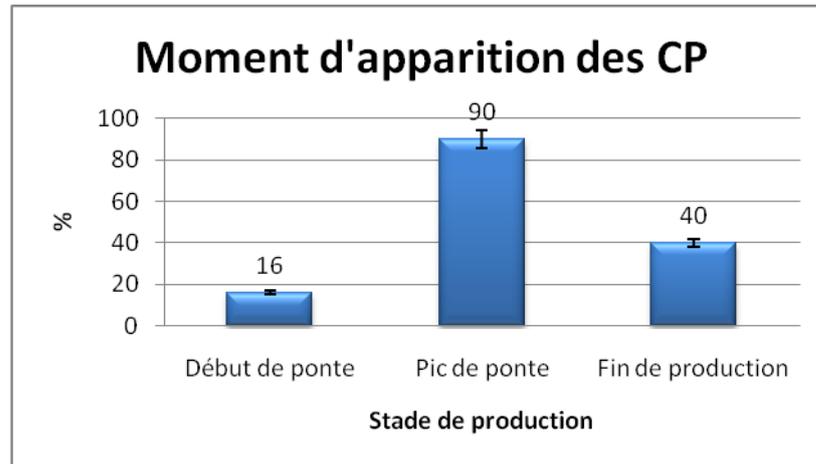
La durée des chutes de ponte observées sur le terrain est très variable. Elle est de  $85 \pm 8$  % entre 1 et 2 semaines.  $66 \pm 10$  % des vétérinaires ont répondu avoir eu des chutes de ponte qui durent plus de 3 semaines (Figure 4.10).



**Figure 4.10 :** Durée des chutes de ponte observées.

#### 4.4.2.6. Moment d'apparition de chute de ponte :

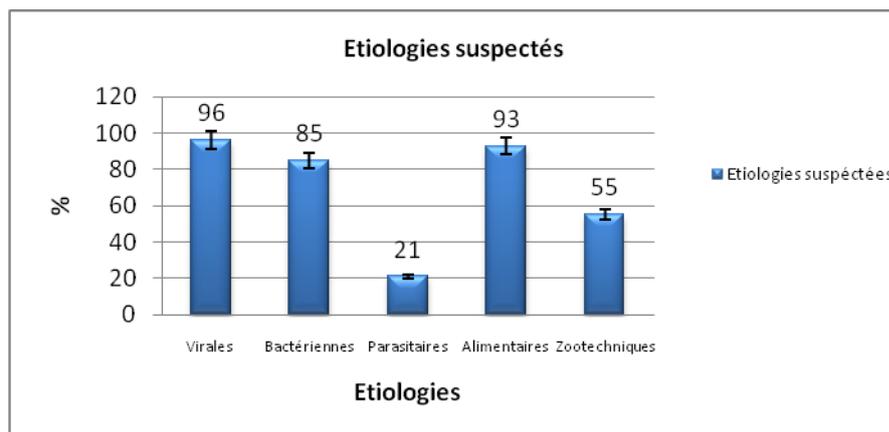
La plupart des chutes de ponte rencontrées par les vétérinaires enquêtés se manifestent aux alentours du pic de production ( $90 \pm 6$  %). Les chutes de ponte se manifestent peu à l'entrée en ponte ( $16 \pm 8$  %), et plus au moins en fin de production ( $40 \pm 10$  %) (Figure 4.11).



**Figure 4.11** : Moment d'apparition des chutes de ponte.

#### 4.4.2.7. Etiologies suspectés :

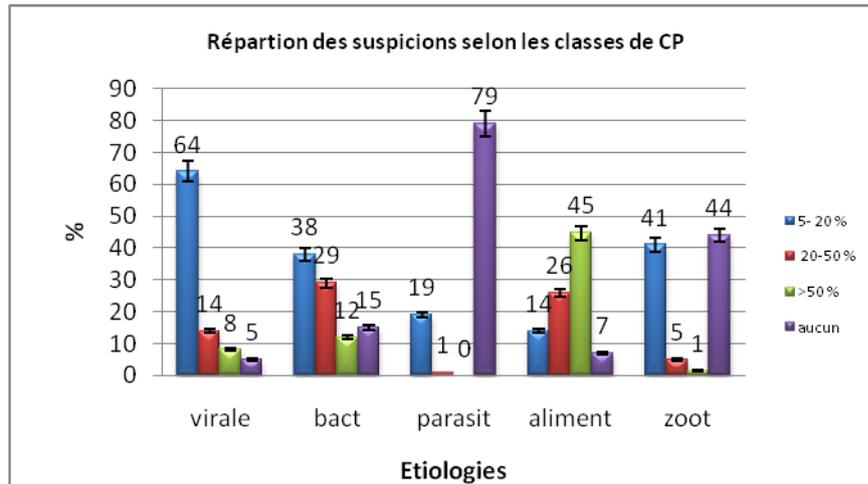
Les étiologies suspectées sont très variés ; la cause virale représente ( $96 \pm 4$  %), puis l'alimentation ( $93 \pm 5$  %) et la cause bactérienne ( $85 \pm 8$  %) et autres conditions d'élevage ( $55 \pm 11\%$ ), ce qui montre que le diagnostic de la cause d'une chute de ponte, sur le plan clinique, est très difficile voir impossible à réaliser dans certains cas (Figure 4.12).



**Figure 4.12** : Les différentes étiologies suspectées.

En ce qui concerne l'amplitude des chutes de ponte, nous avons remarqué, pour les chutes de ponte de faible pourcentage (5-20 %), que les vétérinaires impliquent beaucoup plus des causes infectieuses (virale, bactérienne, et parasitaire). Par contre, pour les chutes de ponte d'étendue assez importante

(>50 %) la suspicion était beaucoup plus alimentaire ( $45 \pm 11$  %) que infectieuse. (Figure 4.13).



**Figure 4.13** : Répartition des étiologies suspectées par classes de chute de ponte.

Quant à l'alimentation, c'est tout à fait normale qu'elle soit suspectée dans les chutes de ponte. Villat en 2001 [158], a rapporté que tous les aliments destinés aux volailles sont formulés pour couvrir tous les besoins en nutriments mais les défauts de qualité des matières premières (céréales, soja), les erreurs de fabrication, les aléas du stockage, les contaminations diverses (moisissures, mycotoxines) définissent toute une pathologie digestive nouvelle mal connue et mal maîtrisée qui induirait des problèmes de chute de ponte.

L'étiologie infectieuse spécifique (une action directe sur l'appareil reproducteur) ou non spécifique (action indirecte sur la fonction génitale) peut provoquer une chute de ponte. En effet, lors d'un affaiblissement marqué des animaux, ainsi que lors d'inflammation sévère de l'oviducte, la formation de l'œuf est altérée, voire stoppée [159].

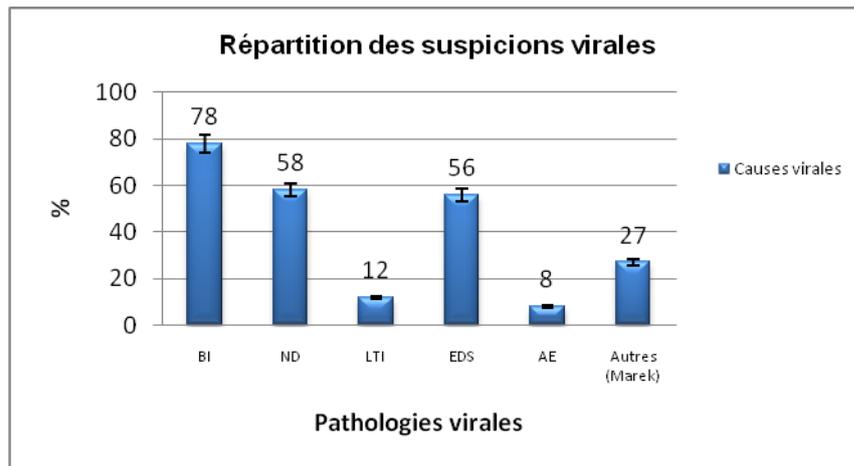
Concernant les causes zootechniques, tout stress intense peut provoquer une entrée en mue totale ou partielle du lot. Tout problème de ventilation, d'éclairage, de distribution d'aliment ou d'eau, peut donc provoquer si ce n'est une entrée en mue, tout au moins une forte diminution de la production d'œufs par le lot [159].

Du fait que les vétérinaires ont coché plusieurs réponses au même temps, cela nous amène à une conclusion que le diagnostic clinique d'un cas de chute de ponte est très difficile.

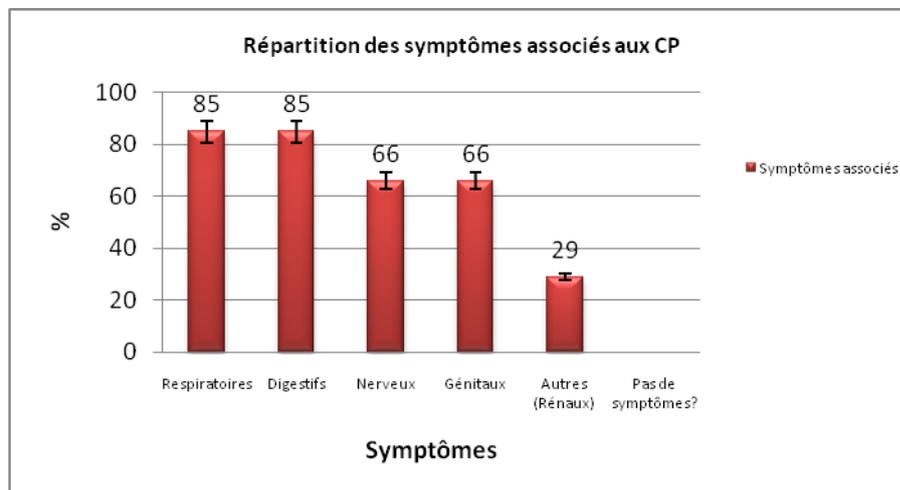
Enfin, les chutes de ponte sont multifactorielles ; en commençant par une pression infectieuse dans le bâtiment d'élevage qui s'aggrave par un stress quiconque, en passant par la diminution de la résistance de la souche (statut immunitaire faible ou absent pour certaines maladies), et en finissant par la manifestation d'une maladie infectieuse (virale, bactérienne). Cette relation est bien démontrée dans la bibliographie. En effet, Dans pratiquement tous les élevages en raison du grand nombre de poules, il se crée un climat infectieux léger (le microbisme). Jour après jour, tout au long de la saison de production, ce microbisme sape la vitalité et la résistance des pondeuses quelle que soit la valeur de la souche utilisée, diminue la ponte, entraîne même, parfois, une mortalité élevée sans cause apparente. Dans ces conditions, Il suffit que se manifeste alors un stress (agression externe) provoquant un choc physiologique pour que ce microbisme latent dégénère en une maladie infectieuse plus grave (virale, bactérienne) et entraîne une chute de ponte [160].

#### 4.4.2.8. Pathologies virales suspectées et symptômes associés :

Parmi les pathologies virales, la BI a été la plus suspectée ( $78 \pm 9 \%$ ), suivis de la ND ( $58 \pm 10 \%$ ) et de l'EDS ( $56 \pm 11 \%$ ) (Figure 4.14). Ces suspicions correspondent aux symptômes associés : respiratoires ( $85 \pm 8 \%$ ), aussi bien que digestifs ( $85 \pm 8 \%$ ), génitaux ( $66 \pm 10 \%$ ), nerveux ( $66 \pm 10 \%$ ) et rénaux ( $29 \pm 10 \%$ ) (Figure 4.15).



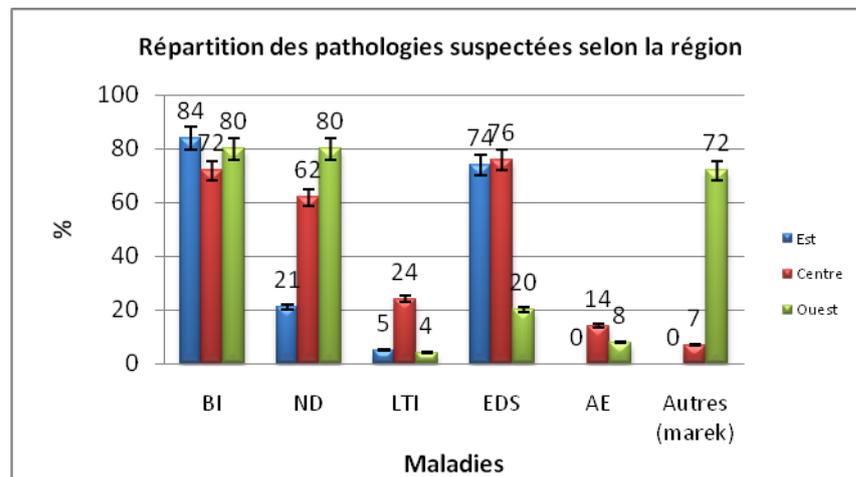
**Figure 4.14** : Répartition des suspicions des pathologies virales.



**Figure 4.15** : Répartition des symptômes associés aux chutes de ponte.

Nous avons remarqué, aussi, que dans la région est la suspicion était beaucoup plus BI + EDS ( $84 \pm 8 \%$  et  $74 \pm 9 \%$ ), dans la région centre EDS+BI+ND ( $76 \pm 9 \%$ ,  $72 \pm 9 \%$ ,  $62 \pm 10 \%$ ). Dans la région ouest, en plus de la BI et ND, les vétérinaires ont suspecté une pathologie non citée par les vétérinaires de l'est et du centre c'est la maladie du Marek ( $72 \pm 9 \%$ ) (Figure 4.16). A partir delà on peut penser que la situation sanitaire ne serait pas la même dans les différentes régions avec forte suspicion de la BI dans l'est, l'EDS au centre, et Marek dans l'ouest.

La question qui se pose : y-a-t-il réellement des situations sanitaires différentes dans les différentes régions du pays ? Ou seulement cette différence est-elle due aux aléas d'échantillonnage. D'un coté nous pensons que les enquêteurs ont questionné certaines catégories de vétérinaires plutôt que d'autres (biais d'échantillonnage). D'un autre coté, il convient d'exploiter ces différentes suspicions pour la confirmation des pathologies prés-citées dans les différentes régions.



**Figure 4.16** : Répartition des pathologies virales suspectées selon la région d'exercice des vétérinaires.

Pour la BI, les vétérinaires ont suspecté la forme rénale qui est causée par un coronavirus à tropisme rénal. Certains auteurs ont précisé qu'il pourrait s'agir d'un nouvel variant se manifestant par une atteinte rénale (néphrite, uroléthiases) [161]. Elle peut être associée à la forme respiratoire (symptômes respiratoires) [162].

Quant aux symptômes respiratoires, ils peuvent se ressembler pour plusieurs maladies virales, telles que la BI, NC, LTI, et le SIGT. Le diagnostic différentiel sur le plan clinique se base sur les associations entre les différents types de symptômes.

En effet, chez les poules pondeuses, lors du passage d'une souche virulente de ND, des signes nerveux sont souvent observés et la chute de ponte est généralement plus importante que celle observée lors d'une BI. Le SIGT peut être différencié par la présence d'un gonflement de la tête (particulièrement des

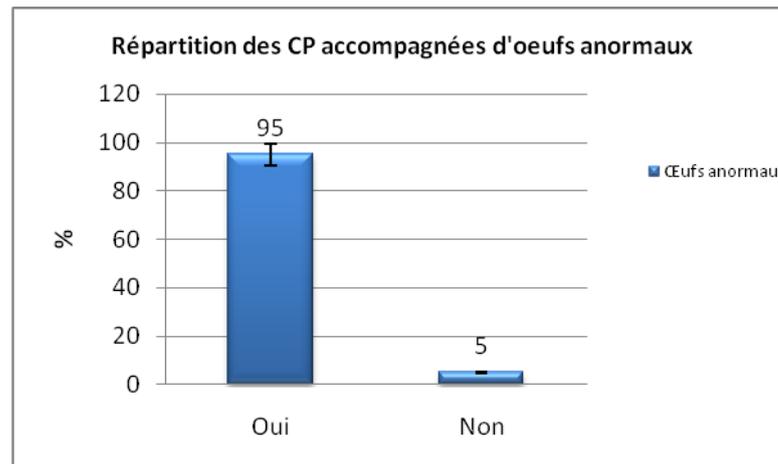
sinus infra-orbitaires), ce qui arrive rarement lors d'une BI. La LTI tend en général à se propager plus lentement au sein d'un troupeau, et les signes respiratoires peuvent être aussi importants, voire plus sévères (trachéite hémorragique), que lors d'une BI [163]. En Algérie, et malgré que la LTI n'a pas fait l'objet d'une étude sur le terrain 12 ± 7 % des vétérinaires praticiens interrogés ont suspecté cliniquement la LTI.

Quant aux symptômes digestifs, ils sont, en premier lieu, la conséquence d'une alimentation de mauvaise qualité, En effet, une alimentation carencée contenant des éléments nocifs (mycotoxines, moisissures) cause une entérite qui se manifeste par une diarrhée (syndrome de malabsorption). Ces symptômes peuvent être, aussi, la conséquence d'une surinfection bactérienne (en l'occurrence colibacillaire) d'une infection virale [158].

#### 4.4.2.9. Œufs anormaux :

Il est important de signaler que la quasi-totalité des vétérinaires (95 ± 5 %) ont rencontré des chutes de ponte accompagnées d'œufs anormaux avec ou sans signes cliniques (4.17). Beaucoup de maladies infectieuses engendrent ce type de symptômes, essentiellement le syndrome de chute de ponte (EDS), la maladie de Newcastle (ND) et la bronchite infectieuse (IB), qui sont généralement les trois pathologies les plus suspectées [164][165]. Sur le plan clinique, le diagnostic différentiel entre l'EDS et la BI, en plus des symptômes respiratoires, la qualité de l'intérieur de l'œuf (albumen) est généralement peu altérée lors d'EDS 76 [162].

En plus, Les œufs anormaux (œufs sans coquilles, coquille fragile) ne sont pas forcément liés à une maladie infectieuse de la poule, elles peuvent être la conséquence d'une alimentation de mauvaise qualité ou d'un stress quelconque [160].

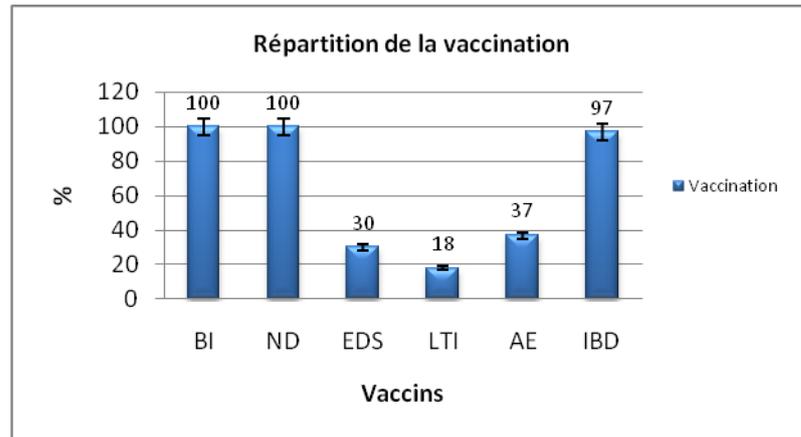


**Figure 4.17 :** Répartition des chutes de ponte accompagnées d'œufs anormaux.

#### 4.4.2.10. Vaccination :

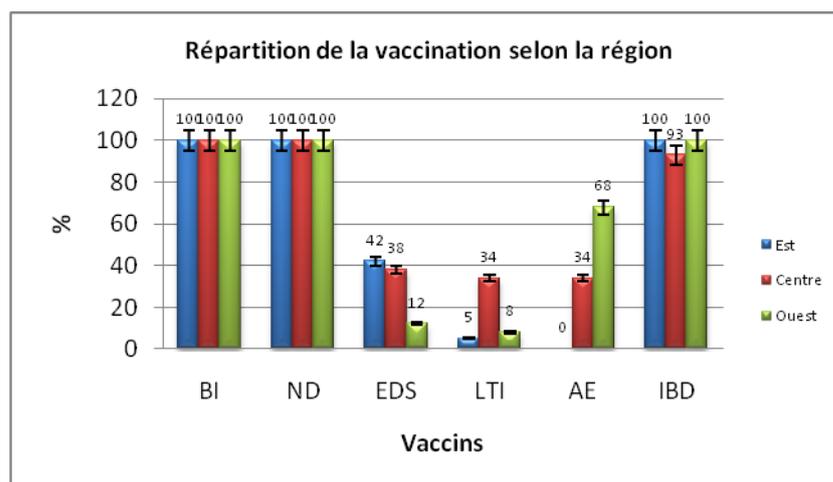
Les poulettes démarrées étaient vaccinées contre la BI et ND (100%) et IBD ( $97 \pm 3$  %). Et vaccinées occasionnellement contre EDS ( $30 \pm 10$  %) et AE ( $37 \pm 10$  %).  $18 \pm 8$  % des vétérinaires interrogés ont répondu que la poulette est vaccinée contre la LTI sachant que le vaccin n'existe pas sur le marché Algérien (pas d'AMM). Ces résultats ne semblent pas varier en fonction de l'ancienneté des vétérinaires. En revanche, ils sont variés en fonction de la région ;  $34 \pm 10\%$  des vétérinaires de centre (qui sont en majorité des nouveaux et suivant moins de 5 élevages) ont répondu avoir vacciné contre la LTI. Ces vétérinaires ont donc répondu à côté du sujet. Soit ils n'avaient pas le temps de réfléchir, soit ils ne maîtrisent pas le sujet. Une autre hypothèse, nous pensons que les vétérinaires ont confondu entre la LTI et la RTI (Rhinotrachéite Infectieuse) ; deux pathologies qui se ressemblent sur le plan clinique (deux maladies respiratoires) et la différence c'est que la LTI se manifeste par une expectoration du sang en nature et la RTI par le gonflement de la tête. En plus, la RTI est une maladie propre aux dindes, son agent étiologique possède un lien de parenté avec celui de SIGT qui touche les poulets (reproductrice-chair, poulet de chair).

Il est important de signaler aussi, que le vaccin contre la RTI disponible sur le marché Algérien est destiné pour l'immunisation des dindes (la poule pondeuse n'est pas concernée).



**Figure 4.18** : Répartition de la vaccination contre les pathologies virales de la poule pondeuse.

La couverture vaccinale réalisée correspond pratiquement au calendrier de la vaccination arrêté par les autorités sanitaires pour l'espèce (selon l'arrêté ministériel du 27/03/1995 définissant les mesures générales en élevage avicole (Newcastle, Gumboro, Bronchite infectieuse) [166]. Par contre, pour les autres maladies virales (EDS, LTI, AE), la vaccination est sensiblement différente selon les régions d'exercice ( $P < 0.05$ ) (Figure 4.19).



**Figure 4.19** : Répartition de la vaccination selon la région.

Malgré la vaccination contre la BI dans tous les élevages, elle reste la première maladie suspectée sur le terrain. Cela nous amène, à vrai dire, à recommander de mener des enquêtes sur le terrain pour les différentes souches virales circulantes dans nos élevages. Par la suite, réadapter le programme

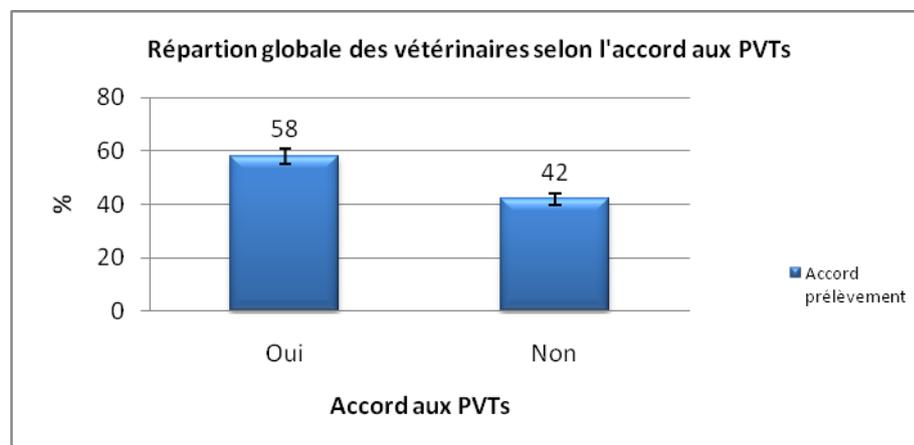
vaccinal contre la BI en tenant compte les différents sérotypes circulant dans l'environnement de l'élevage (souche Massachussetts, variant de BI).

Dans ce sens, une enquête sérologique portant sur l'évaluation de l'efficacité des souches vaccinales contre un variant de la bronchite infectieuse aviaire au Québec a montré l'absence d'une immunité croisée entre les différents sérotypes [163]. Ainsi, Ledoux en 2008 [161] a rapporté, dans une étude menée de 2002 à 2007 évaluant les souches de BI et leurs impacts sur l'efficacité des vaccins, de nombreux variants qui font régulièrement leur apparition dans les élevages.

S'il n'est pas envisageable d'avoir, pour chaque nouvelle souche sauvage, des vaccins homologues, il est en revanche possible de trouver des associations vaccinales permettant d'apporter une protection satisfaisante, dans la mesure où un nombre suffisant de souches vaccinales est disponible sur le marché [161].

#### 4.4.2.11. Accord aux prélèvements :

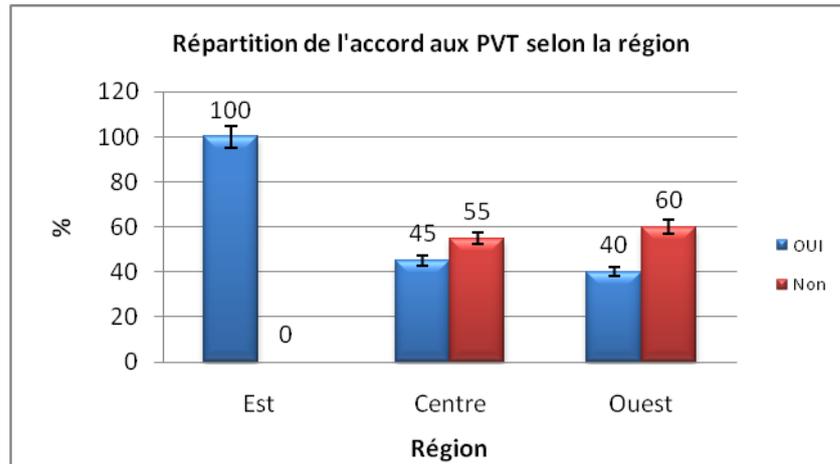
Seulement la moitié des vétérinaires interrogés ( $58 \pm 10\%$ ) ont donné leur accord pour nous signaler des chutes de ponte, La majorité sont ceux qui ont plus de 10 ans ( $81 \pm 8\%$ ) (Figure 4.20). Cela, pourrait être dû à la méfiance des jeunes vétérinaires vis-à-vis de leurs clients.



**Figure 4.20 :** Répartition des vétérinaires selon l'accord aux prélèvements.

Nous avons enregistré l'accord de tous les vétérinaires de l'est. Les refus étaient tous dans le centre et l'ouest (Figure 4.21). Cela pourrait être dû à un biais

de sélection des vétérinaires les plus anciens et les plus motivés dans la région de l'est.



**Figure 4.21 :** Répartition de l'accord aux prélèvements selon la région d'exercice des vétérinaires.

#### 4.4.3. Conclusion :

A travers les réponses des vétérinaires interrogés il s'avère que le phénomène de chute de ponte est très fréquent. Il est associé dans la quasi-totalité des cas à des œufs anormaux quoiqu'ils ne soient pas toujours synonymes d'une infection. La diversité des symptômes associés aux chutes de ponte et la multiplicité des pathologies suspectées annonce des chutes de ponte multifactorielles d'où la nécessité de l'aide du laboratoire dans la confirmation et la différenciation de ces suspicions cliniques.

#### 4.5. Deuxième partie : Etude sérologique

L'étude sérologique vise à rechercher la présence de l'agent pathogène VLTI pouvant être à l'origine de chutes de ponte sur des prélèvements sanguins issus de troupeaux présentant une chute de ponte.

##### 4.5.1. Matériel et méthodes :

L'étude sérologique consiste en la quantification des titres d'anticorps sériques anti-VLTI grâce à la méthode ELISA.

##### 4.5.1.1. Choix des élevages :

Pour mettre en évidence une éventuelle circulation virale du VLTI les vétérinaires ayant répondu au questionnaire, ayant repéré des élevages suspects et désireux de participer à l'étude. Ils nous emmèneront pour effectuer des prélèvements sanguins et remplir la fiche technique (En annexe D).

Quant à la réalisation des prélèvements, ils seront effectués sur tous les élevages suspects, généralement désignés par les vétérinaires sentinelles. (Les cas de suspicion correspondent à la définition établie en ci-dessous).

##### 4.5.1.2. Définition de cas :

Nous considérons comme une chute de ponte toute diminution d'au moins 5% de la production réelle d'un troupeau de pondeuses, se traduisant sur la courbe de ponte par un accident sensible du tracé.

##### 4.5.1.3. Population d'étude :

La base de sondage concerne tous les élevages de poules pondeuses remplissant les critères suivants :

Les critères d'inclusion :

- Elevage de poules pondeuses
- Présentant une chute de ponte d'au moins de 5 %.

- Suspicion virale.

#### 4.5.1.4. Taille de l'échantillon :

La taille de l'échantillon est de 15 élevages de poules pondeuses de capacité allant de 4800 à 130 000 poules, répartis sur le territoire national (Est, Centre, Ouest).

#### 4.5.1.5. Unité épidémiologique :

L'unité épidémiologique d'importance capitale pour connaître la situation épidémiologique d'une maladie animale et pour décider les mesures de lutte à prendre, est le troupeau.

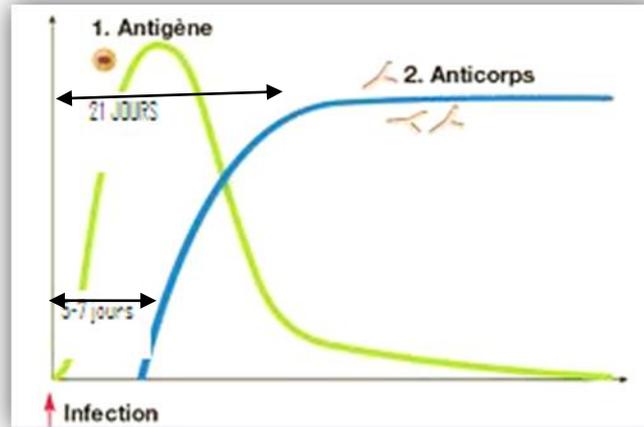
Dans notre étude, nous allons exprimer les résultats en fonction du troupeau.

#### 4.5.1.6. Protocole de prélèvements :

Après le signalement d'un cas de chute de ponte par l'un des vétérinaires sentinelles, nous nous sommes déplacés dans un délai de 1-2 jours pour effectuer la première série de prélèvements et remplir la fiche technique (Annexe D).

Quant au protocole de prélèvement, pour chaque élevage, nous avons fait deux séries de prélèvements, une dite "prélèvement précoce" faite dès le début de la chute de ponte, 1 à 2 jours au maximum, et l'autre tardive se fera 2-3 semaines après le début de la chute de ponte (pour mettre en évidence une éventuel séroconversion) (Figure 4.22).

Dès l'arrivée à l'élevage, à l'intérieur du bâtiment suspect nous avons sélectionné les endroits où il y a plus de chute de ponte pour prendre 15 sérums tirés au sort. D'une manière générale, le nombre de sang prélevé en vue d'un examen sérologique est de 20 (tenir compte de la disparité de la réaction immunologique des individus). En aucun cas, le laboratoire ne peut accepter un échantillon de moins de 10 sérums.



**Figure 4.22** : Réponse immunitaire de la poule lors d'une infection.

#### 4.5.1.7. Description de la méthode de prélèvement :

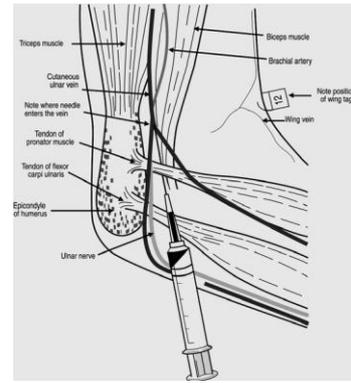
On demande à un aide de tenir le poulet horizontalement sur son dos. Il utilise une main pour tenir les pattes et l'autre main pour ouvrir l'aile. On tire l'aile de la poule pour rendre la veine alaire visible entre le biceps et le triceps, elle forme à ce niveau une bifurcation en V. on enlève toutes les petites plumes qui obscurcissent la veine puis on désinfecte autour de l'emplacement de la saignée avec de l'alcool (concentré à 70 %). On insère l'aiguille sous le tendon et on la dirige dans la veine alaire dans la direction de l'écoulement du sang. Une fois le bout de l'aiguille dans la veine, on tire doucement le plongeur de la seringue. Le sang coulera dans la seringue. Si le sang ne coule pas, on libère le plongeur et on fait un ajustement très léger pour replacer la fin de l'aiguille. Si un hématome se forme, on essaye de saigner de l'autre aile. Après enlèvement de l'aiguille, on applique la pression à la veine pendant quelques secondes pour arrêter la saignée.



Façon de tenir la poule



La veine alaire



Endroit de prélèvement

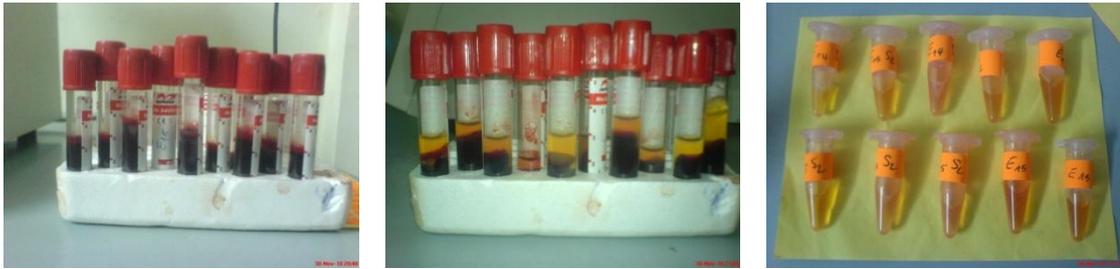
**Figure 4.23** : Technique de prélèvement (photos personnelles).

#### 4.5.1.8. Stockage et transport des prélèvements :

Une fois les prélèvements sanguins effectués dans des tubes secs (environ 3 ml/poule afin de pouvoir exécuter les différentes analyses à partir du même sérum), Les tubes sont inclinés immédiatement. Le numéro de bande et de la série de prélèvement sont inscrits sur chaque tube. Les tubes sont rapidement déposés dans la glacière contenant en permanence de la glace.

De retour au laboratoire, les prélèvements sont stockés verticalement dans la glacière. Les tubes sont laissés à température ambiante pendant 1 à 2 heures avant le prélèvement du sérum réalisé grâce à une micropipette avec des embouts chargeables. Si le sérum ne se décante pas on effectue la centrifugation (5000 Tours/mn pendant 10 mn). Les sérums ont été stockés au congélateur, dans des tubes Eppendorf référencés.

Une fois le nombre de sérums prévus atteint (450 Sérums), les prélèvements sont transportés au laboratoire privé (*VET-LAB*) sous chaîne de froid.



Sang avant  
centrifugation

sang après  
centrifugation

sérum dans des  
Eppendorf référencés

**Figure 4.24** : Les étapes de décantation du sérum (photos personnelles).

#### 4.5.1.9. Réalisation de la lecture (tests ELISA):

Les sérums sont décongelés en étant placés dans un réfrigérateur (4°C) la veille de la réalisation de l'ELISA.

Le kit commercial ELISA utilisé est le kit *Biochek ILT*. La procédure de la notice a été suivie (voir annexe).

Les mesures ont été faites par un spectrophotomètre PRO LABO ELX 80 muni d'un filtre à 405 nm. Les tests de validité et le calcul des titres (voir annexe) ont été réalisés grâce au logiciel EXCEL, ainsi que le calcul des titres moyens, du coefficient de variation (par élevage et par série de prélèvement).

Les tests de validité ont été réalisés pour chaque plaque ELISA analysée. Le test est validé si la moyenne des densités optiques (DO) des témoins positifs (TP) est supérieure de 4 fois la moyenne des densités optiques (DO) des témoins négatifs (TN) et que la moyenne des DO des témoins positifs est supérieure à 0,5.

La formule du facteur S/P (sample/positive) permet d'évaluer la densité optique de l'échantillon par rapport à celle de la densité des positifs en éliminant la part de densité non spécifique :

$$S/P = (DO \text{ Ech} - DOm \text{ CN}) / (DOm \text{ CP} - DOm \text{ CN}).$$

$$\text{Log}_{10} \text{ Titre} = 1,10 \times \text{Log}_{10} S/P + 3,361$$

$$\text{Titre} = \text{Antilog} (\text{Log}_{10} \text{ Titre})$$

Les deux séries de prélèvements par élevage permettent d'obtenir la cinétique des anticorps anti-VLTI sur la durée de l'épisode clinique (la chute de ponte).

#### 4.5.1.10. Interprétation des résultats :

Après le calcul des titres d'anticorps des différents échantillons on procède à l'interprétation de ces résultats, les critères d'interprétation sont résumés dans le tableau suivant.

**Tableau 4.4 :** Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur **ELISA**.

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire LTI
$\leq 0.499$	$\leq 1070$	Négatif
$\geq 0.5$	$\geq 1071$	Positif

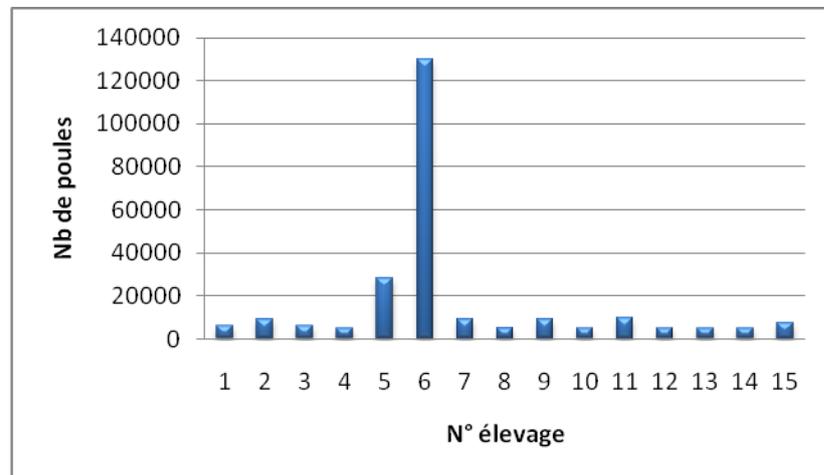
#### 4.5.2. Résultats :

##### 4.5.2.1. Description de la fiche signalétique :

Le tableau présenté en «Annexe F» regroupe les caractéristiques des élevages rentrant dans le cadre des prélèvements sérologiques. Il englobe des informations d'ordre général (capacité, origine des poules, souches, programme vaccinal, taux de production avant accident), des renseignements sur l'accident de ponte (âge, durée, pourcentage de chute) et des informations sur l'aspect clinique des chutes de ponte (symptômes, lésions, aspects des œufs, suspicion du vétérinaire).

#### 4.5.2.1.1. Caractéristiques des élevages :

La capacité des élevages visités allant de 4800 poules (petits élevages) à 130000 poules (un élevage industriel) avec une moyenne de 15000 poules/élevage. Tous ces élevages appartiennent au secteur privé.

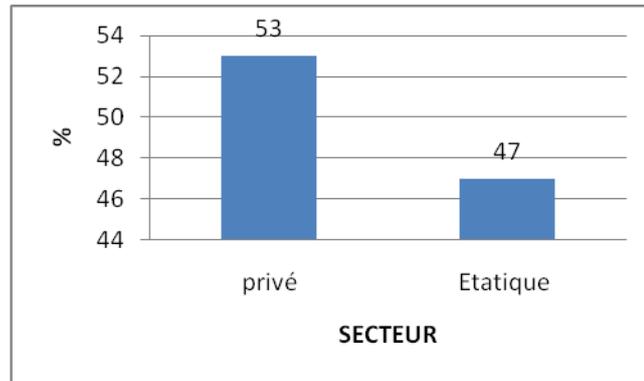


**Figure 4.25 :** Capacité des élevages visités.



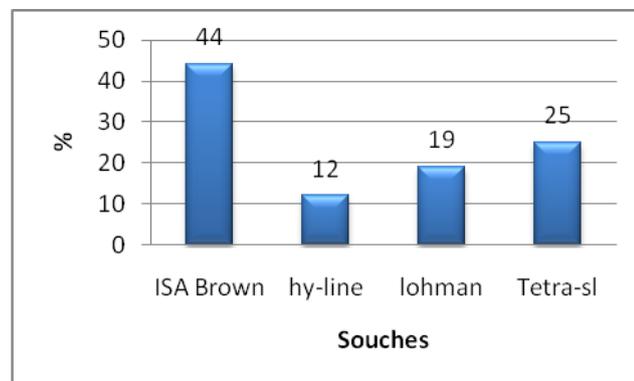
**Figure 4.26 :** Types de bâtiments de pouleuse des élevages visités (photos personnelles).

La moitié (soit 53%) des poules sont fournis par les privés. Le secteur étatique représenté par l'ORAC, ORAVIO, ORAVIE ne fournit que 47 % de la poulette démarrée.



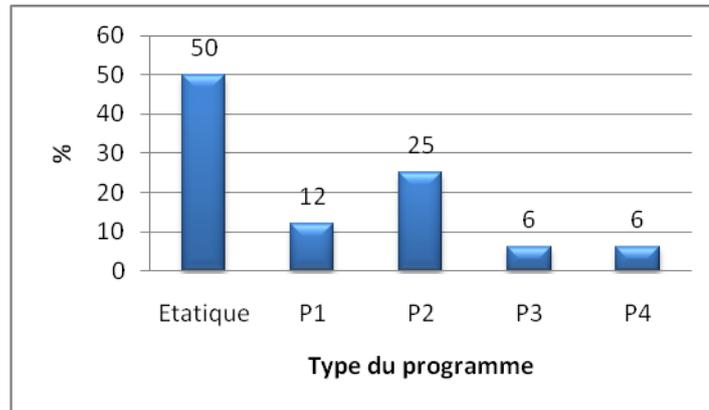
**Figure 4.27** : Origine des poules pondeuses.

Les différentes souches élevées en Algérie sont : ISA Brown, Tetra-SL, Lohman, Hy-line. Il s'avère que l'ISA Brown est la plus élevée (44%).



**Figure 4.28** : Différentes souches de pondeuse dans les élevages visités.

La couverture vaccinale est complète pour la BI, Marek, IBD, ND, Variole quelque soit le type du programme suivi (étatique ou privé). Pour les autres maladies, la vaccination est occasionnelle (EDS, AE, SIGT). La vaccination contre la LTI n'est pas pratiquée.



**Etatique** : Marek,ND, BI, IBD, Variole. **P1** : Marek,ND, BI, IBD, Variole, AE, SIGT. **P2** : Marek,ND, BI, IBD, Variole, EDS. **P3** : Marek,ND, BI, IBD, Variole, AE. **P4** : Marek,ND, BI, IBD, Variole, EDS,AE.

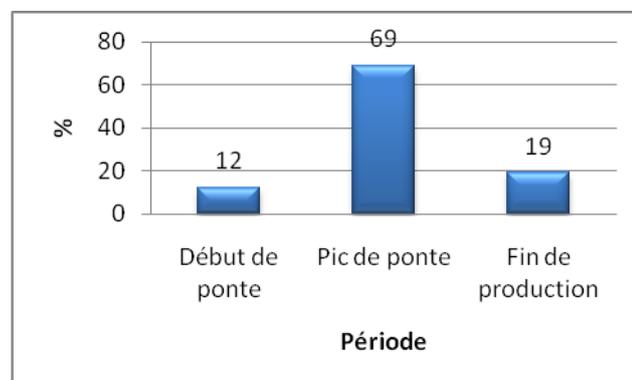
**Figure 4.29** : Les différents programmes vaccinaux dans les élevages visités.

#### 4.5.2.1.2. Taux de ponte des élevages visités :

Les taux de ponte enregistrés dans les élevages prélevés varient de 73% au début de ponte à 85% au pic. En fin de production les taux ne dépassent pas les 73%.

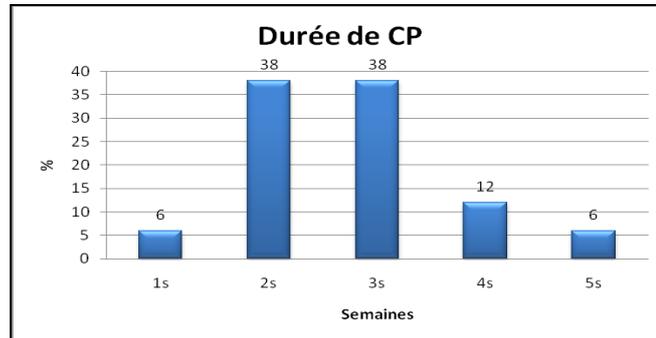
#### 4.5.2.1.3. Accident de ponte :

Les informations enregistrées sur le moment d'apparition des chutes de ponte montrent que près de 70 % de celles-ci apparaissent au pic de ponte et seulement 19% en fin de production et 12% au début de ponte.



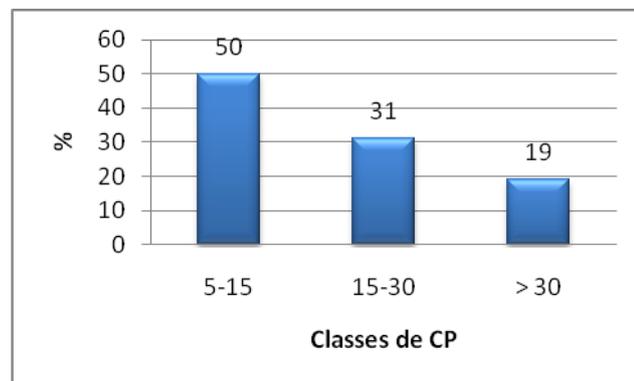
**Figure 4.30** : Moment d'apparition des chutes de ponte.

La durée des chutes de ponte est 2-3 semaines dans 76 % des cas. Elle est de 4 semaines ou plus dans 18% des élevages et 1 semaine seulement dans 6% des cas.



**Figure 4.31** : Durée des chutes de ponte.

En ce qui concerne le taux de chute de ponte il était de 5-15% dans 50 % des élevages visités.



**Figure 4.32** : Pourcentages des chutes de ponte.

Les chutes de ponte signalées étaient toutes accompagnées de la ponte d'œufs anormaux (100%). La description de ces œufs est très variable allant d'une simple modification de calibre (Œufs de petite taille) et de couleur (Œufs blanches) à une modification de la consistance des coquilles (Œufs fragiles) ou carrément sa disparition (œufs sans coquilles).



Œufs de petite taille



Œufs décolorées



Œufs fragiles



Œufs sans coquilles

**Figure 4.33** : Aspect des œufs rencontrés lors des chutes de pontes (photos personnelles).

#### 4.5.2.1.4. Aspect clinique des chutes de ponte :

L'aspect clinique des élevages présentant une chute de ponte est très polymorphe allant de l'absence de toute manifestation clinique (33 %) jusqu'à la petite émission des fientes liquides, atteinte respiratoire (œdème infraorbitaire, conjonctivite, trachéite modérée, pneumonie) ou de l'appareil rénal (lésions de néphrite à différents stades évolutifs) (67 %).

Les symptômes respiratoires constatés ressemblent à ceux décrits pour la LTI (la forme modérée qui touche la poule).



Larmoiement



Conjonctivite



Jetage nasale

**Figure 4.34** : Symptômes observés chez les poules pondeuses.



Trachéite



Dépôt de fibrine sur le foie

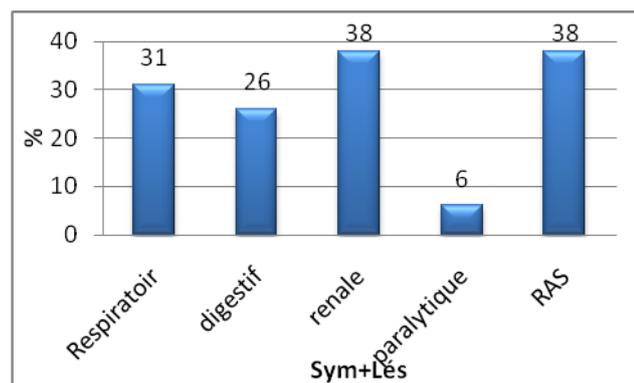


Dilatation des uretères



Hypertrophie rénale

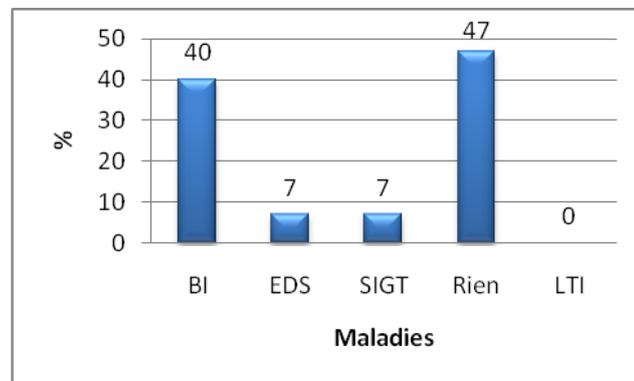
**Figure 4.35** : Lésions observées chez les poules pondeuses (photos personnelles).



**Figure 4.36** : Aspect anatomo-clinique des chutes de ponte.

#### 4.5.2.1.5. Suspensions des vétérinaires :

Dans 40% des élevages, les vétérinaires ont suspecté la BI, aucune suspicion de la LTI malgré la présence de symptômes similaires. Nous avons constaté aussi que 47% des vétérinaires n'arrivaient plus à poser leur diagnostic se basant sur le tableau clinique et les commémoratifs.



**Figure 4.37 :** Suspensions des causes de chute de ponte.

#### 4.5.2.2. Résultats des analyses sérologiques :

Cette enquête sérologique à été réalisée de Mars 2010 à Décembre 2010. De point de vue sérologique, cette enquête a donné les premières réponses sur l'infection des élevages de poules pondeuses en Algérie par le virus de la LTI.

Au total 452 sérums prélevés de 15 élevages de poules pondeuses ont été envoyés au laboratoire, 5 sérums du deuxième élevage ont été exclus de l'étude parce qu'ils étaient hémolysés, la présence d'hémoglobine dans le sérum pouvant interférer avec les réactions sérologiques. Ce sont donc 447 sérums qui ont finalement été utilisés pour l'étude sérologique.

Tous les tests de validité ont été positifs. On retrouve en « annexe G » les calculs des titres par élevage, avec les moyennes, les maximums, les minimums et les coefficients de variation par série de Prélèvement et par élevage.

Le tableau suivant représente les titres individuels des élevages séro-négatifs pour la LTI.

**Tableau 4.5 : Titres individuels des élevages séro-négatifs pour la LTI.**

Elevage 6		Elevage 8		Elevage 9		Elevage 12		Elevage 13		Elevage 15	
Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2
180	252	237	250	406	933	156	70	900	155	102	176
203	227	526	137	473	378	382	274	254	123	155	344
203	252	555	378	378	352	342	131	963	900	231	300
100	180	223	78	445	237	799	156	300	199	188	266
215	252	378	174	432	458	260	382	460	300	83	221
300	57	365	393	651	199	410	209	310	367	277	333
203	300	365	513	365	199	<b>1297</b>	209	391	889	211	176
656	123	340	327	445	314	1	739	402	300	629	402
<b>1168</b>	156	262	419	595	393	1022	168	642	145	199	323
735	287	262	89	406	162	710	143	544	176	211	498
89	156	406	186	174	45	248	209	425	287	254	415
680	168	513	314	352	352	194	314	838	231	176	231
100	252	199	419	199	393	696	753	344	243	254	166
551	935	638	102	1050	608	260	233	533	323	266	176
840	112	102	114	458	327	260	274	357	520	7	425

Les élevages n° 8, 9, 13, et 15 sont négatifs pour l'ELISA, ils ne contiennent aucun sérum positif.

Les élevages n° 6 et 12 présentent un seul sérum positif dans la première série de prise de sang (1168 et 1297 titre respectivement). On les considère aussi comme négatifs.

Le nombre d'élevages séro-négatifs pour la LTI est donc de six (40%).

Le tableau suivant représente les titres individuels des élevages séro-positifs pour la LTI.



Les élevages n° 1, 2, 3, et 7 sont positifs au test ELISA. Ils présentent une séroconversion positive dans les deux séries de prise de sang.

L'élevage n° 4 présente 5 sérums positifs à la première série de prise de sang et 3 sérums positifs à la deuxième série

Les élevages n° 5 et 11 ne contiennent aucun sérum positif à la première série mais 4 et 5 sérums positifs respectivement à la deuxième série de prise de sang.

Les élevages n° 10 et 14 regroupent des sérums positifs dans les deux séries de prise de sang (7 et 6 sérums dans la première série, 1 et 4 sérums dans la deuxième série respectivement).

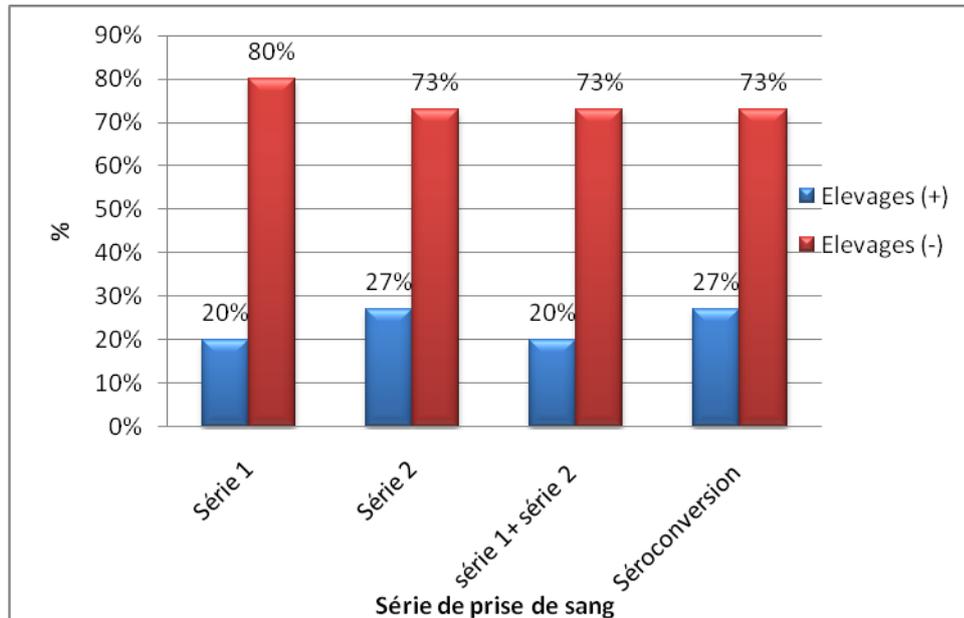
On considère les élevages n° 4, 5, 10, 11, et 14 séro-positifs pour la LTI quoiqu'ils ne présentent pas une séroconversion positive.

Le nombre d'élevages séro-positifs pour la LTI est donc de neuf (60%). Le tableau suivant montre une synthèse de nombre d'élevages positifs et négatifs par série de prise de sang.

**Tableau 4.7 :** Récapitulatif des élevages séro-positifs et séro-négatifs pour la LTI par série de prise de sang.

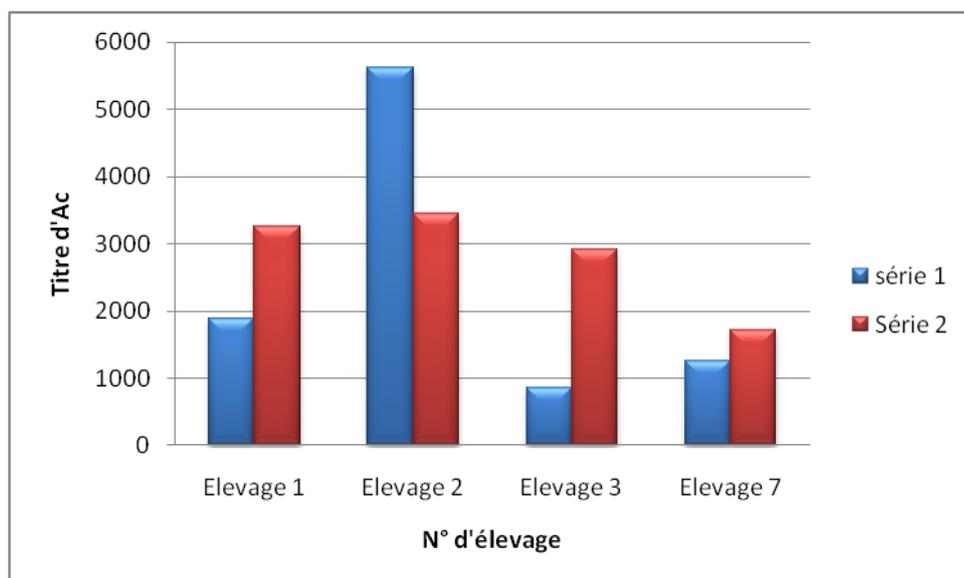
	Elevages (+)	Elevages (-)
Série 1	3 (20 %)	12 (80 %)
Série 2	4 (27 %)	11 (73 %)
Série 1+Série 2	3 (20 %)	11 (73 %)
Séroconversion	4 (27 %)	11 (73 %)

Les résultats sérologiques obtenus sur la première série de prélèvement révèlent 20 % des élevages positifs à la LTI. Ce pourcentage tend à augmenter à 27 % lors de la seconde série de prise de sang. Ces élevages sont ceux qui ont présenté des séroconversions positives (27%) (Figure 4.38).



**Figure 4.38** : Représentation graphique des élevages séropositifs et séronégatifs pour la LTI.

On constate sur les lots séroconversions positifs, une augmentation de la moyenne des titres d'Ac dans trois élevages (élevage n° 1, 3, et 7) lors de la deuxième série de prise de sang et le déclin dans un seul élevage (élevage n° 2) (Figure 4.39).



**Figure 4.39** : Représentation graphique des séroconversions positives.

Dans notre étude, La séro-positivité des élevages de poules pondeuses pour la LTI varie en fonction de plusieurs paramètres :

On se basant sur la région, la séro-positivité des élevages est presque identique dans les trois régions d'étude (Régions est, centre, ouest). Le nombre d'élevages séro-positifs le plus élevé est enregistré dans la région centre (6 élevages) (Tableau4.8).

**Tableau 4.8** : Séro-positivité de la LTI dans les différentes régions d'étude.

Localisation	Totale des élevages	Elevages séro-positifs	Elevages séro-négatifs	% des élevages séro-positifs
Est	2	2	0	100
Centre	11	6	5	55
Ouest	2	1	1	50
<b>Totale</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>60</b>

En fonction de la durée de chute de ponte, les élevages sont divisés en quatre groupes. La séro-positivité maximale (100%) est trouvée dans le second (1-2 semaines) et le quatrième groupe (plus de 3 semaines) (Tableau 4.9).

**Tableau 4.9** : Séro-positivité de la LTI selon la durée de chute de ponte.

Durée	Totale des élevages	Elevages séro-positifs	Elevages séro-négatifs	% des élevages séropositifs
1 semaine	1	0	1	00
1-2 semaines	5	5	0	100
2-3 semaines	6	1	5	17
Plus de 3 semaines	3	3	0	100
<b>Totale</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>60</b>

La séro-positivité varie aussi en fonction de l'intensité des chutes de ponte, elle est de 50 % dans les chutes de ponte modérée (5-15%) et 71 % dans les cas qui dépassent les 15 % de chute (Tableau 4.10).

**Tableau 4.10** : Séro-positivité de la LTI selon le pourcentage de chute de ponte.

<b>% de chute de ponte</b>	<b>Totale des élevages</b>	<b>Elevages séropositifs</b>	<b>Elevages séronégatifs</b>	<b>% des élevages séropositifs</b>
5-15 %	8	4	4	50
> 15 %	7	5	2	71
<b>Totale</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>60</b>

L'aspect clinique des élevages séro-positifs pour la LTI est très variable, il est asymptomatique dans 100 % des cas. Dans les autres élevages séro-positifs (40%) les symptômes varient d'une atteinte respiratoire modérée comportant des conjonctivites, décharge nasale, œdème infraorbitaire, trachéite...à une atteinte rénale (néphrite, urolithiase) (Tableau 4.11).

**Tableau 4.11** : Séro-positivité de la LTI selon l'aspect clinique des élevages.

<b>Symptômes+lésions</b>	<b>Totale des élevages</b>	<b>Elevages séropositifs</b>	<b>Elevages séronégatifs</b>	<b>%des élevages séropositifs</b>
Avec symptômes clinique	10	4	6	40
Asymptomatique	5	5	0	100
<b>Totale</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>60</b>

### 4.5.3. Discussion :

#### 4.5.3.1. Justification du choix du test ELISA :

Pour le diagnostic de la LTI, l'assistance du laboratoire est recommandée du fait des signes cliniques et lésionnels similaires avec d'autres pathologies respiratoires des volailles. Parmi les tests de laboratoire, la sérologie est maintenant largement répandue pour mesurer les anticorps de la LTI [3]. Le premier test sérologique utilisé pour la détection des anticorps de la LTI est le test de précipitation en gel d'agar [139], Il est maintenant considéré incertain [140][141]. Il y a aussi, la séroneutralisation (SN) un test très fiable, précis et adapté aux mesures quantitatives mais il s'est avéré long ce qui restreint son utilisation [91]. Dans ces conditions et pour le criblage de masse de sérums, nous avons choisi l'ELISA qui s'est avéré le test sérologique le plus pratique, simple à exécuter, rapide, et nécessite seulement très peu de sérum [142].

#### 4.5.3.2. Echantillonnage :

L'échantillon constitué à l'aide des vétérinaires praticiens s'occupant de poules pondeuses est un échantillon non représentatif de l'ensemble des élevages de poules pondeuses puisque les vétérinaires ont été choisis selon leurs accords aux prélèvements et les critères de choix des élevages ont été suggérés.

Nous avons pu prélever dans 15 élevages de poules pondeuses à travers le territoire national. En effet, nous étions limités par les moyens financiers (nous avons disposé de 5 kits ELISA de 96 puits chacun), et la période d'étude (1 année).

La majorité des élevages prélevés se situent au centre algérien (11 élevages), seulement deux à l'est et deux à l'ouest sachant que l'est algérien représente le pôle d'élevage de la poule pondeuse. Il y a donc une hétérogénéité inter-régions qui pourrait s'expliquer par l'effet enquêteur, les résultats obtenus ne sont qu'une variabilité inter-enquêteur due à un défaut de compréhension de la dernière question concernant l'accord aux prélèvements sérologiques.

Le nombre d'individus prélevés par série est faible (15 poules par élevage). On aurait dû fixer le nombre de poules à prélever en tenant compte de la morbidité et de la taille de l'élevage.

Les résultats de cette étude ne sont donc pas extrapolables à l'ensemble des élevages et ne s'appliquent qu'aux élevages constituant notre échantillon.

La méthode de travail a été choisie en fonction de nombreuses contraintes (matérielles, temporelles) et de nombreux points auraient pu être améliorés. Notamment en ce qui concerne la représentativité et l'exactitude de l'échantillon.

Pour assurer des résultats représentatifs et exactes on aurait du tirer au sort un nombre suffisant des élevages présentant une chute de ponte à partir de la population cible qui est les élevages de poules pondeuses présentant une chute de ponte, et comme nous n'avons pas des informations sur la taille de cette population on propose d'aborder ce sujet de la manière suivante : Tout d'abord on doit travailler dans une région au lieu à l'échelle nationale (pour mieux gérer l'enquête du côté temporelle et financier). Ensuite, on doit recenser tous les vétérinaires de la région qui font des suivis d'élevages de poules pondeuses. A partir de cette liste on doit tirer au sort un nombre suffisant de vétérinaires sentinelles (à partir de la table de nombre au hasard). Ces vétérinaires vont nous signaler les éventuelles chutes de ponte.

#### 4.5.3.3. Fiches signalétiques :

A travers les informations enregistrées sur les élevages prélevés, il nous a paru que les praticiens suivent différents programmes vaccinaux malgré l'existence d'un arrêté ministériel du 27/03/1995 définissant les mesures générales en élevage avicole [166]. Conformément aux résultats du questionnaire la vaccination contre la LTI n'est pas pratiquée.

Comparativement aux résultats mentionnés dans les guides d'élevages Les taux de ponte enregistrée sont loin des normes. Cette faiblesse de productivité pourrait être due à l'incompétence des éleveurs [10]. Une autre explication serait la faiblesse de la couverture sanitaire constatée dans notre enquête par questionnaire (Apparition de nouvelles maladies non concernées par le protocole vaccinal : LTI, EDS).

Les données mentionnées sur l'accident de ponte (durée, moment, pourcentage de chute de ponte) ne correspondent pas à celles obtenues par le questionnaire. Elles rejoignent les travaux de DRIDI en 2010 [167] qui a mentionné que la LTI et d'autres pathologies (Marek, EDS76, colibacilloses, salmonelloses) peuvent être à l'origine des chutes de ponte allant de 2 à 17% selon qu'elles agissent seules ou en association.

Les chutes de ponte étaient toutes accompagnées de la ponte d'œufs anormaux. Ces informations rejoignent nos résultats constatés dans la partie « enquête par questionnaire ». Par contre Sherrill en 2009 [82] rapportait que la LTI peut chuter la production d'une pondeuse de 5-15% sans altérer les caractéristiques de la coquille. L'indépendance entre les caractéristiques des chutes de ponte observées (œufs anormaux) et l'étiologie (La LTI) pourrait être due à l'implication de causes multiples (Pathologies, zootechnie, alimentation) ce qui s'est traduit par une multitude de symptômes.

La mortalité est dans les normes préconisées pour chaque souche dans 75% des élevages. Pour la LTI, la mortalité variable selon la forme de la maladie. Elle est très importante dans les formes aiguës (de 20 à 50%), mais très faible voir absente dans la forme atténuée de la poule (émergence d'une nouvelle forme de la LTI touchant la poule pondeuse).

Les suspicions des vétérinaires vont en premier lieu vers la BI, ces résultats rejoignent les suspicions constatées dans le questionnaire, Pour la LTI, contrairement aux résultats du questionnaire, aucune suspicion n'est mentionnée dans les fiches signalétiques.

Enfin, La difficulté de poser une suspicion dans 47% des cas des chutes de ponte pourrait s'expliquer par l'implication des causes multiples telles que les conditions d'élevages, l'alimentation, les maladies diverses (bactériennes, virales, parasitaires).

#### 4.5.3.4. Résultats sérologiques :

Pour la qualification d'un élevage positif, Nous avons exploité les résultats selon deux cas au dépend de nos objectifs :

Dans le premier cas, on considère un élevage positif quand des sérums se révèlent positifs à l'analyse dans les deux séries de prise de sang. Dans ce cas, on ne tient pas compte de la moyenne des titres mais on se base seulement sur les titres individuels. En effet, du moment qu'on ne vaccine pas contre la LTI, Une sérologie positive révèle une circulation du virus de la LTI.

On exclue de cette règle les élevages n° 6 et 12 qui contiennent un seul sérum positif à la première série de prélèvement. Il pourrait s'agir de faux positifs.

Pour les élevages qui présentent seulement des sérums positifs à la deuxième série de prise de sang (élevages n° 5 et 11), on pense qu'on était dans la phase du début de l'infection où les anticorps sériques ne sont pas encore détectables. Cette phase dure de 5 à 7 jours après le début de l'infection [91].

Dans le second cas, on considère un élevage positif quand il a une séroconversion positive c.à.d. un titre moyen d'Ac supérieur à 1071 dans les deux séries de prise de sang. En effet, une séroconversion positive signe un passage viral récent pouvant être à l'origine des chutes de ponte signalées.

L'exploitation des résultats selon ces deux cas est conçue pour répondre à deux objectifs différents. Le premier vise la mise en évidence d'une circulation du VLTI, pour l'atteindre il suffit de mettre en évidence des sérums positifs dans les élevages prélevés. Le deuxième objectif sert à savoir si le VLTI est lié aux chutes de ponte, pour se faire, on doit mettre en évidence une séroconversion positive signant un passage viral récent.

L'hétérogénéité des titres d'anticorps et des séroconversions surtout le déclin de la moyenne des titres d'anticorps lors de la deuxième série de prise de sang pourrait s'expliquer par :

- ✚ Par le nombre très réduit des poules prélevées par élevage (15 poules) sachant que la morbidité de la LTI est de 5 % dans la forme légère touchant

la poule pondeuse [84]. Cette basse morbidité laisse la probabilité très faible pour que les 15 poules prélevées soient infectées par le virus circulant dans l'élevage.

- ✚ Une autre hypothèse serait l'effet de l'endroit du prélèvement à l'intérieur du bâtiment, Dans la majorité des élevages prélevés le choix des 15 poules est fait dans les endroits où il y avait des chutes de ponte (A noter que les poules des rangées concernées produisaient très peu d'œufs par rapport aux autres rangées). D'autres élevages ne présentaient pas des chutes de ponte bien localisées, les prélèvements sont faits d'une manière aléatoire dans les différents endroits du bâtiment. Pour remédier au problème d'harmonisation des prélèvements et d'homogénéité des titres d'anticorps et des séroconversions des lots on aurait du marquer les 15 poules à prélever dans chaque série de prise de sang.
- ✚ Nous avons effectué une intervention un peu tardive. En effet, Nous pensions que certains vétérinaires sentinelles ont dépassé le délai autorisé pour le signalement d'un cas suspect (2-3 jours, au maximum 4 jours). Ce délai est inspiré des travaux d'Adair et *al* en 1985 [91], qui ont démontré que les anticorps neutralisant le virus de la LTI deviennent détectables dans les 5-7 jours post-infection, font un pic autour de 21 jours, et puis s'affaiblissent aux niveaux bas au cours de mois suivants. On conclut donc, que le laps de temps qui se situe entre le moment de début de chute de ponte et la date de la première série de prise de sang est un élément important dans la détermination de l'intensité des séroconversions.

Dans les élevages qui présentent une séroconversion positive, le VLTl pourrait être impliqué dans la chute de ponte et ceci à côté de nombreuses autres causes puisque ces mêmes élevages sont positifs pour d'autres valences (source personnelle).

L'implication du VLTl dans la chute de ponte n'est qu'une hypothèse qu'on doit vérifier. En effet, ce type d'enquête (enquête descriptive) n'est pas conçu pour vérifier une hypothèse. Pour ce faire on doit mener une enquête analytique, soit type cas/témoin (enquête rétrospective) ou exposé/non exposé (enquête prospective).

Le pourcentage des élevages de poules pondeuses séro-positifs pour la LTI est très élevé (60%). 27 % parmi eux présentent une séroconversion positive. Les données sur la prévalence sont rares en bibliographie, Cependant on peut mentionner qu'en 2009, Barhoom Observe en Palestine, sur 3 élevages de poules pondeuses 100 % de séro-positivité [5]. Ebrahimi, en 2003 [29], dans une étude portée sur 5 élevages de poules pondeuses (en Iran) a trouvé une séro-positivité élevage de 100 %. Ces études sont menées suite à une suspicion clinique de la LTI dans des élevages vaccinés et dans le but d'un diagnostic de confirmation. Les circonstances de ces études sont différentes de la notre, nous avons prélevé des élevages de poules pondeuses présentant des chutes de ponte dans le but de mettre en évidence, parmi de nombreux agents, un passage récent du virus de la LTI. On ne peut pas donc comparer nos résultats sérologiques avec ceux de ces études.

Très récemment, au Brésil, Gomes (2008) [3] a rapporté une prévalence assez importante dans la région de Bastos (59.4%) dans des élevages de poules pondeuses durant 4 ans (de 2002 à 2006). l'étude a été menée suite au signalement de l'apparition des signes respiratoires atypiques dans les élevages de poules pondeuses dans le but d'effectuer un diagnostic complet de la situation et d'établir par la suite un programme de lutte contre l'agent mis en évidence.

La présence des élevages séro-positifs dans les trois régions d'étude signifie la circulation du virus de la LTI à travers le territoire national. Cette circulation est variable selon la région avec un grand nombre d'élevages positifs au centre, Cela pourrait être dû à l'hétérogénéité de l'échantillon avec un grand nombre d'élevages prélevés au centre (11 élevages).

La durée des chutes de ponte des élevages séro-positifs pour la LTI est pratiquement la même que celle rapportée par Callison *et al* (2007) [25]; la manifestation de la LTI dans un élevage de poule pondeuse cause une chute de ponte de plus de 3 semaines.

Les résultats de la séro-positivité selon l'intensité des chutes de ponte sont, d'une part, contradictoires avec les travaux de Sherrill (2009) [82] qui a cité qu'un épisode de la forme modérée de la LTI nouvellement émergée engendre une chute de ponte de 5-15% sans modification de la qualité des coquilles. D'autre

part, ils corroborent les travaux de Barhoom (2009) [5] et Gomes (2008) [3] qui ont rapporté que la LTI peut causer une chute de ponte de 30%.

L'aspect clinique des élevages séro-positifs pour la LTI ressemble à celui décrit par Barhoom (2009) [5], Shan-chia (2010) [16] et Gomes (2008) [3]. Cette forme apparemment très légère est réapparue ces dernières années et pose des problèmes dans les élevages de poules pondeuses. Seulement quelques oiseaux dans un élevage infecté peuvent montrer des signes respiratoires classiques et la mortalité peut être faible avec une chute de ponte pouvant atteindre 30 %.

#### 4.5.4. Conclusion :

L'enquête sérologique a permis pour la première fois en Algérie de mettre en évidence des anticorps anti-VLTI signifiant la circulation de ce virus dans les élevages de poules pondeuses. Le pourcentage des élevages séroconversion positif est 27% et celui des élevages contenant des sérums positif dans les deux séries de prise de sang est 60%. Le passage viral est asymptomatique dans tous les élevages séro-positifs, causant des chutes de ponte de plus de 15% durant 3 semaines dans 71% des cas. Ces chutes sont considérables économiquement et la part de la LTI n'est pas déterminée puisque ces mêmes élevages étaient positifs pour d'autres pathologies virales (source personnelle).

#### 4.6. Troisième partie : Etude économique

Quelle que soit l'importance de l'élevage, l'aviculteur a toujours œuvré à ce que les pondeuses produisent au maximum de leurs possibilités. Or, en dehors des petites affections qui peuvent atteindre un troupeau de pondeuses, il existe un grand nombre de graves infections spécifiques, notamment virales, auxquelles la ponte est particulièrement sensible (LTI, EDS, EMIA).

L'importance de ces infections spécifiques est liée aux épisodes cliniques de chute de ponte entraînant des pertes économiques graves liés aux mortalités, pertes de production et coût de traitements.

La lutte contre ces maladies virales consiste essentiellement en la vaccination systématique de la poulette démarrée. Ce qui n'est pas le cas en Algérie sachant que des sérologies positives ont été mises en évidence en Algérie (résultats en cours de publication).

La question qui se pose : Est-il économiquement intéressant de vacciner systématiquement les poulettes démarrées contre la LTI dans nos élevages ?

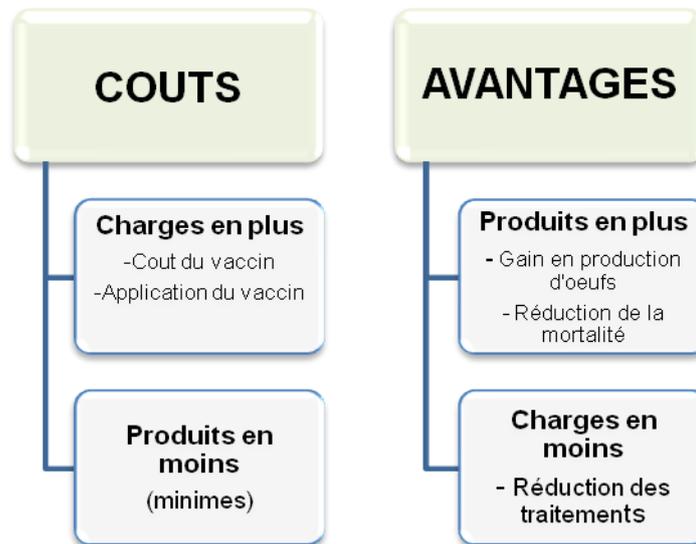
L'objectif de cette partie est de simuler un programme de lutte (la vaccination) en comparant les avantages et les coûts de la vaccination contre la LTI en suivant la démarche d'une étude économique avantages/coûts.

##### 4.6.1. Matériel et méthodes :

La méthode avantages/coûts est une méthode qui permet de traduire sous forme monétaire les coûts de la vaccination et les avantages apportés par la vaccination [157]. Elle comporte les étapes suivantes :

##### 4.6.1.1. Estimation technique :

Elle consiste à évaluer les différents types de coûts et d'avantages, en les décrivant et en les quantifiant. La structure générale de cette analyse s'organise en deux colonnes, coûts et avantages, comprenant chacune des éléments en plus et des éléments en moins (Figure 4.40).



**Figure 4.40** : Evaluation des coûts/avantages de la vaccination.

Dans cette étude, nous allons évaluer les différents coûts et avantages de la vaccination contre la LTI dans un élevage, par exemple de 10 000 poules pondeuses, ce qui correspond à la taille moyenne des élevages de poules pondeuses en Algérie [6].

#### 4.6.1.1.1. Estimation des coûts :

Elles correspondent à tous les coûts de la vaccination.

##### 4.6.1.1.1.1. Coût du vaccin :

Pour la LTI, sur le marché mondial il y a deux vaccins à virus atténué, conditionné en flacons de 1000 doses. Le prix du flacon est d'environ 2500 DA. L'administration du vaccin est par voie oculaire et sans rappel (12<sup>ième</sup> semaine d'âge).

##### 4.6.1.1.1.2. Application du vaccin :

Le coût d'application du produit dépend du nombre d'interventions réalisées. Dans notre cas, la vaccination de la poulette démarrée contre la LTI se fait une seule fois. Pour ce faire, une seule personne suffit pour vacciner jusqu'à 1 000 sujets.

Au delà de ce niveau, il sera nécessaire d'embaucher une deuxième personne qui peut réaliser aussi 1 000 sujets, et ainsi de suite. Donc, le nombre de personnes s'élève à 10, sous la direction d'un vétérinaire ou d'un technicien d'élevage.

Concernant les produits en moins, dans notre étude, on a jugé minime tout effet secondaire de la vaccination.

#### 4.6.1.1.2. Estimation des avantages :

Toute action de lutte mise en œuvre contre une maladie est conçue en vue d'obtenir une amélioration de la situation sanitaire et par conséquent, une diminution des pertes due à la maladie. Le principe d'estimation des avantages consiste à évaluer les pertes en absence de la vaccination.

##### 4.6.1.1.2.1 Gain en production d'œufs :

Le calcul du gain en œufs est fondé sur la différence entre la ponte réelle et la courbe théorique, multipliée par le prix unitaire de l'œuf de consommation qui est de 6 DA représentant le prix de vente du marché durant la période de l'étude.

Le manque à gagner en production des œufs de consommation, qui représente la quantité d'œufs qui aurait dû être pondus par les sujets morts durant l'épisode clinique de la LTI multipliée par le prix unitaire de l'œuf qui est de 6 DA.

Rappelant que la manifestation clinique de la LTI peut entraîner facilement une chute de ponte de 5-15% [25]. Dans notre étude nous avons retenu un taux de chute de ponte de 5%.

##### 4.6.1.1.2.2. Réduction de la mortalité :

Un autre avantage de la vaccination est la réduction du nombre de sujets qui auraient dû mourir par la LTI durant la phase clinique de la maladie multipliée par le prix unitaire de la poule, qui est évalué à 450 DA. Le taux de mortalité attribué à LTI est de 1.3% à 16% [82]. Nous avons retenu un taux de 1 %.

Pour s'assurer que la mortalité est bien liée à la LTI, les sujets morts doivent être autopsiés pour la recherche d'éventuelles lésions évocatrices. Lors de

l'ouverture des cadavres, une attention particulière doit être accordée à l'aspect des organes (foie, cœur, poumons) pour la recherche des éventuelles lésions secondaires pour repérer les faux positifs.

#### 4.6.1.1.2.3. Réduction des traitements :

L'application d'une bonne vaccination réduit considérablement les éventuels traitements. Les coûts des traitements sont constitués par celui des médicaments administrés à titre curatif, en fonction de leur prix dans le marché. Plusieurs molécules ont été utilisées en traitement (lors de l'apparition de la LTI) (Tableau 4.12).

**Tableau 4.12 :** Les médicaments utilisés dans le control de la LTI.

Molécules	Prix sur le marché (DA) Nb flacons x PU
Erythromycine+colistine	36 000
Vitamines	43200
Vitamine C	20 000
Hépto-protecteur	28800

Il est important de signaler que la LTI peut altérer durablement la ponte. En effet, les pertes évaluées sont sous estimées car nous n'avons pris en compte que les pertes pendant l'épisode clinique.

#### 4.6.2. Résultats et discussion :

##### 4.6.2.1. Avantages :

##### 4.6.2.1.1. Gain en œufs de consommation :

L'apparition de la LTI dans un élevage de poules pondeuses cause une chute de ponte de 5 % en minimum et qui dure plus de 3 semaines [25]. Si on

considère que le prix de vente de l'œuf de consommation est 6 DA, le total des pertes en œufs sera estimé à 63 000 DA.

A cela, s'ajoute la quantité d'œufs de consommation qui aurait dû être pondue par les sujets morts par la LTI durant la manifestation clinique de cette pathologie, qui est estimée à 21 œufs par poule. Au total 2100 œufs sont perdus, soit l'équivalent de 12 600 DA de pertes sèche. En gros, une vaccination contre la LTI peut donner un avantage de 75 600 DA (63 000 + 12 000) (Tableau 4.13).

#### 4.6.2.1.2. Réduction de la mortalité :

La mortalité attribuée à un épisode clinique de la LTI dans notre étude est de 1%. Le nombre cumulé de sujets morts de la LTI sur une période de 3 semaines est évalué à 100 sujets multiplié par le prix unitaire de la poule qui est de 450 DA, ce qui correspond à un total des pertes de 45 000 DA (Tableau 4.13).

#### 4.6.2.1.3. Réduction des traitements :

La lutte contre la LTI dans un élevage de poules pondeuses fait appel à plusieurs molécules : Antibiotiques (Erythromycine, colistine) pour prévenir les surinfections bactériennes, sans compter les vitamines (multivitamines, vitamine C) pour booster le système immunitaire, et hépato-protecteurs pour protéger le foie.

Le total des coûts de traitement est estimé à 128 000 DA, soit 13 DA/poule.

#### 4.6.2.1.4. Total des avantages :

La somme monétaire des avantages de la vaccination de la poulette démarrée contre la LTI est estimée à 248 600 DA évalué suite à une éventuelle chute de ponte de 5 % durant 3 semaines.

#### 4.6.2.2. Coûts :

##### 4.6.2.2.1. Coût du vaccin :

Le prix du flacon du vaccin de la LTI de 1 000 doses est environ de 2500 DA multiplié par le nombre de flacons utilisé dans l'élevage. Le coût du vaccin s'élève donc à 25000 DA en une seule intervention.

##### 4.6.2.2.2. Coût d'application du vaccin :

Pour réaliser un bon acte vaccinal, on doit minimiser au maximum le stress des poulettes. Pour se faire, dans un élevage de 10 000 poulettes, on doit embaucher 10 personnes et un vétérinaire ou un technicien d'élevage. Le coût d'application du vaccin s'élève à 40 000 DA.

La somme monétaire des coûts s'élève donc à 65000 DA.

**Tableau 4.13** : Conversion monétaire des coûts et des avantages.

Coûts	Prix (DA)	Avantages	Prix (DA)
<b>A. Charges en plus</b>		<b>C.Produits en plus</b>	
Coût du produit	<b>25000</b>	Gain en production	<b>75600</b>
Application du produit	<b>40000</b>	Reduction de mortalité	<b>45000</b>
<b>B.Produits en moins</b>		<b>D.Charges en moins</b>	
		Réduction des traitements	<b>128000</b>
<b>Total des couts</b>	<b>65000</b>	<b>Total des avantages</b>	<b>248600</b>

##### 4.6.2.3. Comparaison avantages/coûts :

L'analyse avantages/coûts est fondée sur la comparaison des coûts et des avantages pour juger la rentabilité de notre projet (vaccination). La comparaison consiste à calculer le rapport Avantages/coûts (A/C).

Dans notre étude ce rapport (A/C) est égal à 3,82. Il est supérieur à 1 signifie que le projet de lutte contre la LTI est rentable.

#### 4.6.2.4. Analyse de sensibilité :

Les avantages et les coûts sont calculés sur des données statiques en tenant compte un faible taux de chute de ponte (5%), une taille moyenne des élevages (10000) et un faible taux de mortalité (1%). Ils peuvent fluctuer plus que prévu dans ce projet, puisque ces facteurs sont incertains (taille des élevages, taux de chute de ponte, taux de mortalité).

Pour connaître précisément l'influence de ces facteurs sur le rapport A/C on procède à des analyses de sensibilité qui consiste à admettre que l'on a effectué certaines erreurs d'appréciation sur les coûts et les avantages (Tableau 4.14).

**Tableau 4.14** : Evaluation du rapport A/C selon plusieurs facteurs : Taux de mortalité, taille de l'élevage, % de CP.

Prix de vente de l'œuf	Durée de CP	Taux de mortalité	Taille de l'élevage	% de CP	Rapport A/C
6 DA	3 semaines	1%	10000	5%	3,82
6 DA	3 semaines	10%	10000	5%	11,80
6 DA	3 semaines	15%	10000	5%	16,23
		<b>Taux de mortalité</b>	<b>Taille de l'élevage</b>	<b>% de CP</b>	<b>Rapport A/C</b>
6 DA	3 semaines	1%	5000	5%	5,79
6 DA	3 semaines	1%	10000	5%	3,82
6 DA	3 semaines	1%	100000	5%	2,05
		<b>Taux de mortalité</b>	<b>Taille de l'élevage</b>	<b>% de CP</b>	<b>Rapport A/C</b>
6 DA	3 semaines	1%	10000	5%	3,82
6 DA	3 semaines	1%	10000	10%	4,79
6 DA	3 semaines	1%	10000	15%	5,76

En variant le taux de mortalité de 1 à 15%, Le rapport A/C augmente de 3 à 16 c'est-à-dire les avantages dépassent de 3 à 16 fois les coûts. Le même constat pour le pourcentage de chute de ponte où ce rapport varie de 3 à 5.

Si on augmente la taille de l'élevage de 5000 à 100000 le rapport A/C diminue de 5 à 2. C'est-à-dire le projet de lutte est plus rentable dans les petits élevages que dans les grands élevages.

Globalement les avantages dépassent les coûts dans tous les cas de figures signifiant la rentabilité de la vaccination contre la LTI dans les élevages de poules pondeuses.

#### 4.6.3. Conclusion :

Dans cette étude économique, nous avons évoqué un projet de lutte contre la LTI dans un élevage de 10 000 poules pondeuses, tout en essayant de rapporter les coûts et les avantages de ce programme de lutte.

Cette approche financière micro-économique en Algérie permet de conclure qu'il est souhaitable de poursuivre une vaccination systématique des poulettes démarrées contre la LTI. Une telle application pourrait éviter des pertes sèches évaluées à 248 600 DA suite à une éventuelle manifestation clinique de la LTI.

## CONCLUSION

L'enquête descriptive menée par questionnaire prouve que le phénomène de chute de ponte chez la poule pondeuse est très répandu, il est associé dans la majorité des cas avec la ponte des œufs anormaux. Leur diagnostic clinique est difficile voir impossible dans la plupart des cas suspectés. En effet les symptômes observés et les maladies virales suspectées sont très variés ce qui pourrait être expliqué par l'implication des chutes de ponte de causes multiples.

L'enquête sérologique par ELISA a pu mettre en évidence, pour la première fois en Algérie, la circulation du virus de la LTI dans les élevages de poules pondeuses. La séropositivité des élevages est de 60%, elle semble varier en fonction de la région, la durée et l'intensité des chutes de ponte, et l'aspect clinique des élevages prélevés.

L'étude économique avantages/coûts de la vaccination contre la LTI dans un élevage de 10 000 poules montre que ce projet de lutte pourrait éviter des pertes sèches évaluées à plus de 248 600 DA suite à une éventuelle manifestation clinique de la LTI. De ce fait, il est recommandé de poursuivre la vaccination des poulettes démarrées contre la LTI.

Les résultats de cette enquête ne peuvent cependant être extrapolés sur l'ensemble de la population des poules pondeuses en Algérie du fait que notre échantillon n'est pas représentatif.

## RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail nous avons tiré certaines recommandations que nous avons partagées en trois volets :

- ✓ 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.
- ✓ Sur le plan sérologique, nous recommandons la consolidation du diagnostic sérologique par la mise en évidence du virus.
- ✓ Sur le plan économique, une sensibilisation des acteurs de la filière ponte quant à l'importance de la vaccination contre la LTI est nécessaire.

## **APPENDICE A**

### **LISTE DES ABREVIATIONS**

ONAB : Office nationale des aliments de bétail.

ORAVIO : Office régionale avicole ouest

ORAC : Office régionale avicole centre

ORAVIE : Office régionale avicole est

ONAPSA : Office National des Approvisionnements et Services Agricoles

ITPE : Institut de Développement des Petits Elevages

SGP : Sociétés de Gestion et de Participation

LTI : Laryngotrachéite infectieuse

EDS : Egg drop syndrom

BI : Bronchite infectieuse

ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay

VLTI : virus de la Laryngotrachéite infectieuse

PI : post infection

KD : kilo Dalton

PCR : polymerase chain reaction

CMI : cellular mediating immunity

MCAs : membrane chorio-allantoïdienne

ECP : Effet cytopathogène

DIE50: Dose de virus infectant 50 % des embryons

DICT50 : Dose de virus infectant 50 % de la culture tissulaire

IDG : Immunodiffusion sur gélose

ITCF : Isothiocyanate de fluorescéine

AcM : anticorps monoclonaux

CP : chute de ponte

ND : Newcastle disease.

SIGT : syndrome infectieux de la grosse tête.

RTI : Rhinotrachéite infectieuse

AE : avian encephalomyelitis

**APPENDICE B**  
**FICHE DU QUESTIONNAIRE**

***Dans le cadre d'une étude de magister, nous souhaitons effectuer une enquête de terrain sur les élevages de poules pondeuses.***

---

**1.** Vous faites des suivis d'élevage de poules pondeuses) ?

o Oui

*Combien d'élevages ?*

Moins de 5

Entre 5 et 10

Plus de 10

o non

**2.** Région : .....

**3.** Depuis combien de temps ? (.....) années

**4.** Est ce que vous avez déjà noté des accidents de ponte chez vos clientèles?

o Oui

o Non

**5.** Quels étaient les pourcentages de chutes de ponte?

De .....% à .....%

**6.** Combien de temps ont duré ces chutes de ponte ?

Moins de 1 semaine .....%

Entre 1 et 2 semaines .....%

Entre 2 et 3 semaines .....%

Plus de 3 semaines .....%

**7.** A quel âge la bande présentait une chute de ponte?

o Début de ponte  (de.....à.....semaines)

o Pic de ponte  (de.....à.....semaines)

o Fin de production  (de.....à.....semaines)

**8.** A quoi sont dues, d'après vous, ces chutes de ponte ?

o Affections virales..... %

o affections Bactériennes..... %

o affections Parasitaires..... %

o origine Alimentaire..... %

o Autres ..... %

Précisez.....

**9.** Si la cause est virale quelles sont, d'après vous, les pathologies suspectées ?

- Bronchite infectieuse..... %
- Maladie de Newcastle ..... %
- Laryngotrachéite infectieuse..... %
- EDS (Egg Drop Syndrome) ..... %
- Encéphalomyélite ..... %
- Autres..... %

Précisez.....

**10.** Est-ce que ces chutes de ponte sont accompagnées par une production d'œufs anormaux ?

- Oui
- Non

• Si oui, pouvez-vous décrire ces œufs anormaux ?

- Couleur .....
- Consistance de coquille.....
- Disparition de la coquille ? oui  non
- Autres .....

Est-ce que ces chutes de ponte étaient accompagnées de mortalité ?

- Oui si oui, quel était le taux ?.....
- Non

**11.** Est-ce que vous avez noté des symptômes associés aux chutes de ponte ?

- Oui
- Non

• Si oui, lesquels ?

- Signes respiratoires..... %
- Signes digestifs..... %
- Signes nerveux ..... %
- Signes génitaux..... %
- autres..... %

Précisez.....

**12.** La PFP a été vaccinée contre?

- BI (Bronchite infectieuse)  .....
- ND (Newcastle)  .....
- EDS (Egg drop syndrome)  .....
- ILT (Laryngo-trachéite)  .....
- AE (Encephalo-myélite)  .....
- IBD (Gumboro)  .....
- Autres.....

**13.** Selon vous, la LTI se manifeste comment ?

.....

**14.** Si vous avez suspecté la LTI, souhaitez-vous confirmer votre suspicion par un test sérologique?

Oui

*si oui, merci d'écrire vos coordonnées pour être contacté : .....*

Non

## APPENDICE C

### RESULTATS DES QUESTIONNAIRES

**Tableau 1** : Réponses de 19 vétérinaires de la région est.

VARIABLE						
Nombre d'élevages suivis	Moins de 5 : 01 05 ± 5 %	Entre 5 et 10 : 01 05 ± 5 %	Plus de 10 : 17 90 ± 6 %			
Nombre d'années de suivi	Moins de 5 ans : 03 16 ± 8 %	Entre 5 et 10 ans : 05 26 ± 9 %	Plus de 10 ans : 11 58 ± 10 %			
Région	Est : 19 35 ± 10 %	Centre : 31 40 ± 10 %	Ouest : 25 36 ± 10 %			
Accidents de ponte	Oui : 19 100 %	Non : 00				
% chutes de ponte	5 – 20 % : 01 05 ± 5 %	20 – 40 % : 10 53 ± 11 %	> 40 % : 08 42 ± 10 %			
Suspicion causes	Virales : 18 95 ± 5 %	Bactériennes : 15 79 ± 9 %	Parasitaires : 02 11 ± 7 %	Alimentaires : 18 95 ± 5 %	Zotechniques : 07 37 ± 10 %	
Causes virales	BI : 16 84 ± 8 %	NC : 04 21 ± 9 %	LTI : 01 05 ± 5 %	EDS : 14 74 ± 9 %	AE : 00	Autres : 00
Œufs anormaux	Oui : 16 84 ± 8 %	Non : 03 16 ± 8 %				
Symptômes associés	Respiratoires : 16 84 ± 8 %	Digestives : 17 89 ± 7 %	Nerveux : 13 68 ± 10 %	Génitaux : 13 68 ± 10 %	Autres : rénales 04 21 ± 9 %	
Vaccination	BI : 19 100 %	ND : 19 100 %	EDS : 08 42 ± 10 %	ILT : 01 05 ± 5 %	AE : 00	IBD : 19 100 %
Accord PVTs	Oui : 19 100 %	Non : 00 0 %				

**Tableau 2 : Réponses de 25 vétérinaires de la région ouest.**

VARIABLE						
Nombre d'élevages suivis	Moins de 5 : 09 36 ± 10 %	Entre 5 et 10 : 16 64 ± 10 %	Plus de 10 : 00			
Nombre d'années de suivi	Moins de 5 ans : 02 08 ± 6 %	Entre 5 et 10 ans : 16 64 ± 10 %	Plus de 10 ans : 07 28 ± 9 %			
Accidents de ponte	Oui : 25 100 %	Non : 00 00 %				
% chutes de ponte	5 – 20 % : 07 28 ± 9 %	20 – 40 % : 17 68 ± 10 %	> 40 % : 01 04 ± 4 %			
Suspicion causes	Virales : 24 96 ± 4 %	Bactériennes : 22 88 ± 7 %	Parasitaires : 05 20 ± 9 %	Alimentaires : 25 100 %	Zootechniques : 19 76 ± 9 %	
Causes virales	BI : 20 80 ± 9 %	NC : 20 80 ± 9 %	LTI : 01 04 ± 4 %	EDS : 05 20 ± 9 %	AE : 02 08 ± 6 %	Autres (Marek) : 18 72 ± 9 %
Œufs anormaux	Oui : 24 96 ± 4 %	Non : 01 04 ± 4 %				
Symptômes associés	Respiratoires : 21 84 ± 8 %	Digestives : 23 92 ± 6 %	Nerveux : 19 76 ± 9 %	Génitaux : 17 68 ± 10 %	Autres : 07 28 ± 9 %	
Vaccination	BI : 25 100 %	ND : 25 100 %	EDS : 03 12 ± 7 %	ILT : 02 08 ± 6 %	AE : 17 68 ± 10 %	IBD : 25 100 %
Accord PVTs	Oui : 10 40 ± 10 %	Non : 15 60 ± 10 %				

**Tableau 3 : Réponses de 29 vétérinaires de la région centre.**

VARIABLE						
Nombre d'élevages suivis	Moins de 5 : 12 41 ± 10 %	Entre 5 et 10 : 12 41 ± 10 %	Plus de 10 : 05 18 ± 8 %			
Nombre d'années de suivi	Moins de 5 ans : 13 45 ± 11 %	Entre 5 et 10 ans : 07 24 ± 9 %	Plus de 10 ans : 09 31 ± 10 %			
Accidents de ponte	Oui : 29 100 %	Non : 00				
% chutes de ponte	5 – 20 % : 11 38 ± 10 %	20 – 40 % : 10 34 ± 10 %	> 40 % : 08 28 ± 9 %			
Suspicion causes	Virales : 28 97 ± 3 %	Bactériennes : 25 86 ± 8 %	Parasitaires : 08 28 ± 9 %	Alimentaires : 25 86 ± 8 %	Zootechniques : 14 48 ± 11 %	
Causes virales	BI : 21 72 ± 9 %	NC : 18 62 ± 10 %	LTI : 07 24 ± 9 %	EDS : 22 76 ± 9 %	AE : 04 14 ± 8 %	Autres : 02 07 ± 5 %
Œufs anormaux	Oui : 29 100 %	Non : 00				
Symptômes associés	Respiratoires : 25 86 ± 8 %	Digestives : 22 76 ± 9 %	Nerveux : 16 55 ± 11 %	Génitaux : 18 62 ± 10 %	Autres : rénales 10 34 ± 10 %	Pas : 03 10 ± 6 %
Vaccination	BI : 29 100 %	ND : 29 100 %	EDS : 11 38 ± 10 %	ILT : 10 34 ± 10 %	AE : 10 34 ± 10 %	IBD : 27 93±5%
Connaissance LTI	OUI : 21 72 ± 9 %	Non : 8 28 ± 9 %				
Accord prélèvement	Oui : 13 45 ± 11 %	Non : 16 55 ± 11 %				

**Tableau 4 : Réponses globales de 73 vétérinaires (régions est, centre et ouest).**

VARIABLE						
Nombre d'élevages suivis	Moins de 5 : 22 30 ± 10 %	Entre 5 et 10 : 29 40 ± 10 %	Plus de 10 : 22 30 ± 10 %			
Nombre d'années de suivi	Moins de 5 ans : 18 25 ± 9 %	Entre 5 et 10 ans : 28 38 ± 10 %	Plus de 10 ans : 27 37 ± 10 %			
Accidents de ponte	Oui : 73 100 %	Non : 00				
% chutes de ponte	5 – 20 % : 19 26 ± 9 %	20 – 40% : 37 51 ± 11 %	> 40 % : 17 23 ± 9 %			
Suspicion causes	Virales : 70 96 ± 4 %	Bactériennes : 62 85 ± 8 %	Parasitaires : 15 21 ± 9 %	Alimentaires : 68 93 ± 5 %	Zootechniques : 40 55 ± 11 %	
Suspicion Virale/classe	< 20% : 47 64 ± 10 %	20-40% : 10 14 ± 8 %	> 40% : 6 8 ± 6 %	Aucun : 4 5 ± 5%		
Suspicion bact/Classe	< 20% : 28 38 ± 10 %	20-40% : 21 29 ± 10 %	> 40% : 9 12 ± 7 %	Aucun : 11 15 ± 8 %		
Suspicion paras/Classe	< 20% : 14 19 ± 8 %	20-40% : 1 01 ± 2 %	> 40% : 0 0 %	Aucun : 58 79 ± 9 %		
Suspicion alim/classe	< 20% : 10 14 ± 8 %	20-40% : 19 26 ± 9 %	> 40% : 33 45 ± 11 %	Aucun : 5 7 ± 5 %		
Suspicion zootec/classe	< 20% : 30 41 ± 10 %	20-40% : 4 5 ± 5%	> 40% : 1 1 ± 2 %	Aucun : 32 44 ± 11 %		
Causes virales	BI : 57 78 ± 9 %	NC : 42 58 ± 10 %	LTI : 09 12 ± 7 %	EDS : 41 56 ± 11 %	AE : 06 8 ± 6 %	Autres : 20 27±9 %
Œufs anormaux	Oui : 69 95 ± 5 %	Non : 04 5 ± 5 %				
Symptômes associés	Respiratoires : 62 85 ± 8 %	Digestives : 62 85 ± 8 %	Nerveux : 48 66 ± 10 %	Génitaux : 48 66 ± 10 %	Autre:rénales21 29±10 %	
Vaccination	BI : 73 100 %	ND : 73 100 %	EDS : 22 30 ± 10 %	ILT : 13 18 ± 8 %	AE : 27 37 ± 10 %	IBD : 71 97±3%
Accord prélèvement	Oui : 42 58 ± 10 %	Non : 31 42 ± 10 %				

**Tableau 5 : Réponses de 18 vétérinaires de moins de 5 ans d'exercice.**

VARIABLE						
Accidents de ponte	Oui : 18 100 %	Non : 00				
Nb élevages suivi	- de 5 : 10 56 ± 10 %	5-10 : 5 28 ± 9 %	Plus de 10 : 3 17 ± 8 %			
Région	EST : 3 17 ± 8 %	Centre : 13 72 ± 9 %	Ouest : 2 11 ± 7 %			
% chutes de ponte	5 – 20 % : 6 33 ± 10 %	20 – 40 % : 7 39 ± 10 %	> 40 % : 5 28 ± 9 %			
Suspicion causes	Virales : 18 100 %	Bactériennes : 16 88 ± 7 %	Parasitaires : 5 27 ± 9 %	Alimentaires : 16 88 ± 7 %	Zootechniques : 12 66 ± 10 %	
Causes virales	BI : 14 78±9 %	NC : 14 78 ± 9 %	LTI : 3 17 ± 8 %	EDS : 13 72± 9 %	AE: 2 11±7%	Autres (Marek) : 4 22 ± 9 %
Œufs anormaux	Oui : 18 100 %	Non : 00				
Symptômes associés	Respiratoires : 16 88 ± 7 %	Digestives : 15 83 ± 8 %	Nerveux : 13 72 ± 9 %	Génitaux : 12 66 ± 10 %	Autres (rénaux) : 6 33± 10 %	Pas de symptômes : 1 06 ± 5 %
Vaccination	BI : 18 100 %	ND : 18 100 %	EDS : 6 33 ± 10 %	ILT : 4 22± 9 % % ???	AE : 5 25± 9 %	IBD : 17 94 ± 5 %
Accord prélèvement	Oui : 10 55 ± 11 %	Non : 8 45 ± 11 %				

**Tableau 6 : Réponses de 28 vétérinaires ayant entre 5 et 10 ans d'exercice.**

VARIABLE						
Suivi d'élevages	Oui : 28 100%	Non : 00 00%				
Accidents de ponte	Oui : 28 100 %	Non : 00 00 %				
Nb d'élevages suivis	- de 5 : 7 25± 9 %	Entre 5 et 10 : 17 61 ± 10 %	Plus de 10 : 4 14 ± 8 %			
région	Est : 5 18 ± 8 %	Centre : 7 25 ± 9 %	Ouest : 16 57 ± 10 %			
% chutes de ponte	5 – 20 % : 9 32±10%	20 – 40 % : 14 50 ± 11 %	> 40 % : 5 18 ± 8 %			
Suspicion causes	Virales : 27 96 ± 4 %	Bactériennes : 27 96 ± 4 %	Parasitaires : 4 14 ± 8 %	Alimentaires : 27 96 ± 4 %	Zootechniques : 18 64 ± 10 %	
Causes virales	BI : 26 93 ± 5 %	NC : 21 75 ± 9 %	LTI : 2 7 ± 5 %	EDS : 8 29 ± 10 %	AE : 3 11± 7 %	Autres (Marek) : 12 43 ± 10 %
Œufs anormaux	Oui : 26 93 ± 5 %	Non : 2 7 ± 5 %				
Symptômes associés	Respiratoires : 26 93 ± 5 %	Digestives : 25 89 ± 7 %	Nerveux : 20 71 ± 10 %	Génitaux : 21 75 ± 9 %	Autres (rénaux) : 4 14 ± 8 %	Pas de symptômes : 1 4 ± 4 %
Vaccination	BI : 28 100 %	ND : 28 100 %	EDS : 6 21±9 %	ILT : 3 11±7%	AE : 13 46 ± 11 %	IBD : 26 93 ± 5 %
Accord prélèvement	Oui : 12 43 ± 10 %	Non : 16 57 ± 10 %				

**Tableau 7 : Réponses de 27 vétérinaires ayant plus de 10 ans d'exercice.**

Variable						
Accidents de ponté	Oui : 27 100 %	Non : 00 00 %				
Nb d'élevages suivis	- 5 : 4 15 ± 8 %	Entre 5-10 : 7 26 ± 9 %	+ de 10 : 15 56 ± 10 %			
Région	Est : 11 41 ± 10 %	Centre : 9 33 ± 10 %	Ouest : 7 26 ± 9 %			
% chutes de ponté	5 – 20 % : 3 11 ± 7 %	20 – 40 % : 17 63 ± 10 %	> 40 % : 7 26 ± 9 %			
Suspicion causes	Virales:24 89 ± 7 %	Bactérienne : 22 81 ± 8 %	Parasitaire : 5 18 ± 8 %	Alimentaire : 25 93 ± 5 %	Zootechnique : 13 48 ± 11 %	
Causes virales	BI : 19 70 ± 10 %	NC : 10 37 ± 10 %	LTI : 1 4 ± 4 %	EDS : 19 70 ± 10 %	AE : 01 4 ± 4 %	Autres : 6 22 ± 9 %
Œufs anormaux	Oui : 26 96 ± 4 %	Non : 1 4 ± 4 %				
Symptômes associés	Respiratoires : 22 81 ± 8 %	Digestives : 23 85 ± 8 %	Nerveux : 17 63 ± 10 %	Génitiaux : 17 63 ± 10 %	Autres : 11 41 ± 10 %	Pas de symptômes : 3 11 ± 7 %
Vaccination	BI : 27 100 %	ND : 27 100 %	EDS : 7 26 ± 9 %	ILT : 4 15 ± 8 %	AE : 9 33 ± 10 %	IBD : 27 100 %
Accord prélèvement	Oui : 22 81 ± 8 %	Non : 5 19 ± 8 %				

**APPENDICE D**  
**FICHE SIGNALÉTIQUE PAR ÉLEVAGE**

- Nom du propriétaire : .....
- Nom du vétérinaire : .....
- Elevage de ..... Pondeuses en .... bâtiment
- Capacité ..... Poules
- Origine des poules :
  - ORAVIO
  - ORAVIE
  - ORAC
  - Autre :
- Souches : .....
- Programme de vaccination : .....
- Programme lumineux : .....
- Date de début de ponte : .....
- Age de la poulette : .....
- Taux de production de la poule (avant accident de ponte) : ..... %
- Effectif réel du bâtiment : ..... Poules
- Accident de ponte :
  - Date de début ...../...../..... Age. .... (Semaines)
  - Durée : ..... (semaines)
  - Pourcentage de chute de ponte : ..... %
  - Aspect des œufs : Externe .....
- Symptômes cliniques associés :
  - respiratoire : .....
  - nerveux : .....
  - génital : .....
  - digestif : .....
  - autres : .....

- Examen nécropsique :
  - respiratoire : .....
  - nerveux : .....
  - génital:.....
  - digestif : .....
  - autres : .....
- Circonstances d'apparition :
  - coup de chaleur :
  - alimentation :
  - coupure électrique :
  - autres :
- Prélèvements de sérums :
  - temps de décantation ; ..... h
  - centrifugation : Oui  Non
  - durée PVT / centrifugation.....h
- Taux de mortalité : ..... %.

## APPENDICE E

### PROCEDURE TECHNIQUE DU TEST ELISA

#### **Matériel :**

- Un kit ELISA BIOTCHEK ILT.
- Un spectrophotomètre TRO LABO ALX 80 muni d'un filtre à 405 nm
- Une étuve MEMMERT réglée à 37°C
- Des micropipettes simples et multicanaux avec des embouts chargeables
- De l'eau distillée
- Les échantillons de sérums à tester
- Des tubes EPPENDORF
- Des plaques ELISA non sensibilisées
- Des pots à prélèvements neufs
- Des pipettes graduées jetables 10 et 20 mL.

#### **Mode opératoire :**

- Dilution du diluant au 1/10e et de la solution de lavage au 1/20e après élévation des réactifs à température ambiante et homogénéisation.
- Dilution des sérums au 1/500e après élévation à température ambiante.
- Remplissage des cupules avec 50 µL des témoins positifs et négatifs non dilués (2 cupules par témoin), puis remplissage des cupules suivantes avec 50 µL des échantillon dilués.
- Incubation pendant 1 h à 37 ± 2°C.
- Lavage renouvelé trois fois (avec 300 µL de solution de lavage par cupule).
- Ajout de 50 µL de la solution de conjugué dans chaque cupule.
- Incubation pendant 1 h à 37 ± 2°C.
- Lavage renouvelé trois fois (avec 300 µL de solution de lavage par cupule).
- Ajout de 50 µL de la solution de substrat dans chaque cupule.
- Incubation pendant 30 mn à 37 ± 2°C et à l'obscurité.
- Ajout de 50 µL de la solution d'arrêt et légère homogénéisation en remuant la plaque.
- Lecture des plaques à 405 nm.

#### **Validation du test :**

Le test est validé si la moyenne des Densités Optiques (DO) des témoins positifs (TP) est supérieure à 4 fois la moyenne des DO des témoins négatifs (TN) et si la moyenne des DO des témoins positifs est supérieure à 0,5.

#### **Calcul des titres :**

Titre=  $10^{\log_{10} \text{ titre}}$

Avec  $\log_{10} \text{ titre} = 1,10 \times \text{Log}_{10} \text{ S/P} + 3,361$

Et  $\text{S/P} = (\text{DO Echantillon} - \text{Moy TN}) / (\text{Moy TP} - \text{Moy TN})$

**APPENDICE F**  
**TABLEAU DE FICHES SIGNALÉTIQUES**

N° de l'élevage	Capacité de l'élevage	Origine des poules	Souche	Programme de vaccination	Taux de production avant accident	Accident de ponte				Symptômes et lésions	Mortalité	Suspicion du véto
						Age au début de CP (Sem)	Durée de CP (Sem)	% de CP	Aspect des œufs			
E1	6000	ORAVIO	TETRA-SL	Etatique	85 %	40	5	65	Décolorés de petites taille	RAS	0.06 %	BI
E2	9000	Privé	ISA brown	Etatique	75 %	64	2	15	Décolorée fragiles	RAS	Normale	Rien
E3	6000	Privé	ISA brown	Privé *	80 %	43	2	13	Fragiles	Paralysies	Normale	Rien
E4	4800	Privé	Lohman	Privé**	80 %	80	3	20	Décolorée fragiles sans coquilles	Respiratoires Rénaux	0.02%	SIGT
E5	28000	ORAC	ISA brown	Privé**	80%	46	4	35	Décolorée fragiles	Respiratoire Rénaux	0.03%	BI
E6	130000	Privé	Lohman	Privé**	85%	25	3	10	Décolorées sans coquilles, fragiles	Lésions de bronchite + rénaux	0.02%	BI
E7	9000	ORAC	Hy-line	Etatique	88%	48	2	12	Hardés, de petite taille, décolorées	RAS	Normale	Rien
E8	5000	ORAVIO	TETRA-SL	Etatique	84%	29	3	10	Décolorées fragiles sans coquilles	Respiratoire MRC Rénaux	Normale	BI

<b>E9</b>	9000	Privé	ISA brown	Privé *	65%	57	3	30	Décolorées fragiles sans coquilles	Diarrhée blanchâtre	3.5%	Alimentaire
<b>E10</b>	4800	ORAC	TETRA-SL	Etatique	85%	45	2	25	Décolorées fragiles	RAS	Normale	Rien
<b>E11</b>	10000	Privé	Hy-line	Privé***	80%	33	4	15	Fragiles	RAS	Normale	Rien
<b>E12</b>	4800	ORAVIO	TETRA-SL	Etatique	75%	29	3	20	Décolorées fragiles sans coquilles	Diarrhée, entérite	Normale	EDS
<b>E13</b>	4800	Privé	Lohman	Privé**	92%	32	3	32	Décolorées , fragiles, sans coquilles	Respiratoire + rénaux	1.2%	BI
<b>E14</b>	4800	Privé	ISA brown	Privé****	88%	39	2	17	Décolorées , fragiles, sans coquilles	Diarrhée + néphrite	1%	BI
<b>E15</b>	7600	Privé	ISA brown	Etatique	94%	29	1	10	Modification du calibre	diarrhée	Normale	Rien

Etatique : Marek,ND, BI, IBD, Variole.

Privé\* : Marek,ND, BI, IBD, Variole, AE, SIGT.

Privé\*\* : Marek,ND, BI, IBD, Variole, EDS.

Privé\*\*\* : Marek,ND, BI, IBD, Variole, AE.

Privé\*\*\*\* : Marek,ND, BI, IBD, Variole, EDS,AE.

**APPENDICE G**  
**RESULTATS SEROLOGIQUES**

Ref	Nbre serum	LTI			
		Moy	% CV	Min	Max
E1S1	15	1 890	66	813	5 161
E1S2	16	3 257	37	1 740	6 070
E2S1	10	5 617	47	1 848	10 495
E2S2	16	3 448	78	712	11 591
E3S1	15	865	54	378	2 193
E3S2	15	2 916	100	460	12 016
E4S1	15	828	62	36	1 730
E4S2	15	725	109	18	3 283
E5S1	15	428	63	135	894
E5S2	15	622	69	100	1 405
E6S1	15	415	80	89	1 168
E6S2	15	247	82	57	935
E7S1	15	1 253	39	721	2 010
E7S2	15	1 706	71	678	4 316
E8S1	15	358	42	102	638
E8S2	15	260	55	78	513
E9S1	15	455	45	174	1 050
E9S2	16	344	60	45	933
E10S1	15	964	60	143	1 846
E10S2	15	778	63	94	1 878
E11S1	15	621	37	274	1 008
E11S2	15	964	109	209	3 742
E12S1	15	469	77	1	1 297
E12S2	15	284	71	70	753
E13S1	15	511	44	254	963
E13S2	15	344	71	123	900
E14S1	15	787	67	114	1 505
E14S2	15	666	105	287	3 101
E15S1	15	216	63	7	629
E15S2	16	295	35	166	198

## REFERENCES

1. Mezouane, "Crise avicole : Diagnostic et mesures à prendre", 1er Symposium National des Sciences Avicoles, (2010).Univ Batna.
2. Johnson, Y.J.; Colby, M.M.; Tablante, N.L, "Application of commercial and backyard poultry geographic information system databases for the identification of risk factors for clinical Infectious laryngotracheitis in a cluster of cases on the Delmarva Peninsula", International Journal of Poultry Science, v. 3, n 3, (2004).
3. Gomes, B., "Planification, mise en œuvre et gestion des mesures de protection de la santé animale contre la Laryngotrachéite infectieuse aviaire dans la région de Bastos", Jaboticabal, Sao Paulo, Brésil, (2008).
4. Heier, B.T., Tharaldsen, J., "The surveillance and control programmes for infectious laryngotracheitis (ILT) and avian rhinotracheitis (ART) in poultry flocks in Norway. In: Mørk T. and Hellberg H. (Eds.), Surveillance and control programmes for terrestrial and aquatic animals in Norway", National Veterinary Institute, Oslo, Norway, Annual report (2004), 113-117.
5. Barhoom, S., "Outbreak of laryngotracheitis (It) in vaccinated commercial layer flocks in palestine. Proc. of 2nd Animal Wealth Research Conf. in the Middle East & North Africa", Cairo International Convention Center, Egypt, 24-26 October (2009), 176-182
6. Kaci A., "La production avicole en Algérie : Opportunités et contraintes", Forum International vétérinaire (Communication, SIPSA), (2007).
7. Fernadji F., "Organisation, performance et avenir de la production avicole en Algérie. Institut de développement des petits élevages", Birkhadem, Algérie, (1990).
8. HARBI R., "L'aviculture Algérienne, dynamique de transformation et comportement des acteurs", Thèse de master, IAMM, (1997).
9. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (2006). Rapport annuel.
10. Guérin J, Molette C, "Filière poules pondeuses", ENV Toulouse, (2005).
11. Amghrous S., Kheffache H., "L'aviculture algérienne en milieu rural, quel devenir après la libéralisation des échanges ? Cas des régions d'Aflou et de Freha", Mediterranean Conference of Agro-Food Social Scientists, Barcelona, Spain, April 23rd - 25th, 2007.
12. Nouad M.A, "Les expériences dans la filière avicole", Magvet N° 64, (2010), 17-18.

13. Boukersi B., "Le secteur avicole est très fragilisé" Président du directoire du groupe ONAB, (2006).
14. Office international des épizooties, "Chapter : 2.3.3 Avian infectious laryngotracheitis" in : OIE terrestrial manuel, (2008).
15. Guy JS, Bagust TJ., "Laryngotracheitis", In Diseases of poultry, 11th Ed. ( Y.M. Saif with H.J. Barnes, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald and D.E. Swayne, eds). Iowa State University Press, Ames.(2003),121-134.
16. Shan-Chia Ou, "Improved Detection and Control of Infectious Laryngotracheitis Virus on Poultry Farms". Auburn University. Alabama. (2010).
17. May, H. G. and Tittsler R. P., "Tracheo-laryngotracheitis in poultry", *J Am Vet Med Assoc* 67 (1925) :229—231.
18. Beach, J. R., "Infectious bronchitis of fowls", *J Am Vet Med Assoc* 68, (1926), 570-580.
19. Beach, J. R., "The virus of laryngotracheitis of fowls", *Science* 72, (1930), 633-634.
20. Hinshaw, W. R., "A survey of infectious laryngotracheitis of fowls", *Calif Agric Exp Stn Bull* 520, (1931), 1-36.
21. Beaudette, F. R., "Infectious laryngotracheitis", *Poult Sci* 16, (1937),103-105.
22. Cruickshank, J. G., Berry, D. M., and Hay, B., "The fine structure of infectious laryngotracheitis virus", *Virology* 20, (1963), 376-378.
23. Kirkpatrick, N.C. *et al.*, "Differentiation of infectious laryngotracheitis virus isolates fragment length polymorphic analysis of polymerase chain reaction products amplified from multiple genes". *Avian Diseases*, v. 50, n. 1, (2006), 28-33.
24. Saepulloh M., "Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILT) isolates from outbreaks cases". *JITV* 9(1), (2004), 26-36.
25. Callison S.A, S.M. Riblet, I. Oldoni, S. Sun, G. Zavala, S. Williams, R.S. Resurreccion, E. Spackmand, M. Garcia, "Development and validation of a real-time Taqman® PCR assay for the detection and quantitation of infectious laryngotracheitis virus in poultry" *Journal of Virological Methods* 139, (2007), 31–38.
26. Seddon, H.R.; Hart, L. "The occurrence of ILT in fowls in New South Wales", *Australian Veterinary Journal*, v.11, (1935), 212-222.

27. Brandly, C. A. "Studies on the egg-propagated viruses of infectious laryngotracheitis and fowl pox", *J Am Vet Med Assoc* 88, (1936), 587—599.
28. Tablante, N.L. and C. Hodgson, "An Unusual Outbreak of Infectious Laryngotracheitis in an Urban Backyard Flock in Maryland", *Proceedings of the 81th Northeastern Conference on Avian Diseases- Granville, PA, USA*, (2009).
29. Ebrahimi M.M., Pourbakhsh S.A., Shahsavandi, S., Momayez, R. and Gholami, M.R., "Isolation and Identification of Infectious Laryngotracheitis Virus from Commercial Flocks of Iran Using Various Techniques", *Arch. Razi Ins.* 56, (2003), 11-22.
30. Johnson, Y.J.; Colby, M.M.; Tablante, N.L., "Application of commercial and backyard poultry geographic information system databases for the identification of risk factors for clinical Infectious laryngotracheitis in a cluster of cases on the Delmarva Peninsula", *International Journal of Poultry Science*, v. 3, n.3, (2004).
31. Bagust, T. J., B. W. Calnek, and K. J. Fahey., "Gallid-1 herpesvirus infection in the chicken. 3. Reinvestigation of the pathogenesis of infectious laryngotracheitis in acute and early post-acute respiratory disease", *Avian Dis* 30, (1986), 179—190.
32. Hitchner, S. B., Fabricant, J., and Bagust, T. J., "A fluorescent-antibody study of the pathogenesis of infectious laryngotracheitis", *Avian Dis.* 21, (1977), 185-194.
33. Winterfield, R. W. and I. G. So., "Susceptibility of turkeys to infectious laryngotracheitis", *Avian Dis* 12, (1968), 191—202.
34. Portz, C., Beltrao, N., Furian, T. Q., Junior, A. B., Macagnan, M., Griebeler, J., Rosa, C. A. V. L., Colodel, E. M., Driemeier, D., Back, A., Schatzmayr, O. M. B., and Canal, C. W., "Natural infection of turkey by infectious laryngotracheitis virus", *Vet. Microbiol.* 131, (2008), 57-64.
35. Beach, J. R., "A filterable virus, the cause of infectious laryngotracheitis of chickens", *J Exp Med* 54, (1931), 809—816.
36. Yamada, S., K. Matsuo, T. Fukuda, and Y. Uchinuno. 1980. Susceptibility of ducks to the virus of infectious laryngotracheitis.
37. Bagust, T.J., Jones, R.C., and Guy, J. S., "Avian infectious laryngotracheitis", *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 19 (2), (2000), 483-492.
38. Guy, J. S. and Garcia, M., "Laryngotracheitis" In: Saif, Y. M., Fadly, A. M., Glisson, J. R., McDaugald, L.R., Nolan, L.K., Swayne, D. E. (Eds.), *Diseases of Poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, (2008), 137-152.

39. Robertson, G. M. and J. R. Egerton., "Replication of infectious laryngotracheitis virus in chickens following vaccination", *Aust Vet J* 57, (1981), 119-123.
40. Bagust, T. J., "Laryngotracheitis (Gallid-1) herpesvirus infection in the chicken. 4. Latency establishment by wild and vaccine strains of ILT virus", *Avian Pathol* 15, (1986), 581—595.
41. Williams, R. A., Bennett, M., Bradbury, J.M., Gaskell, R. M., Jones, R. C., and Jordan, F. T. W., "Demonstration of sites of latency of infectious laryngotracheitis virus using the polymerase chain reaction", *J. Gen. Virol.* 73, (1992), 2415-2430.
42. Davison, A. J., Eberle, R., Hayward, G. S., McGeoch, D. J., Minson, A. C., Pellett, P. E., Roizman, B., Studdert, M. J., and Thiry, E., "Herpesviridae" In: Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., and Ball, L. A. (Eds.), *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press, San Diego, (2005), 193-212.
43. Roizman, B., "The family Herpesviridae: General description, taxonomy and classification" In B. Roizman (ed.). *The herpesviruses*, vol. 1. Plenum Press: New York, (1982), 1—23.
44. McGeoch, D. J., Dolan, A., and Ralph, A. C., "Toward a comprehensive phylogeny for mammalian and avian herpesviruses", *J. Virol.* 74, (2000), 10401-10406.
45. McGeoch, D. J., Rixon, F. J., and Davison, A. J., "Topics in herpesvirus genomics and evolution", *Virus Res.* 117, (2006), 90-104.
46. Watrach, A. M., L. E. Hanson, and M. A. Watrach., "The structure of infectious laryngotracheitis virus", *Virology* 21, (1963), 601—608.
47. James S. Guy and Trevor J. Bagust, "Laryngotracheitis" in : SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*, 12th Edition. Ames, Iowa : Blackwell Publishing Ltd, (2008), 121-134.
48. Plummer, G., C. R. Goodheart, D. Henson, and C. P. Bowling., "A comparative study of the DNA density and behavior in tissue culture of fourteen different herpesviruses", *Virology* 39, (1969), 134—137.
49. Kotiw, M., C. R. Wilks, and J. T. May., "Differentiation of infectious laryngotracheitis virus strains using restriction endonucleases", *Avian Dis* 26, (1982), 718—731.
50. Lieb, D. A., J. M. Bradbury, R. M. Gaskell, C. S. Hughes, and R. C. Jones., "Restriction endonuclease patterns of some European and American isolates of infectious laryngotracheitis virus", *Avian Dis* 30, (1986), 835—837.

51. Johnson, M. A., C. T. Prideaux, K. Kongsuwan, M. Sheppard, and K. J. Fahey., "Gallid herpesvirus 1 (infectious laryngotracheitis virus): Cloning and physical maps of the SA-2 strain", *Arch Virol* 119, (1991), 181—198.
52. Lieb, D. A., J. M. Bradbury, C. A. Hart, and K. McCarthy. "Genome isomerism in two alphaherpesviruses: Herpes saimiri-1 (herpesvirus tamarinus) and avian infectious laryngotracheitis virus", *Arch Virol* 93, (1987), 287—294.
53. Griffin, A. M. and M. E. G. Bournnell., "Analysis of the nucleotide sequence of DNA from the region of the thymidine kinase gene of infectious laryngotracheitis virus: Potential evolutionary relationships between the herpesvirus subfamilies", *J Gen Virol* 71, (1990), 841—850.
54. Keeler, C. L., D. H. Kingsley, and C. R. A. Burton., "Identification of the thymidine kinase gene of infectious laryngotracheitis virus", *Avian Dis* 35, (1991), 920—929.
55. York, J. J., S. Sonza, M. R. Brandon, and K. J. Fahey., "Antigens of infectious laryngotracheitis herpesvirus defined by monoclonal antibodies", *Arch Virol* 115, (1990), 147—162.
56. York, J. J., S. Sonza, and K. J. Fahey., "Immunogenic glycoproteins of infectious laryngotracheitis herpesvirus", *Virology* 161, (1987), 340-347.
57. York, J. J. and K. J. Fahey., "Humoral and cell-mediated immune responses to the glycoproteins of infectious laryngotracheitis herpesvirus", *Arch Virol* 115, (1990), 289—297.
58. Bagust, T. J. and M. A. Johnson., "Avian infectious laryngotracheitis: Virus-host interactions in relation to prospects for eradication", *Avian Pathol* 24, (1995), 373—391.
59. Prideaux, C. T., K. Kongsuwan, M. A. Johnson, M. Sheppard, and K. J. Fahey., "Infectious laryngotracheitis virus growth, DNA replication, and protein synthesis", *Arch Virol* 123, (1992), 181—192.
60. Roizman, B. and A. E. Sears., "Herpes Simplex Viruses and Their Replication" In B.N. Fields (ed.). *Virology*. Raven Press: New York, (1990), 9—35.
61. Honess, R. W. and B. Roizman., "Regulation of herpesvirus macromolecular synthesis. I. Cascade regulation of the synthesis of three groups of viral proteins", *J Virol* 14, (1974), 8—19.
62. Ben-Porat, T. and S. Tokazewski., "Replication of herpesvirus DNA. II. Sedimentation characteristics of newly synthesized DNA", *Virology* 79, (1977), 292—301.

63. Meulemans, G. and P. Halen., "Some physiochemical and biological properties of a Belgian strain (U 76/1035) of infectious laryngotracheitis virus", *Avian Pathol* 7, (1978), 311—315.
64. Cover, M. S. and W. J. Benton., "The biological variation of infectious laryngotracheitis virus", *Avian Dis* 2, (1958), 375—383.
65. Neighbour, N. K., L. A. Newberry, G. R. Bayyari, J. K. Skeeles, J. N. Beasley, and R. W. McNew., "The effect of microaerosolized hydrogen peroxide on bacterial and viral pathogens", *Poult Sci* 73, (1994), 1511—1516.
66. Shibley, G. P., R. E. Luginbuhl, and C. F. Helmboldt., "A study of infectious laryngotracheitis virus. I. Comparison of serologic and immunogenic properties", *Avian Dis* 6, (1962), 59—71.
67. Russell, R. G. and A. J. Turner., "Characterization of infectious laryngotracheitis viruses, antigenic comparison of neutralization and immunization studies", *Can J Comp Med* 47, (1983), 163—171.
68. Jordan, F. T. W., "A review of the literature on infectious laryngotracheitis", *Avian Dis* 10, (1966), 1—26.
69. Izuchi, T. and A. Hasagawa., "Pathogenicity of infectious laryngotracheitis virus as measured by chicken embryo inoculation", *Avian Dis* 26, (1982), 18-25.
70. Guy, J. S., H. J. Barnes, L. L. Munger, and L. Rose., "Restriction endonuclease analysis of infectious laryngotracheitis viruses: Comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates", *Avian Dis* 33, (1989), 316—323.
71. Jorge Luis Chaçon, Antonio J. Piantino Ferreira., "Differentiation of field isolates and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus by DNA sequencing", *Vaccine* 27, (2009), 6731—6738.
72. Eva Nagy., "Detection of Infectious Laryngotracheitis Virus Infected Cells with Cloned DNA Probes", *Can J Vet Res*; 56, (1992), 34-40.
73. Julie L. Creelan, Viola M. Calvert, David A. Graham and Samuel J. McCullough., "Rapid detection and characterization from field cases of infectious laryngotracheitis virus by real-time polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism", *Avian Pathology* : 35(2), (2006), 173-179.
74. Myong Guk Han, Sun Joong Kim., "Analysis of Korean strains of ILV by nucleotide sequences and RFLP", *Veterinary microbiology* 83, (2001), 321-331.
75. Andreasen, J. R., J. R. Glisson, and P. Villegas., "Differentiation of vaccine strains and Georgia field isolates of infectious laryngotracheitis virus by

- their restriction endonuclease fragment patterns”, *Avian Dis* 34, (1990), 646—656.
76. Keeler, C. L., J. W. Hazel, J. E. Hastings, and J. K. Rosenberger., “Restriction endonuclease analysis of Delmarva field isolates of infectious laryngotracheitis virus”, *Avian Dis* 37, (1993), 418—426.
77. Oldoni Ivomar, Andre’s Rodrí’guez-Avila, Sylva M. Riblet, Guillermo Zavala and Maricarmen Garcí’a, “ Pathogenicity and growth characteristics of selected infectious laryngotracheitis virus strains from the United States”, *Avian Pathology* (February 2009) 38(1), 47\_53.
78. Ojkic, D.; Swinton, J.; Vallieres, M. et al., “Characterization of field isolates of infectious laryngotracheitis virus from Ontario”, *Avian Pathology*. v.35, n. 4, (2006), 286.
79. Kernohan, G., “Infectious laryngotracheitis in fowls”, *J Am Vet Med Assoc* 78, (1931), 196—202.
80. Benton, W. J., M. S. Cover, and L. M. Greene., “The clinical and serological response of chickens to certain laryngotracheitis viruses”, *Avian Dis* 2, (1958), 383—396.
81. Jordan, F. T. W., “Further observations of the epidemiology of infectious laryngotracheitis of poultry”, *J Comp Pathol* 73, (1963), 253—264.
82. Sherrill davison., “laryngotrachéite“ *In «maladies respiratoires des volailles» Pr. J Brugère-Picoux et al*, (2009), 14-15.
83. Tahseen aziz., “Infectious Laryngotracheitis (ILT) targets broilers”, Rollins Animal Disease Diagnostic Laboratory, North Carolina Department of Agriculture and Consumer Service, Raleigh, NC, USA, (2010).
84. Linares, J. A., A. A. Bickford, G. L. Cooper, B. R. Charlton, and P. R. Woolcock., “An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers”, *Avian Dis* 38, (1994), 188—192.
85. Hanson, L.E and Bagust T.J., “Laryngotracheitis” *In: Diseases of Poultry*, 9th ed, B.W. Calnek, ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa. (1991), 485-495.
86. Purcell, D. A. and J. B. McFerran., “Influence of method of infection on the pathogenesis of infectious laryngotracheitis”, *J Comp Path* 79, (1969), 285—291.
87. Jame., “Infectious laryngotracheitis“ *in: Atlas of avian diseases.* <http://partnersah.vet.cornell.edu/avian-atlas/search/disease/499>.
88. VanderKop, M. A., “Infectious laryngotracheitis in commercial broiler chickens”, *Can Vet J* 34, (1993), 185.

89. Guy, J. S., H. J. Barnes, and L. G. Smith., "Rapid diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure", *Avian Pathol* 21, (1992), 77—86.
90. Jordan, F. T. W., "Immunity to infectious laryngotracheitis" In M. E. Ross, L. N. Payne, and B. M. Freeman (eds.). *Avian Immunology*. British Poultry Science Ltd.: Edinburgh, Scotland, (1981), 245—254.
91. Adair B.M., Todd D., Mckillop E.R. & Burns K., "Comparison of serological tests for the detection of antibodies to infectious laryngotracheitis virus", *Avian Pathol.* 14, (1985), 461-469.
92. York, J. J., J. G. Young, and K. J. Fahey., "The appearance of viral antigen and antibody in the trachea of naive and vaccinated chickens infected with infectious laryngotracheitis virus", *Avian Pathol* 18, (1989), 643—658.
93. Fahey, K. J. and J. J. York., "The role of mucosal antibody in immunity to infectious laryngotracheitis virus in chickens", *J Gen Virol* 71, (1990), 2401—2405.
94. Fahey, K. J., J. J. York, and T. J. Bagust., "Laryngotracheitis herpesvirus infection in the chicken. II. The adoptive transfer of resistance to a graded challenge infection", *Avian Pathol* 13, (1984), 265—275.
95. Fahey, K. J., T. J. Bagust, and J. J. York., "Laryngotracheitis herpesvirus infection in the chicken: The role of humoral antibody in immunity to a graded challenge infection", *Avian Pathol* 12, (1983), 505—514.
96. Benton, W. J., M. S. Cover, and W. C. Krauss., "Studies on parental immunity to infectious laryngotracheitis of chickens", *Avian Dis* 4, (1960), 491—499.
97. Tripathy, D. N. and L. E. Hanson. "Laryngotracheitis" In H. G. Purchase, L. H. Arp, C. H. Domermuth, and J. E. Pearson, (eds.). *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 3rd ed. American Association of Avian Pathologists: Kennett Square, PA, (1989), 85—88.
98. Keam L., York J.J., Sheppard M. & Fahey K.J., "Detection of infectious laryngotracheitis virus in chickens using a non-radioactive DNA probe", *Avian Dis.* 35, (1991), 257-262.
99. York J.J. & Fahey K.J., "Diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody ELISA", *Avian Pathol.*, 17, (1988), 173—182.
100. York J.J. & Fahey K.J., "Diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody ELISA", *Avian Pathol.*, 17, (1988), 173—182.
101. Williams, RA, Savage CE, and Jones RC., "A comparison of direct electron microscopy, virus isolation, and a DNA amplification method for the

detection of avian infectious laryngotracheitis virus in field material”, *Avian Pathol.* 23, (1994), 709-720.

102. Oldoni, I., Rodríguez-Avila, A., Riblet, S., and García, M., “Characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) isolates from commercial poultry by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)”, *Avian Dis.* 52, (2008), 59-63.
103. Chacón JLV, Brandão PEB, Villarreal LYB, Gama NM, Ferreira AJP, “Survey of Infectious Laryngotracheitis Outbreak in Layer Hens and Differential Diagnosis with other Respiratory Pathogens”, *Brazilian Journal of Poultry Science.* v.9 / n.1, (2007), 61 – 67.
104. Gerald Ollis, “Infectious laryngotracheitis in poultry”, *Agri-Facts*, (2008).
105. Eric N. Gingerich and Sherrill Davison., “Current practices to control infectious Laryngotracheitis in the U.S”, *Northeastern Conference on Avian Diseases*, (2005), 37-39.
106. Brandly, C. A. and L. D. Bushnell., “A report of some investigations of infectious laryngotracheitis”, *Poult Sci* 13, (1934), 212—217.
107. Molgard, P. C. and J. W. Cavett., “The feather follicle method of vaccinating with fowl laryngotracheitis vaccine”, *Poult Sci* 26, (1947), 263—267.
108. Sinkovic, B. and S. Hunt., “Vaccination of day-old chickens against infectious laryngotracheitis by conjunctival instillation”, *Aust Vet J* 44, (1968), 55—57.
109. Hilbink F, Th. Smit and H. Yadin., “Drinking Water Vaccination against Infectious Laryngotracheitis”, *Can. J. comp. Med.* 45, (1981), 120-123.
110. Gelenczei, E. F. and E. W. Marty., “Strain stability and immunologic characteristics of a tissue-culture modified infectious laryngotracheitis virus”, *Avian Dis* 9, (1965), 44—56.
111. Izuchi, T., A. Hasegawa, and T. Miyamoto., “Studies on the live virus vaccine against infectious laryngotracheitis of chickens. II. evaluation of the tissue-culture-modified strain C7 in laboratory and field trials”, *Avian Dis* 28, (1984), 323—330.
112. Samberg, Y. and I. Aronovici., “The development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis. I. Modification of a laryngotracheitis virus”, *Refu Vet* 26, (1969), 54—59.
113. Hitchner, S. B., “Virus concentration as a limiting factor in immunity response to laryngotracheitis vaccines”, *J Am Vet Med Assoc* 154, (1969), 1425.

114. Purcell, D. A. and P. G. Surman., "Aerosol administration of the SA-2 vaccine strain of infectious laryngotracheitis virus", *Aust Vet J* 50, (1974), 419—420.
115. Clarke, J. K., G. M. Robertson, and D. A. Purcell., "Spray vaccination of chickens using infectious laryngotracheitis virus", *Aust Vet* 56, (1980), 424—428.
116. Andreasen, J. R., Jr., J. R. Glisson, M. A. Goodwin, R. S. Resurreccion, P. Villegas, and J. Brown., "Studies of infectious laryngotracheitis vaccines: Immunity in layers", *Avian Dis* 33, (1989), 524—530.
117. Hilbink, F. W., H. L. Oei, and D. J. van Roozelaar., "Virulence of five live virus vaccines against infectious laryngotracheitis and their immunogenicity and spread after eyedrop or spray application", *Vet Q* 9, (1987), 215—225.
118. Samberg, Y., E. Cuperstein, U. Bendheim, and I. Aronovici., "The development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis. IV. Immunization of chickens with modified laryngotracheitis vaccine in the drinking water", *Avian Dis* 15, (1971), 413—417.
119. Picault, J. P., M. Guittet, and G. Bennejean., "Innocuite et activite de differents vaccins de la laryngotracheite infectieuse aviaire", *Avian Pathol* 11, (1982), 39—48.
120. Guy, J. S., H. J. Barnes, and L. G. Smith., "Increased virulence of modified live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. *Avian Dis* 35, (1991), 348—355.
121. Barhoom, S. A., A. Forgacs, and F. Solyom., "Development of an inactivated vaccine against laryngotracheitis (ILT) serological and protection studies", *Avian Pathol* 15, (1986), 213—221.
122. Guo, P., E. Scholz, B. Maloney, and E. Welniak., "Construction of recombinant avian infectious laryngotracheitis virus expressing the galactosidase gene and DNA sequencing of the insertion region", *Virology* 202, (1994), 771—781.
123. Okamura, H., M. Sakaguchi, T. Honda, A. Taneno, K. Matsuo, and S. Yamada., "Construction of recombinant laryngotracheitis virus expressing the lac-Z gene of *E. coli* with thymidine kinase gene", *J Vet Med Sci* 56, (1994), 799—801.
124. Han M G, C. H. Kweon, I. P. Mo, and S. J. Kim., "Pathogenicity and vaccine efficacy of a thymidine kinase gene deleted infectious laryngotracheitis virus expressing the green fluorescent protein gene", *Arch Virol* 147, (2002), 1017—1031.

125. Schnitzlein, W. M., J. Radzevicius, and D. N. Tripathy., "Propagation of infectious laryngotracheitis virus in an avian liver cell line", *avian Dis* 38, (1994), 211—217.
126. Saif, Y. M., J. K. Rosenberger, S. S. Cloud, M. A. Wild, J. K. McMillen, and R. D. Schwartz., "Efficacy and safety of a recombinant herpesvirus of turkeys containing genes from infectious laryngotracheitis virus", *Proc Am Vet Med Assoc: Minneapolis, MN*, (1994), 154.
127. Keeler C Jr, Poulsen D, Robinson H, Santoro J, Thureen D., "Immunization of chickens with gene (DNA) vaccines", 132nd Annual Meeting of the AVMA. Pittsburgh, PA, (1995), 143.
128. Devlin J. M, G. F. Browning, J. R. Gilkerson, S. P. Fenton and C. A. Hartley., "Comparison of the safety and protective efficacy of vaccination with glycoprotein-G-deficient infectious laryngotracheitis virus delivered via eye-drop, drinking water or aerosol", *Avian Pathology*, 37(1), (February 2008), 3\_88.
129. Alls, A. A., J. R. Ipson, and W. D. Vaughan., "Studies on an ocular infectious laryngotracheitis vaccine", *Avian Dis* 13, (1969), 36—45.
130. Cover, M. S., W. J. Benton, and W. C. Krauss., "The effect of parental immunity and age on the response to infectious laryngotracheitis vaccination", *Avian Dis* 4, (1960), 467—473.
131. Fulton, R. M., D. L. Schrader, and M. Will., "Effect of route of vaccination on the prevention of infectious laryngotracheitis in commercial egg-laying chickens", *Avian Dis* 44, (2000), 8—16.
132. Tripathy, D.N. and Hanson, L.E., "Laryngotracheitis" In: *Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 2nd Edition, pp. 88-90. Edited by Hitchner, S.B., Domermuth, C.H., Purchase, H.G. and Williams, J.E., College Station, Texas: American Association of Avian Pathologists, (1980).
133. Jordan F.T.W. & Chubb R.C., "The agar gel diffusion technique in the diagnosis of infectious laryngotracheitis (ILT) and its differentiation from fowl pox", *Res. Vet. Sci.*, 3, (1962), 245—255.
134. Piroird, R. and Lombard, M., "Les méthodes immuno-enzymatiques et leurs applications sérologiques", *Revue de Médecine Vétérinaire*, 131, (1980), 25-42.
135. Bassignot, A. "Diagnostic des infections virales", *Cours DCEM 1*, (2003).
136. Bauer, J. E. Lohr & E. F. Kaleta., "Comparison of commercial ELISA test kits from Australia and the USA with the serum neutralization test in cell

cultures for the detection of antibodies to the infectious laryngotracheitis virus of chickens”, *Avian Pathology* : 28, (1999), 65-72.

137. York, J.J. and K.J. Fahey., “Diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody ELISA”, *Avian Path.* 17, (1988), 173-182.
138. Ebrahimi, M.M., Shahsavandi, S. Pourbakhsh, S.A., and Gholami, M.R. 2001. Outbreak of Infectious Laryngotracheitis Following Vaccination in Pullet Flock. *Arch. Razi Ins.* (2001), 52.
139. Woernle, H. & Brunner , A., “Prazipitationstest zur Diagnose der infektiösen Laryngotracheitis des Huhnes“, *Tierärztliche Umschau*, 16, (1961), 245-246.
140. Buken, B., “Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Laryngotracheitis des Huhnes im Rahmen eines Feld versuches sowie Seren von Hühnern aus den Jahren 1978 bis 1980“, *Veterinarmedizinische Dissertation, Hannover*, (1982).
141. Fuchs, B., Boddecker, G. & Bu low, V., von. “Vergleichende serologische Untersuchungen über Methoden zum Nachweis von Antikörpern bei der infektiösen Laryngotracheitis (ILT) der Hühner“, *Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift*, 98, (1985), 261-266.
142. Engvall, E. & Perlman, P., “Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III.Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes”, *Journal of Immunology*, 109, (1972), 129-135.
143. Hughes C.S. & Jones R.C., “Comparison of methods of isolation of infectious laryngotracheitis from field material”, *Avian Pathol.*, 17, (1988), 295–303.
144. Roy D. Montgomery, Danny L. Magee, James A.Watson, Sue A. Hubbard, Floyd D.Wilson, Timothy S. Cummings, G. Lynne Luna, William R. Maslin, C. Reagan Sadler, Danny L. Thornton., “An Episode of Infectious Laryngotracheitis Affecting Mississippi Broiler-Breeders and Broilers in 2002-2003”, *Bulletin 1160. Mississippi State University*, (2007).
145. Van Kammen A. & Spadbrow P.B., “Rapid diagnosis of some avian virus diseases”, *Avian Dis.*, 20, (1976), 748–751.
146. Braune M.O. & Gentry R.F., “Standardization of the fluorescent antibody technique for the detection of avian respiratory viruses”, *Avian Dis.*, 9, (1985), 535–545.
147. Wilks C.R. & Kogan V.G., “An immunofluorescence diagnostic test for avian infectious laryngotracheitis”, *Aust. Vet. J.*, 55, (1979), 385–388.
148. Scholz E., Porter R.E. & Guo P.X., “Differential diagnosis of infectious laryngotracheitis from other avian respiratory diseases by a simplified PCR procedure”, *J.virol.Methods*, 50, (1994), 313–321.

149. Armstrong W.H., "A slide smear technique for the diagnosis of laryngotracheitis", *Avian Dis.*, 3, (1959), 80–84.
150. Keam, L et al., "Detection of infectious laryngotracheitis virus in chickens using a nonradioactive DNA probe", *Avian Dis.* 35, (1991), 257-262.
151. Key D.W., Gough B.C., Derbyshire J.B. & Nagy E., "Development and evaluation of a non-isotypically labeled DNA probe for the diagnosis of infectious laryngotracheitis", *Avian Dis.*, 38, (1994), 467–474.
152. Alexander H.S. & Nagy E., "Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens", *Avian Dis.*, 41, (1997), 646–653.
153. Chang P.C., Lee Y.L., Shien J.H. & Shieh H. K., "Rapid differentiation of vaccine strains and field isolates of infectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism of PCR products", *J. Virol. Methods*, 66, (1997), 179–186.
154. Han M.G. & Sim S.J., "Analysis of Korean strains of infectious laryngotracheitis virus by nucleotide sequences and restriction fragment length polymorphism", *Vet. Microbiol.*, 83, (2001), 321–331.
155. Alem j., al-mamun,m., samad,m.a., rahamat ullah,m.,giasuddin m.,taimur,m.j.f.a., "Outbreak of egg drop syndrome in bangladesh. International journal of biology.vol.1, no. 1. (2009).
156. Vanmarcke J., "les principaux facteurs responsables des chutes de ponte", *Afrique aviculture-N°250*, (1997), 58-60.
157. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénet J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A., "Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures", (2001).
158. Villate D., "Maladies des volailles", 2ème édition. Editions France Agricole. (2001), 318-330.
159. Lagoutte F., "Syndromes « chute de ponte » chez la cane pékin reproductrice mère de mulards : étude épidémiologique", Thèse : 2010 – TOU 3 – 4023.ENV Toulouse, (2010).
160. Anonyme., "Les chutes de ponte in <http://basse-cour-et-voliere.over-blog.com/article-25693399.html>. (2010).
161. Ledoux A., "Bronchite infectieuse : évolution des souches en Europe et impact de cette évolution sur l'efficacité des vaccins. In groupe chène vert : la pathologie des volailles passée au crible", RIPPA. (2008).

162. Guérin J., "La bronchite infectieuse", Avicompus.ENV Toulouse, (2007).
163. Corrand P., "Evaluation de l'efficacité de souches vaccinales contre un variant de la bronchite infectieuse aviaire isolé au Québec", *Thèse* : 2008 – TOU 3 – 4098. ENV Toulouse, (2008).
164. Calnek, B. W., H. J. Barnes, C. W. Beard, W. M. Reid and H. W. Y. Junior., "Diseases of Poultry", 9th Ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, USA, (1991), 573-582.
165. McFerran, J.B., Adair, B.M., "Egg drop syndrome" In: Y. M. Saif, (Ed), Diseases of Poultry, 11th Ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, USA, (2003), 227-237.
166. Meksoud-Taibi M, Benzadi O., "Rôle des laboratoires dans le contrôle en aviculture", 3èmes Journées d'Epidémiologie Animale, Blida. (2010).
167. Dridi A., "Les chutes de ponte : étiologies et moyens de diagnostic", MEDIVET, (2010).