



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Revue bibliographique sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

Présenté par

Semmoud Mohammed Abdessamie

Devant le jury :

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

Année : 2020/2021

Remerciements

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

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

Chaleureux remerciement.

Je remercie :

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

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

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

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

Dédicaces

J'exprime mon éternelle gratitude envers :

Ma mère bien-aimée

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

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

Mon très cher père

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

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

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

Mes amis, frères et collègues Amine, Takfarinas, Housseem, Bilal et toute la promotion 2016

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

Résumé

La laryngotrachéite infectieuse (LTI) est une maladie des voies respiratoires supérieures hautement contagieuse du poulet. La maladie se caractérise par une morbidité élevée, une mortalité considérable et une diminution de la production d'œufs. Les poulets infectés de manière latente sont la principale source d'épidémies du virus LTI (VLTl), indépendamment de la vaccination. Outre les méthodes de diagnostic conventionnelles, notamment l'isolement et l'identification du VLTl, la détection sérologique, les outils biotechnologiques avancés tels que la PCR, la PCR quantitative en temps réel, le séquençage de nouvelle génération, et d'autres outils sont utilisés dans le diagnostic précis et les études épidémiologiques du VLTl.

La vaccination est réalisée par des vaccins conventionnels, notamment des vaccins VLTl vivants atténués modifiés et des vaccins à vecteurs recombinants avancés exprimant différentes glycoprotéines du VLTl, mais ces candidats ne parviennent toujours pas à réduire l'excrétion du virus d'épreuve. Certains composants à base de plantes se sont avérés bénéfiques pour réduire la gravité de la maladie clinique.

Ce travail a pour objectif d'étudier la dynamique du virus LTI tout en se focalisant sur son statut actuel, ses caractéristiques virales, son épidémiologie, sa pathobiologie et les progrès des stratégies de diagnostic, de vaccination et de contrôle pour lutter contre cette importante maladie de la volaille.

Mots clés : laryngotrachéite, diagnostic, épidémiologie, vaccination

ملخص

لرانتقركيبب (LTI) هو مرض شديد العدوى يصيب الجهاز التنفسي العلوي للدجاج. يتسم المرض بارتفاع معدلات الاعتلال ونفوق كبير وانخفاض إنتاج البيض. الدجاج المصاب بالعدوى الكامنة هو المصدر الرئيسي لتفشي فيروس (LTI)، بغض النظر عن التطعيم. بالإضافة إلى طرق التشخيص التقليدية بما في ذلك عزل وتحديد VLTI والكشف المصلي وأدوات التكنولوجيا الحيوية المتقدمة مثل PCR و PCR الكمي في الوقت الحقيقي وتسلسل الجيل التالي وغيرها. في التشخيص الدقيق والدراسات الوبائية لـ VLTI.

يتم التطعيم عن طريق استخدام اللقاحات التقليدية، بما في ذلك لقاحات VLTI الحية الموهنة المعدلة ولقاحات ناقلات المؤتلف المتقدمة التي تعبر عن بروتينات سكرية مختلفة من VLTI، لكن هؤلاء المرشحين لا يزالون يفشلون في تقليل تحدي تساقط الفيروس. ثبت أن بعض المكونات العشبية مفيدة في تقليل شدة المرض السريري.

الهدف من هذا العمل هو دراسة فيروس LTI من حيث وضعه الحالي، وخصائصه، وانتقاله، والبيولوجيا المرضية المتعلقة بهذا الفيروس، والتقدم في استراتيجيات التشخيص والتحصين والمكافحة للقضاء على هذا المرض المهم الذي يصيب الدواجن.

الكلمات المفتاحية: لرانتقركيبب، التشخيص، علم الأوبئة، التطعيم

Abstract

Infectious laryngotracheitis (ILT) is a highly contagious disease of the chicken upper respiratory tract. Irrespective of vaccination, latently infected birds are the primary source of ILT virus (ILTV) outbreaks. Apart from conventional diagnostic methods including isolation and identification of ILTV, serological detection, advanced biotechnological tools such as PCR, quantitative real-time PCR, next generation sequencing, and others are being used in accurate diagnosis and epidemiological studies of ILTV.

Vaccination is carried out using the conventional vaccines including modified live attenuated ILTV vaccines, and advanced recombinant vector vaccines expressing different ILTV glycoproteins, but still these candidates frequently fail to reduce challenge virus shedding. Some herbal components have proved to be beneficial in reducing the severity of the clinical disease.

The objective of this work is to study the LTI virus with regard to its current status, virus characteristics, epidemiology, transmission, pathobiology, and advances in diagnosis, vaccination and control strategies to counter this important disease of poultry.

Keywords: Laryngotracheitis, diagnostic, epidemiology, vaccination

TABLE DES MATIERES

Introduction	1
Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire	3
I.1 Généralités	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2 Historique	3
I.1.3 Importance économique	3
I.2 Epidémiologie	4
I.2.1 Epidémiologie descriptive	4
I.2.2 Epidémiologie analytique	4
I.2.2.1 Espèces affectées	4
I.2.2.2 Transmission du virus	4
I.3 Etiologie	6
I.3.1 Classification du virus	6
I.3.2 Morphologie du virus	6
I.3.3 Composition chimique du virus	7
I.3.4 Réplication virale	8
I.3.5 Sensibilité aux agents chimique et physique	9
I.3.6 Classification des souches virales	10
I.3.6.1 Antigénicité	10
I.3.6.2 Pathogénicité	11
I.3.6.3 Classification moléculaire	11
I.4 Pathogenèse	11
I.5 Etude clinique	12
I.5.1 Forme suraiguë	12
I.5.2 Forme aiguës	13
I.5.3 Forme chronique	13
I.6 Lésions	15
I.6.1 Lésions macroscopiques	15
I.6.2 Lésions microscopiques	16
I.7 Réponse immunitaire	18
I.7.1 Immunité active	18
I.7.2 Immunité passive	18
Chapitre II : Diagnostic et méthodes de lutte	19
II.1 Introduction	19

II.2 Diagnostic clinique et nécropsique.....	19
II.3 Diagnostic différentiel.....	19
II.4 Diagnostic de laboratoire.....	20
II.5 Outils du diagnostic de laboratoire de la LTI.....	20
II.5.1 Identification de l'agent pathogène	20
II.5.1.1 Isolement du virus	20
II.5.1.2 Microscopie électronique	22
II.5.1.3 Immunofluorescence	22
II.5.1.4 Immuno-diffusion sur gélose.....	22
II.5.1.5 Méthode immuno-enzymatique	23
II.5.1.6 Histopathologie	23
II.5.1.7 Méthodes moléculaires.....	24
II.5.2 Epreuves sérologiques	25
II.5.2.1 Méthode immuno-enzymatique	25
II.5.2.2 Séroneutralisation	25
II.6 Stratégie d'intervention	26
II.6.1 Prophylaxie sanitaire	26
II.6.2 Prophylaxie médicale (La vaccination).....	27
II.6.2.1 Vaccins à virus vivant modifié	28
II.6.2.2 Vaccins inactivés	29
II.6.2.3 Vaccins basés sur la technologie de l'ADN recombinant.....	29
II.6.2.4 Nouvelle approche vaccinale	30
II.6.2.5 Protocole vaccinal	30
II.6.3 Eradication.....	31
II.6 Conclusion	32
Conclusion générale	33
Références bibliographiques	34

Liste des figures

Figure 1 : Modalité de transmission du virus de la LTI.....	05
Figure 2 : Structure du virus de la LTI.....	06
Figure 3 : Réplication du virus LTI.....	08
Figure 4 : Différentes manifestations clinico-pathologiques de l'infection par le VLTI....	13
Figure 5 : Macroscopie et histopathologie.....	16

LISTE DES ABREVEATIONS

LTI :	Laryngotrachéite infectieuse
VLTi :	Virus de la laryngotrachéite infectieuse
CEO :	Origine des Embryons de poulet (Chicken Embryo Origin)
TCO :	Origine de culture tissulaire (Tissue Culture Origin)
vCKBP :	Protéine de liaison chimiokine virale (Viral Chimiokine Binding Protein)
MCA :	Membrane chorioallantoïde
OIE :	Organisation mondiale de la santé animale
ELISA :	Enzyme Linked Immuno Assay
IMC :	Immunité à médiation cellulaire
ECP :	Effet cytopathogène
SN :	Séroneutralisation
AcM :	Anticorps monoclonal
Ig :	Immunoglobulines
ITFC :	Isothiocyanate de fluorescéine
PBS :	Tampon phosphate salin
ADN :	Acide désoxyribonucléique
PCR :	Polymerase Chain Reaction
SIG :	Système d'information géographique
DIE :	Doses infectieuses médianes d'œufs
DICT :	Doses infectieuses médianes de culture tissulaire

Introduction

Introduction

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

Chez les poulets, deux formes principales de la LTI ont été décrites dans des conditions de terrain qui incluent la forme aiguë ou épizootique sévère caractérisée par une détresse respiratoire importante, des éternuements, une expectoration de mucus sanguin, une trachéite hémorragique sévère et une conjonctivite accompagnées d'une mortalité élevée atteignant jusqu'à 70 % (allant de 5 à 70 %) et une forme plus bénigne caractérisée par une trachéite catarrhale légère à modérée, une sinusite, une conjonctivite, une morbidité relativement faible et une mortalité occasionnelle qui varient généralement entre 0,1 et 2 % (Ou et Giambrone, 2012).

Les vaccins d'origine embryonnaire de poulet (CEO) et d'origine de culture tissulaire (TCO) développés au cours des années 1960 ont été largement utilisés pour contrôler les épidémies de la LTI dans le monde entier. Dans l'intervalle, les deux vaccins avaient tendance à revenir à la virulence après des passages d'oiseau à oiseau. On pense que la plupart des épidémies sont causées par des isolats de vaccin CEO qui persistent dans les exploitations d'oiseaux à longue durée de vie et se propagent dans les populations de volailles (Blacker *et al.*, 2011). L'incidence accrue de la maladie est due à des facteurs plus concrets tels que l'augmentation de la densité de production de volaille, la diminution des temps d'arrêt des sites de production, une mauvaise biosécurité et de mauvaises méthodes de vaccination. La réactivation et l'excrétion du virus vaccinal ont été signalées dans plusieurs élevage de poules pondeuses commerciales (Thilakarathne *et al.*, 2020). Par conséquent, une attention sérieuse doit être accordée au contrôle de la LTI dans les zones à forte densité de volaille, non seulement pour éviter les pertes économiques, mais également pour améliorer le bien-être et la santé des volailles.

Introduction

Le présent travail se concentre sur l'aperçu complet de la LTI en ce qui concerne son étiologie, son épidémiologie, sa transmission, sa pathobiologie, les progrès du diagnostic et des vaccins, et les stratégies de prévention et de contrôle appropriées.

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

I.1 Généralités

I.1.1. Définition

La laryngotrachéite infectieuse (LTI) est une maladie virale très contagieuse causée par un *Herpesvirus*, qui se caractérise généralement par une affection sévère des voies respiratoires supérieures. La maladie touche les poules domestiques, mais aussi les faisans, les dindes et les paons avec des conséquences graves pour la production en raison de la mortalité et/ou baisse de la production des œufs. Elle n'est pas dangereuse pour l'homme (Alaraji *et al.*, 2019 ; Hidalgo, 2003).

I.1.2 Historique

La LTI a été décrite pour la première fois en 1925 par May et Tittsler sous le nom de trachéo-laryngite, et peu de temps après, son étiologie virale a été démontrée. Elle a été appelée Laryngotrachéite, la grippe diphtérie et pneumonie (May et Tittsler, 1925). Quelques premiers investigateurs se sont également référés à la maladie en tant que bronchite infectieuse. Le terme de laryngotrachéite infectieuse a été adopté en 1931 par le Comité spécial sur les maladies de la volaille de l'association Américaine des médecins vétérinaires (Beaudette, 1937 ; Beach, 1931). La LTI a été la première maladie aviaire virale majeure contre laquelle un vaccin efficace a été développé, mis au point par des chercheurs à l'Université Cornell (Beaudette, 1937).

I.1.3 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 (Guy et Bagust, 2003). Les épidémies de la forme clinique modérée sont communes chez les poules pondeuses et sporadiques chez le poulet de chair (Saepulloh, 2004). Son importance économique est liée aux pertes dues à la mortalité et/ou diminution de la production d'œufs. La diminution du taux de ponte est modérée allant de 5% à 15% sans altérer les caractéristiques de la coquille. La mortalité varie sensiblement de 10% à 20% et peut atteindre des valeurs aussi élevées que 50% à 70% (Callison *et al.*, 2007 ; Seddon, 1935 ; Hinshaw *et al.*, 1931). Les taux de morbidité et de mortalité varient en fonction de la virulence de la souche en circulation (Oldoni *et al.*, 2009 ; Kirkpatrick *et al.*, 2006), les niveaux de virus circulant sur le terrain et les infections par d'autres maladies respiratoires des volailles (Guy et García, 2008).

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

Récemment, la maladie de la laryngotrachéite (LTI) est réapparue sous une forme légère dans les élevages de poules pondeuses (Shan-Chia, 2010 ; Barhoom, 2009). Seulement quelques oiseaux dans un élevage infecté peuvent manifester les signes respiratoires classiques de la maladie et la mortalité peut être faible et la chute de ponte peut atteindre 30% (Gomes, 2008).

I.2 Epidémiologie

I.2.1 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 (Hodgson, 2009 ; Brandly, 1936). Les données sur la prévalence sont rares dans la littérature. Barhoom (2009) observe en Palestine, sur 3 élevages de poules pondeuses, une séroprévalence de 100 %. Dans une étude portée sur 5 élevages de poules pondeuses (en Iran) ont trouvé une prévalence (Ebrahimi *et al.*, 2003).

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

I.2.2 Epidémiologie analytique

I.2.2.1 Espèces affectées

Le poulet est l'hôte naturel du virus, quel que soit son âge, bien que les signes caractéristiques de la maladie s'observent le plus souvent chez l'adulte (plus de 3 semaines d'âge). La multiplication virale est en général limitée à la sphère respiratoire, les animaux ne présentant donc pas de virémie (Bagust *et al.*, 1986 ; Hitchner *et al.*, 1977 ; Winterfield et So, 1968). Il semble que les pigeons, colombes, moineaux, étourneaux, corbeaux, canards, pintades soient réfractaires à l'infection (Beach, 1931), cependant (Yamada *et al.*, 1980) ont rapporté l'infection subclinique et la séroconversion chez les canards.

I.2.2.2 Transmission du virus

Les oiseaux infectés excrètent le virus dans leurs sécrétions respiratoires pendant 10 jours après l'infection. Le VLTI pénètre dans l'hôte par les voies respiratoires, oculaires et dans une moindre mesure, par voie orale (Figure 1) (Williams *et al.*, 1992 ; Bagust *et al.*, 1986 ; Hitchner *et*

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

al., 1977 ; Robertson et Egerton, 1981). La transmission directe d'oiseau à oiseau est endémique par rapport au contact avec des oiseaux infectés ou porteurs de façon latente. Le mélange de poulets vaccinés et naïfs est important pour la transmission directe.

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

Les oiseaux infectés transmettent facilement la maladie par la sécrétion orale par rapport aux oiseaux cliniquement récupérés ou porteurs latents (Hughes *et al.*, 1987). Le virus est généralement introduit dans un troupeau par contact direct avec des exsudats respiratoires ou par transmission indirecte / mécanique de matériel contaminé, litière, sacs d'alimentation, plumes, véhicules, poussière, chaussures, vêtements et mouvement des personnes (Zellen *et al.*, 1984 ; Mallinson *et al.*, 1981; Beaudette, 1937 ; Dobson, 1935). Des études récentes ont démontré que le VLTI peut persister dans le biofilm des conduites d'eau potable et se propager aux oiseaux sensibles (Ou *et al.*, 2011).

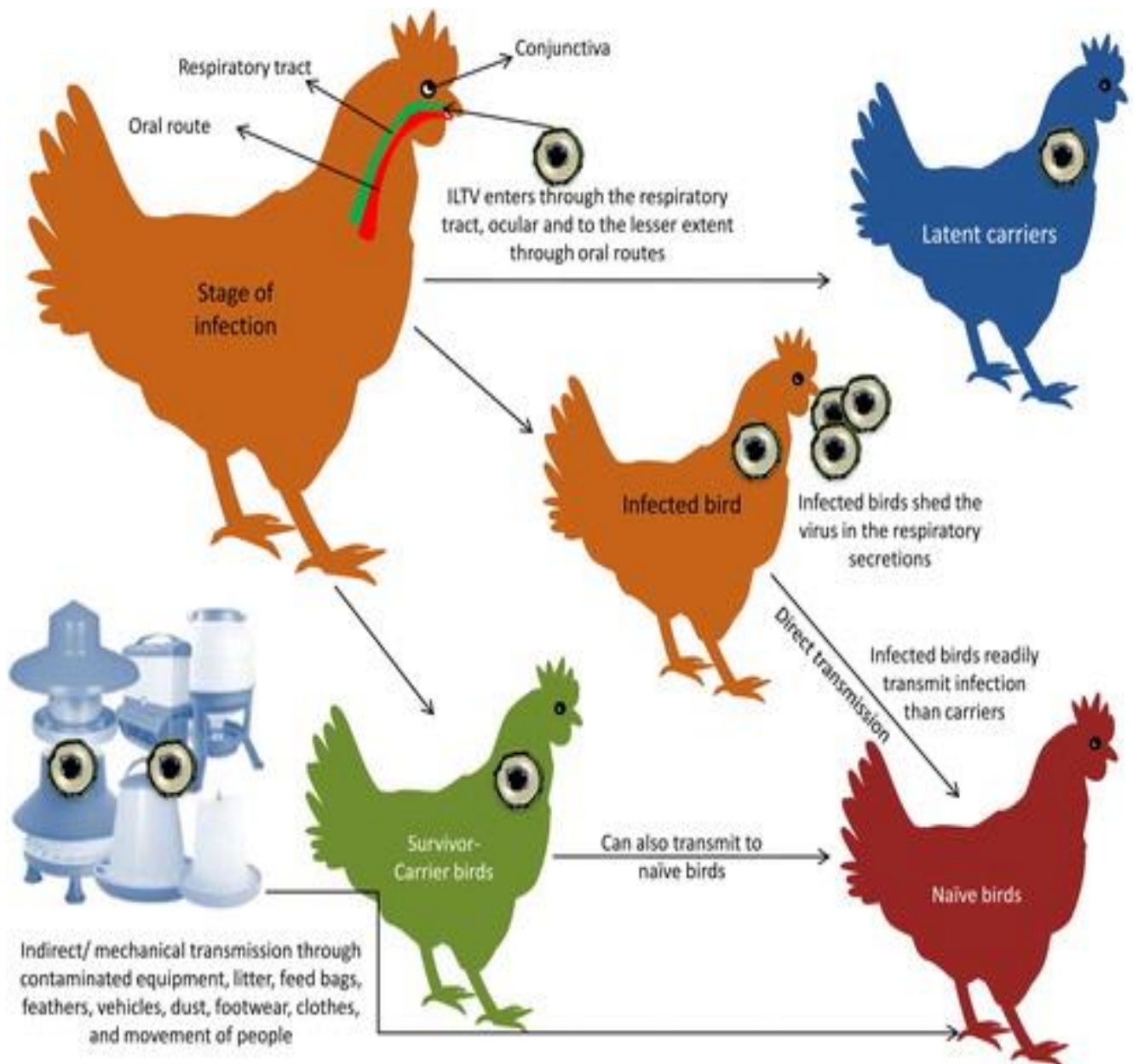


Figure 1 : Modalité de transmission du virus de la LTI (Gowthaman *et al.*, 2020)

I.3 Etiologie

I.3.1 Classification du virus

La LTI est causée par le virus de la laryngotrachéite infectieuse (VLT), également connu sous le nom *Gallid herpesvirus 1* (GaHV-1), qui appartient au genre *Iltovirus*, sous-famille *Alphaherpesvirinae* de la famille *Herpesviridae* (Davison *et al.*, 2009).

I.3.2 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. Certains auteurs ont décrit les nucléocapsides hexagonales du VLT de 80 à 100 nm de diamètre, les

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

nucléocapsides présentent une symétrie icosaèdre et elles sont composées de 162 capsomères prolongées. La particule virale a un diamètre de 195 à 250 nm, elle comporte une enveloppe irrégulière entourant la nucléocapside. L'enveloppe contient les spicules des glycoprotéines virales (Figure 2) (Cruickshank *et al.*, 1963 ; Watrach *et al.*, 1963). Ce virus ne résiste pas aux antiseptiques habituels et il est détruit par la lumière du soleil, par des hautes températures (56°C).

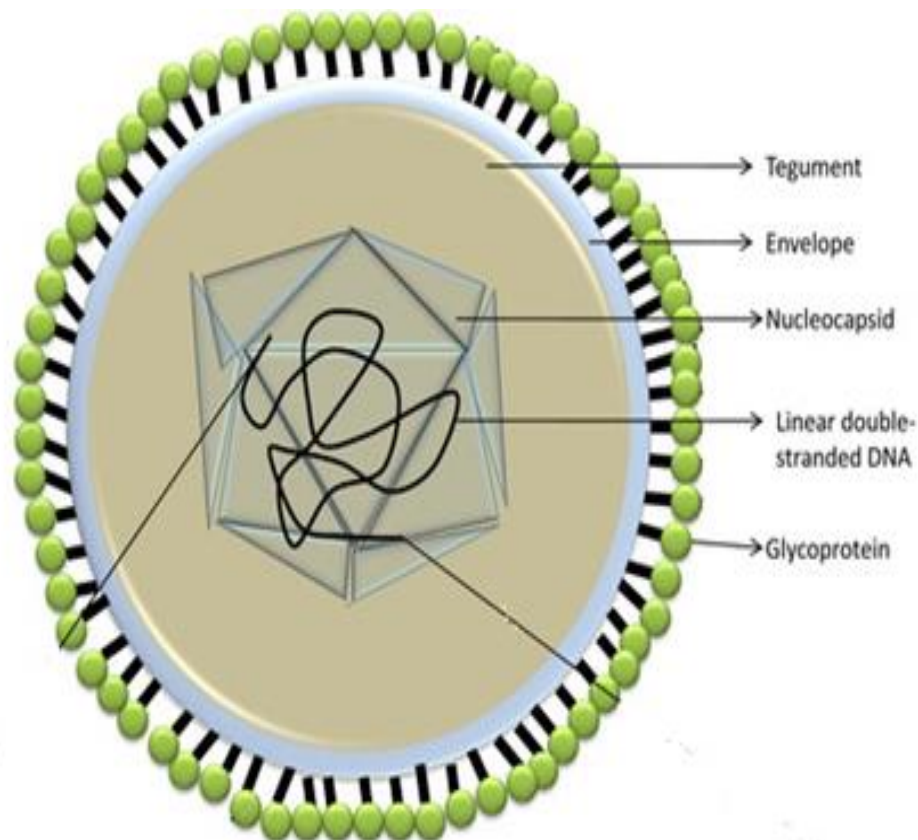


Figure 2 : Structure de virus de la LTI (Gowthaman *et al.*, 2020)

I.3.3 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 *Herpesviruses* (Plummer *et al.*, 1969). Le poids moléculaire de l'ADN virale du VLTI est approximativement 100×10^6 , le génome ayant deux formes isométriques (Leib *et al.*, 1986 ; Kotiw *et al.*, 1982). (Plummer *et al.*, 1969) 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 (Johnson *et al.*, 1991 ; Lieb, 1987). Des données successives sur le gène thymidine kinase du VLTI montrent l'homologie d'ADN entre VLTI et divers autres *Alphaherpesviruse* (Keeler *et al.*, 1991 ; Griffin et Boursnell, 1990).

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

Les glycoprotéines du VLTI, comme d'autres *Herpesvirus*, sont responsable de la stimulation humorale et cellulaire de la réponse immunitaire (York et Fahey, 1990). 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, 1990) pour être les principaux immunogènes du VLTI. La caractérisation des glycoprotéines du VLTI a été entreprise dans plusieurs laboratoires ; les gB, gC, gD, gX, gK, et le gp60 ont été séquencées (Bagust et Johnson, 1995).

I.3.4 Réplication virale

La réplication du VLTI se produit pendant la première semaine de l'infection (Williams *et al.*, 1992 ; Bagust *et al.*, 1986). Conjonctive et muqueuses trachéales sont les principaux sites de réplication du VLTI conduisant à une inflammation, écoulement séreux ou muqueux, et une détresse respiratoire (Coppo *et al.*, 2013). Le VLTI interagit avec les cellules qui tapissent la cavité nasale, la muqueuse conjonctivale et les glandes de Harder, ces tissus jouent un rôle clé dans la réplication du virus précoce et dictent le sort de l'infection (Beltrán *et al.*, 2017).

Dans le système respiratoire, les cellules épithéliales qui tapissent le larynx et la trachée sont toujours affectées, tandis que les sinus respiratoires, les sacs aériens et les tissus pulmonaires peuvent ou non être affectés (Hanson et Bagust, 1991).

La réplication du virus se fait selon le même schéma que les autres *Herpesvirus* (Figure 3) (Roizman, 1996 ; Prideaux *et al.*, 1992). Après attachement à la cellule hôte et libération de la nucléocapside, le virus est transporté jusqu'à la membrane nucléaire. La libération de l'ADN de la nucléocapside est suivie de sa migration dans le noyau via les pores nucléaires. C'est à ce niveau que l'ADN viral soit transcrit et répliqué (Honest et Roizman, 1974). 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. Ces virions mûrissent dans le cytoplasme et sont libérés soit par exocytose, soit par lyse cellulaire (Mettenleiter, 2002 ; Guo *et al.*, 1993).

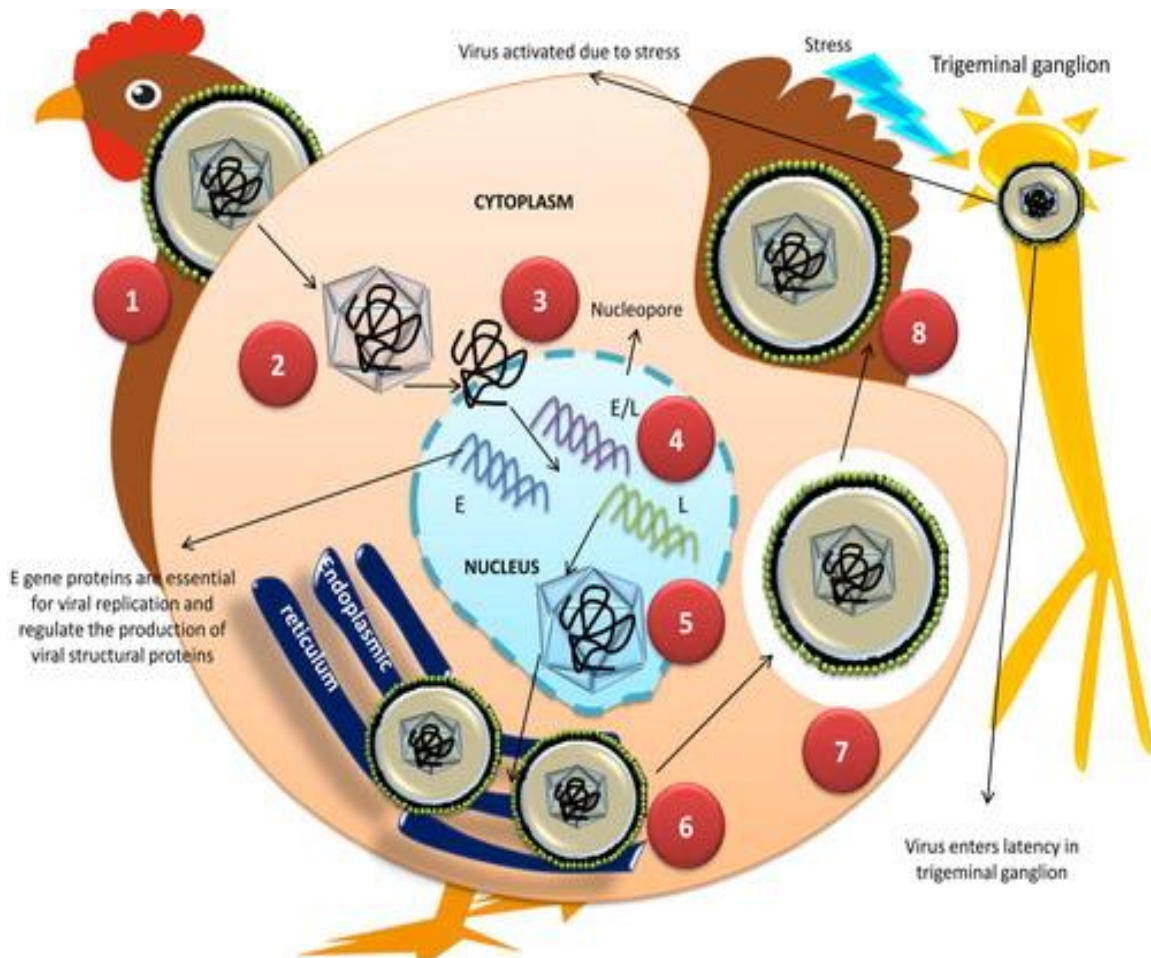


Figure 3. Réplication de virus LTI (Gowthaman et al., 2020)

1. Pièce jointe 2. Le tégment et la nucléocapside sont transportés dans le cytoplasme 3. L'ADN viral libéré de la nucléocapside pénètre dans le noyau par les pores nucléaires 4. Trois classes de gènes, à savoir précoce (E), précoce / tardif (E / L) et late (L) sont exprimés au cours du processus de transcription et de traduction virale en fonction des niveaux d'expression. 5. Les nucléocapsides contenant de l'ADN acquièrent une enveloppe en bourgeonnant à partir des lamelles internes de la membrane nucléaire. 6. Les virions sont transportés dans la lumière du réticulum endoplasmique pour acquérir une seconde enveloppe et s'accumuler davantage dans les vacuoles cytoplasmiques. 7,8. Les vacuoles contenant les virions sont libérées par exocytose ou lyse cellulaire.

I.3.5 Sensibilité aux agents chimique et physique

Compte tenu de la nature enveloppée du virus, l'infectiosité du VLTI est fortement modulée par des solvants organiques tels que le chloroforme, l'éther et des agents oxydants comme H_2O_2 (Neighbor et al., 1994 ; Fitzgerald et Hanson, 1963). La sensibilité du VLTI à la température diffère grandement entre ses souches. Dans les exsudats respiratoires et les carcasses de poulets, le virus peut rester infectieux pendant 10 jours à 3 mois à une température comprise entre 13 et 23°C. La capacité de survie du virus peut être prolongée pendant plusieurs mois lorsqu'il est conservé à 4°C dans des milieux d'enrichissement tels que les nutriments et le bouillon de glycérol. Des études antérieures ont révélé la perte d'infectiosité du VLTI par

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

chauffage à 55°C pendant 15 minutes ou à 38°C pendant 48 heures alors que certaines souches sont résistantes à la chaleur (Meulemans et Halen, 1978). Dans la litière profonde, le VLTI survit pendant 3 à 20 jours à 11-24,5°C, dans les excréments des cages en batterie pendant 3 jours à 11–19,5°C et au moins pendant 3 semaines dans les carcasses enterrées.

Les études démontrent que la viabilité du virus dans la litière diminue lors de l'application de chaleur à 38°C pendant 24 heures ou du compostage (Giambrone *et al.*, 2008). Le virus est facilement détruit (<1 min) par des désinfectants courants comme 3% de crésol, 5% de phénol ou une solution d'hydroxyde de sodium à 1% (Meulemans et Halen, 1978), mais la présence de matière organique affecte l'efficacité des désinfectants (Ruano *et al.*, 2001).

I.3.6 Classification des souches virales

I.3.6.1 Antigénicité

Bien que les souches du VLTI semblent être antigéniquement similaires sur la base de divers tests tels que le test d'immunofluorescence, la neutralisation virale et les études de protection croisée (Shibley *et al.*, 1962 ; Cover et Benton, 1958), la différence de virulence a été démontrée chez les embryons de poulet et dans les cellules de culture (Russell et Turner, 1983 ; Izuchi et Hasegawa, 1982 ; Pulsford et Stokes, 1953). Les glycoprotéines d'enveloppe du VLTI semblent être la puissante protéine immunogène capable de stimuler les réponses immunitaires humorales et cellulaires chez le poulet (York et Fahey, 1990).

Les antigènes du VLTI comprennent des glycoprotéines tels que gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gL et gM et sont importants par leur rôle crucial dans l'entrée du virus et la réplication (Goraya *et al.*, 2017). Parmi les glycoprotéines d'enveloppe, la glycoprotéine G (gG) est identifiée pour faciliter l'entrée du virus (Tran *et al.*, 2000), la propagation intercellulaire (Nakamichi *et al.*, 2002), et fonctionne comme une protéine de liaison chimiokine virale large spectre (vCKBP). La gG se lie aux chimiokines de la sous-famille C, CC et CXC, et empêche ainsi l'interaction entre les chimiokines et leurs récepteurs. Il bloque également la liaison de chimiokines à glycosaminoglycanes, qui est nécessaire pour l'activité de chimiokine (Bryant *et al.*, 2003). Le vCKBP du VLTI (gG), au cours des premiers stades de l'infection, induit des réponses immunitaires innées en recrutant des sous-ensembles particuliers de cellules immunitaires (Devlin *et al.*, 2010).

I.3.6.2 Pathogénicité

Les souches naturelles du VLTI 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 (Jordan, 1966 ; Cover et Benton, 1958).

Des variétés de virus de Laryngotrachéite également, ont été observées en se basant sur la virulence pour les embryons de poulet, La morphologie dans la culture cellulaire (Russell et *al.*, 1983), et la morphologie sur la membrane chorioallantoïde (CAME) d'œufs embryonnés. 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 (Izuchi et Hasegawa, 1982).

I.3.6.3 Classification moléculaire

Les méthodes moléculaires comprenant les analyses de restriction de l'endonucléase de l'ADN virale (Guy *et al.*, 1992 ; Leib *et al.*, 1986 ; Kotiw *et al.*, 1982), l'hybridation de l'ADN virale (Çaçon, *et al.*, 2009 ; Eva Nagy, 1992), et la PCR-RFLP (PCR-Polymorphisme de longueur des fragments de restriction) (Myong *et al.*, 2001 ; Juilie *et al.*, 2006), et la séparation électrophorétique des fragments d'ADN ont été utilisées pour distinguer les différentes souches du VLTI (Saepulloh, 2004 ; Leib *et al.*, 1986).

L'analyse de restriction de l'endonucléase de l'ADN viral a été employée intensivement dans les études épidémiologiques des manifestations cliniques pour différencier le type sauvage et les virus modifiés du vaccin vivant (Keeler *et al.*, 1993 ; Andreasen *et al.*, 1990).

Plus récemment, des méthodes de PCR ont été employées pour distinguer les souches du VLTI (Oldoni *et al.*, 2009 ; Ojkic *et al.*, 2006 ; Ebrahimi *et al.*, 2003).

I.4 Pathogénèse

Les voies respiratoires et oculaires constituent la porte d'entrée naturelle du VLTI. La réplication initiale a lieu dans l'épithélium de la conjonctive, des sinus respiratoires, du larynx et des voies respiratoires supérieures dans une plus large mesure (Guy et Bagust, 2003). Sur les sites de réplication de virus primaires, le pic du titre viral est atteint entre 4 et 6 jours après l'infection (Oldoni *et al.*, 2009 ; Kirkpatrick *et al.*, 2006 ; Bagust *et al.*, 1986). L'infection cytolitique active du VLTI entraîne de graves lésions de la muqueuse épithéliale trachéale et conjonctivale conduisant à des hémorragies et à d'autres manifestations clinicopathologiques chez les oiseaux

Chapitre I : Connaissances actuelles sur la laryngotrachéite infectieuse aviaire

(Guy et Bagust, 2003 ; Tully, 1995 ; Bang and Bang, 1967). Par la suite, le VLTI se dissémine aux propria lamina sous-jacente de l'épithélium trachéal après avoir envahi à travers la membrane sous-sol à l'aide des protéases cellulaires réglementées jusqu'à concurrence (Reddy *et al.*, 2014 ; Steukers *et al.*, 2012 ; Glorieux *et al.*, 2009) et atteint le foie, les amygdales caecales et le cloaque (Oldoni *et al.*, 2009 ; Bagust *et al.*, 1986). Cependant, le mécanisme de diffusion n'est pas clair. Les titres viraux les plus élevés sont détectés dans les tissus trachéaux pendant 4 à 6 jours après l'infection et restent dans les sécrétions trachéales entre 6 et 10 jours après l'infection (Bagust *et al.*, 1986 ; Robertson et Egerton, 1981 ; Hitchner *et al.*, 1977 ; Purcell et McFerran, 1969).

I.5 Etude clinique

La période d'incubation de la LTI varie entre 6 et 14 jours (Seddon, 1935 ; Kernohan, 1931). Des études expérimentales antérieures ont montré que l'excrétion du VLTI commençait 2 jours après l'infection et 4 jours avant l'apparition des signes cliniques (Davison *et al.*, 1989). Les signes cliniques sont caractérisés par une augmentation soudaine de la mortalité quotidienne moyenne dans le troupeau affecté (Aziz, 2010). La gravité de la maladie est influencée par la virulence du virus, des conditions de stress, co-infections avec d'autres agents pathogènes, l'état immunitaire du troupeau et l'âge des oiseaux (Vasudevan *et al.*, 2016). L'infection est caractérisée par des formes suraiguës, aiguës et chroniques de la LTI.

I.5.1 Forme suraiguë

Elle se caractérise par un début soudain de propagation rapide et une mortalité élevée pouvant dépasser 50% (OIE, 2014). Les oiseaux affectés deviennent léthargiques, présentent souvent une conjonctivite modérée à sévère avec des paupières enflées et un larmolement accru. Parfois, la mort peut survenir chez des oiseaux en bonne condition corporelle avant l'apparition de tout signe clinique (Preis *et al.*, 2013). Les signes cliniques sont caractérisés par une dyspnée et un halètement avec une extension de la tête et du cou. Tousser, cliquetis et gargouillis aussi remarqué que lorsque les oiseaux essaient d'expulser le sang coagulé et les débris de la trachée obstruée (Figure 4) (Blakey *et al.*, 2019 ; Guy *et al.*, 1990). Le sang coagulé se trouve également dans les cages, les gazons, les murs et le sol des poulaillers. Les oiseaux affectés meurent généralement dans les 3 jours (Cover, 1996).

I.5.2 Forme aiguës

Une dyspnée caractéristique est couramment observée dans la forme aiguë de la LTI, mais le début n'est pas soudain ou sévère comme on le voit sous forme suraiguë. Au départ, les oiseaux affectés deviennent inactifs et présentent de l'anorexie (Guy et Bagust, 2003). La température centrale interne augmente entre 4 et 6 jours après l'infection, et le nombre total de leucocytes montre une lymphopénie et une hétérophilie légères à marquées (Chang *et al.*, 1997). Une obstruction trachéale avec du sang coagulé et des exsudats se traduit par des halètements prolongés avec une respiration à bouche ouverte, des cris aigus et des râles humides (Jordan, 1958 ; Kernohan, 1931). Les oiseaux atteints peuvent également présenter une conjonctivite purulente avec des exsudats mousseux dans le canthus interne de l'œil, une sinusite et un écoulement nasal (Plage, 1926). La morbidité peut atteindre 100% et la mortalité varie de 10 à 30%, ce qui peut durer jusqu'à 15 jours. Des niveaux variables de production d'œufs sont observés dans les troupeaux de pondeuses, certains troupeaux peuvent connaître l'arrêt complet de la production d'œufs, qui peuvent revenir à leur niveau normal avec le temps (Creelan *et al.*, 2006 ; Lohr, 1977).

I.5.3 Forme chronique

La LTI légère ou chronique ressemble à d'autres infections respiratoires caractérisées par un retard de croissance, une toux, des râles humides, des tremblements de la tête, un plissement des yeux, un gonflement des sinus sous-orbitaux (yeux en forme d'amande), une baisse de la production et du poids corporel (Ou *et al.*, 2011 ; Hinshaw *et al.*, 1931). La morbidité peut aller jusqu'à 5% et la mortalité généralement limitée à moins de 2% (Bagust *et al.*, 2000).



Figure 4. Différentes manifestations clinico-pathologiques de l'infection par le VLTI (Gowthaman et al., 2020)

a. L'oiseau gravement infecté présente un halètement sévère. b. Écoulements oculo-nasaux aux premiers stades de l'infection. c. Gonflement du visage et ophorie persistante au stade subaigu à chronique de l'infection par VLTI. d. Exsudats sanguins séchés sur la commissure de la bouche. e. Exsudats fibrino-hémorragiques dans la lumière de la trachée. f. Caillots sanguins dans la lumière de la trachée sous forme aiguë de la LTI. g. Formation de pseudomembranes sous forme chronique de la LTI. h. Inflammation hémorragique diffuse de la trachée accompagnée d'une accumulation / obstruction de la lumière trachéale avec des débris tissulaires fibrino-hémorragiques et nécrotiques.

I.6 Lésions

I.6.1 Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques sont généralement limitées aux sinus et aux voies respiratoires supérieures et varient selon la gravité de la maladie (Gough *et al.*, 1977 ; Seifried, 1931). Les lésions macroscopiques sous forme suraiguë consistent en une rhinite mucoïde et une trachéite hémorragique avec caillots sanguins (Dalab, 2012 ; Guy et Bagust, 2003). Des exsudats caséux jaunes (bouchon de fromage) ont également été observés dans les bronches primaires lorsque les lésions s'étendent profondément (OIE, 2014). Dans la forme aiguë, jaune membranes caséuses de diphtérique adhérentes au larynx et de la muqueuse de la trachée supérieure avec ou sans hémorragies sont souvent remarqué (Gowthaman *et al.*, 2014). La membrane forme également des bouchons obstructifs dans les régions du larynx et de la syrinx conduisant à la suffocation et à la mort. Un excès de mucus avec ou sans exsudats diphtériques peut être observé dans la lumière trachéale dans la forme chronique ou légère de la LTI (Linares *et al.*, 1994). Une formation pseudo-membranaire avec des exsudats fibrino-nécrotiques adhérent aux voies respiratoires supérieures peut également être observée Russell et Turner, 1983 ; Russell, 1983).

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

I.6.2 Lésions microscopiques

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

Ensuite, les cellules épithéliales trachéales subissent une nécrose diffuse avec une dénudation qui résulte en saillie et la rupture des vaisseaux sanguins de la lamina propria dans la lumière trachéale conduisant à une laryngite sévère et trachéite (Sary *et al.*, 2017). Les corps d'inclusion intranucléaires basophiles ou éosinophiles entourés d'un halo sont généralement observés au cours des stades initiaux de l'infection (1 à 5 jours) et disparaissent plus tard en raison de la nécrose et de la dénudation des cellules épithéliales (VanderKop, 1993 ; Guy *et al.*, 1992 ; Seifried, 1931). Au cours de cette étape, la lumière de la trachée contient une quantité variable d'exsudats avec de la fibrine, des cellules inflammatoires, des globules rouges, des débris épithéliaux et des cellules syncytiales avec ou sans corps d'inclusion intranucléaire (Hayashi *et al.*, 1985). La régénération commence six jours après l'infection avec la prolifération des cellules basales restantes chez les oiseaux qui survivent à la phase aiguë (Bagust *et al.*, 2000). La trachéite hyperplasique subaiguë caractérisée par la prolifération de plusieurs couches de cellules épithéliales régénérantes, indifférenciées et non ciliées tapissant la muqueuse et les glandes muqueuses devient évidente au cours de la phase de guérison. Les modifications histopathologiques dans les bronches principales et secondaires sont caractérisées par une dégénérescence épithéliale et une dénudation avec infiltration de cellules mononucléaires (Preis *et al.*, 2013). Les cellules syncytiales avec les corps d'inclusion intranucléaires peuvent également être observées dans les lésions (Timurkaan *et al.*, 2003 ; Purcell, 1971). La macroscopie et l'histopathologie des lésions du VLTI sont illustrées dans la figure 5.

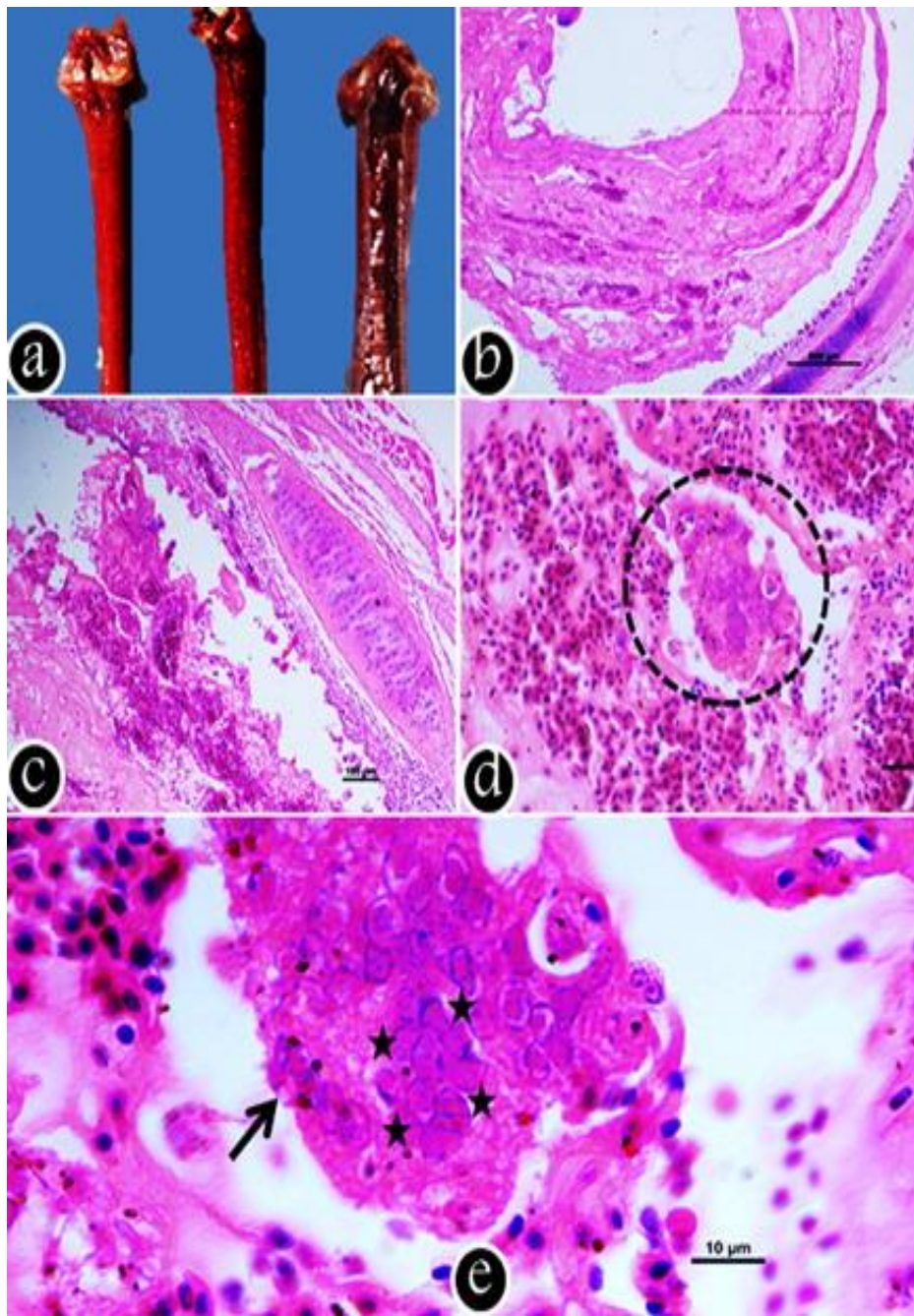


Figure 5. Macroscopie et histopathologie (Gowthaman et al., 2020)

(a) Trachée sévèrement congestionnée et hémorragique prélevée sur des flambées d'ILT sur le terrain; (b) Coupe transversale de la trachée montrant une accumulation intraluminaire de débris nécrotiques mélangés à des exsudats fibrino-hétérophiles (H&E, 4X); (c) Coupe de la trachée montrant une dénudation de la couche muqueuse, des hémorragies muqueuses au milieu d'une exsudation fibrineuse marquée (H&E, 10X); (d) écorché de la muqueuse trachéale montrant une hémorragie sévère et une grande syncytie multinucléée (cercle) (H&E, 20X); Grossissement plus élevé de la syncytie (flèche) montrant la présence de corps d'inclusion éosinophiles intranucléaires (marques d'étoiles) (H&E, 100X).

I.7 Réponse immunitaire

I.7.1 Immunité active

Une variété de réponses immunitaires est produite après l'infection par le VLTI. Les anticorps neutralisant le virus 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 des mois suivants. Les anticorps neutralisant le virus peuvent être détectés pendant une année ou plus (Adair *et al.*, 1985). 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 post-infection (York *et al.*, 1989 ; Bagust *et al.*, 1986 ;). L'immunité à médiation cellulaire (IMC) n'a pas été intensivement étudiée. Ceci est dû à la complexité des études de IMC ; cependant, des réponses d'hypersensibilité retardée au VLTI ont été démontrées (York et Fahey, 1990).

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 (Jordan, 1981). En outre, Fahey et York, (1990) 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 (Fahey et York, 1990).

Fahey *et al.*, (1984) 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) ont déterminé que la sensibilité des poulets au VLTI a diminué avec l'âge. Ils ont également constaté que, suite à l'infection par le 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.

I.7.2 Immunité passive

Les anticorps maternels du VLTI se transmettent à la progéniture par l'intermédiaire de l'œuf (Benton *et al.*, 1958). Cependant, ces anticorps maternels ne confèrent pas une protection contre l'infection ou n'interfèrent pas avec la vaccination (Fahey *et al.*, 1983).

Chapitre II : Diagnostic et méthodes de lutte

II.1 Introduction

La laryngotrachéite infectieuse aviaire (LTI) est une maladie respiratoire de la poule due à un *Alphaherpesvirus*. Elle peut aussi affecter le faisan, la perdrix et le paon. Dans sa forme virulente, cette maladie est caractérisée par son historique, ses symptômes et ses lésions trachéales très sévères alors que la forme atténuée est difficile à différencier des autres maladies respiratoires bénignes. Le diagnostic de laboratoire dépend de la mise en évidence du virus ou d'antigènes viraux (Guy et Bagust, 2003 ; Williams *et al.*, 1994 ; Scholz *et al.*, 1994) ou encore des anticorps sériques spécifiques (Adair *et al.*, 1985 ; Meulemans et Halen, 1978).

II.2 Diagnostic clinique et nécropsique

La laryngotrachéite infectieuse chez le poulet peut être diagnostiquée provisoirement sur la base des signes cliniques tels que conjonctivite, halètement, bouche ouverte ou respiration crânienne prolongée, expectoration de mucosités sanglantes, dyspnée et recherche de lésions, y compris une trachéite catarrhale à hémorragique, les exsudats fibrinopurulents caséux bouchent le larynx et la trachée lors de l'autopsie. Les cas suspects sont soumis à un diagnostic de laboratoire par des tests de diagnostic conventionnels et moléculaires. Les méthodes classiques comprennent histopathologie, l'isolement du virus par des œufs de poule embryonnés et la culture cellulaire, immunofluorescence (IF), test immunoperoxydase (IP), et sérologies (Godoy *et al.*, 2013 ; Guy *et al.*, 1992 ; Hughes et Jones, 1988 ; Wilks et Kogan, 1979 ; Burnet, 1934). La détection des cellules syncytial et des corps d'inclusion intranucléaires dans la trachée, des paupières et des tissus pulmonaires à l'examen histopathologique est couramment pratiquée (Srinivasan *et al.*, 2012 ; Timurkaan *et al.*, 2003 ; Humberd *et al.*, 2002).

II.3 Diagnostic différentiel

Les autres maladies respiratoires présentant une maladie clinique similaire doivent être différenciées de la LTI. Les lésions diphtériques induites par la LTI se propagent sur toute la longueur de la trachée et ressemblent à des lésions induites par le virus de la variole aviaire (Tripathy et Reed, 2013). Lésions trachéales sous forme virulente légère ou faible du VLTI est similaire à celle des lésions provoquées par d'autres agents pathogènes respiratoires tels que le virus de la grippe aviaire, le virus de la maladie de Newcastle, le virus de la bronchite infectieuse et l'adénovirus aviaire (Davidson *et al.*, 2015).

II.4 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 (Hanson et Bagust, 1991). D'autres tests ont été utilisés pour le diagnostic de la LTI, dont les tests avec les sondes à ADN non-radioactives (Keam *et al.*, 1991; Nagy, 1992), à l'immunoperoxydase (Guy *et al.*, 1992), ELISA (York *et al.*, 1989), la microscopie électronique et la PCR (Williams *et al.*, 1992). 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 (Oldoni *et al.*, 2009). 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 (Shan-Chia, 2010 ; Creelan *et al.*, 2006 ; Han and Kim, 2001).

II.5 Outils du diagnostic de laboratoire de la LTI

II.5.1 Identification de l'agent pathogène

Le virus peut être isolé dans le foie d'embryon de poulet (McNulty *et al.*, 1985), le rein d'embryon de poulet (Chang *et al.*, 1960) ou dans des cultures de cellules de rein de poulet (Van Kammen et Spadbrow, 1976). L'herpesvirus responsable peut être mis en évidence directement dans l'exsudat trachéal par microscopie électronique (VanKammen et Spadbrow, 1976). Les antigènes viraux peuvent être détectés par immunofluorescence (Braune et Gentry, 1985 ; Wilks et Kogan, 1979), ou test immuno-enzymatique (ELISA), utilisant des raclages de la muqueuse trachéale (York et Fahey, 1988). L'examen histopathologique de la trachée pour observer les inclusions intranucléaires typiques de l'herpesvirus et la formation de cellules syncytiales peut également être utile (Armstrong, 1959 ; RP *et al.*, 1957 ; Pirozok *et al.*, 1957). Les méthodes de détection du VLTI utilisant la réaction en chaîne par polymérase (PCR) ont été décrits et la PCR a été généralement plus sensible que l'isolement viral (Alexander et Nagy, 1997 ; Williams *et al.*, 1994 ; Keam *et al.*, 1991 ; McNulty *et al.*, 1985).

II.5.1.1 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 °C ou moins pour limiter une perte du titre viral. Il faut éviter les congélations et décongélations répétées qui diminuent l'infectiosité du virus (OIE, 2018).

L'exsudat et les cellules épithéliales raclés de la trachée sont dilués au 1/5 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 0,1 ml du liquide surnageant est inoculé sur la membrane chorioallantoïde (MCA) d'œufs embryonnés de poulets âgés de 10 à 12 jours. Les œufs sont obturés avec de la paraffine et mis en incubation 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 (Barhoom, 2009 ; Ebrahimi et *al.*, 2003). Alternativement, on peut utiliser des cultures cellulaires de foie ou de rein d'embryon de poulet (Russell and Turner, 1983). Lorsque le tapis cellulaire est complet, le milieu est éliminé puis les cellules sont inoculées et mises en contact pour adsorber le virus pendant 1 à 2 h. Puis les cultures sont recouvertes d'un nouveau milieu et mises en incubation jusqu'à 7 jours en étant examinées tous les jours au microscope dans le but de mettre en évidence un effet cytopathogène (ECP) caractérisé par l'apparition de cellules syncytiales.

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 séroneutralisation (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 ; l'acide nucléique du virus peut être détecté par PCR (Montgomery et *al.*, 2007 ; Hughes et Jones, 1988).

II.5.1.2 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 $\times 30$ à 45 pour les particules caractéristiques des herpesvirus (Van Kammen et Spradbrow, 1976).

II.5.1.3 Immunofluorescence

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

II.5.1.4 Immuno-diffusion sur 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 (Ebrahimi *et al.*, 2003 ; Jordan et Chubb, 1962).

II.5.1.5 Méthode immuno-enzymatique

Lorsque l'anticorps monoclonal (AcM) ELISA est utilisé pour détecter les antigènes viraux (McNulty *et al.*, 1985), l'exsudat trachéal est mélangé avec un volume égal de PBS contenant 1% d'un détergent, puis vortexé pendant 30 secondes et centrifugée à 10 000 g pendant 1 minute. Le liquide surnageant est versé dans des volumes de 50 µl dans les cupules de microplaque préalablement enduites d'IgG de lapin anti VLTI, diluées au 1/200 dans un tampon carbonate / bicarbonate 0,05 M, pH 9 , et incubées pendant 1 heure. Ensuite, 50 µL de AcM contre les glycoprotéines majeures du VLTI, dilués au 1/50 dans du PBS, sont ajoutés à chaque bien, suivi de 50 µl d'une dilution au 1/1000 d'IgG anti-souris d'origine caprine purifiée par affinité, conjuguée à la peroxydase. Le substrat, l'acide 5-aminosalicylique (6,5 mM), est ajouté dans les cupules au volume de 100 µL. Après 30 minutes, les plaques sont lues à 450 nm sur un spectrophotomètre et l'absorbance pour chaque cupule est corrigée en soustrayant la lecture obtenue pour les cupules contenant un tampon de dilution au lieu de l'exsudat trachéal. Le point de coupure positif / négatif est considéré comme la valeur moyenne d'absorbance pour plusieurs échantillons négatifs (c.-à-d. matériel trachéal sans VLTI) plus 3 écarts-types (Scholz *et al.*, 1994).

II.5.1.6 Histopathologie

Les oiseaux sélectionnés pour un examen post mortem doivent être dans la phase aiguë de la maladie. L'euthanasie doit se faire par injection intraveineuse de barbituriques ou d'exposition à l'halothane, pour éviter d'endommager la trachée. Les trachées pour examen histopathologique doivent être placées dans du formol tamponné neutre à 10% ou fixateur Bouin (préférable pour la détection des corps d'inclusion intranucléaires) immédiatement après le retrait des oiseaux et, après fixation, noyés dans de la cire de paraffine. La paupière et le poumon sont parfois examinés. Des inclusions intranucléaires peuvent être observées dans les cellules

épithéliales de la trachée après coloration avec l'hématoxyline et l'éosine. Des formations de cellules syncytiales sont souvent présentes dans les exsudats et contiennent des corps d'inclusion intranucléaires. Les corps d'inclusion sont les inclusions classiques de type A de Cowdry de *Herpesvirus*, mais ils peuvent être présents pendant seulement 3 à 5 jours après l'infection. Dans les cas graves où la plupart des cellules infectées se sont détachées de la muqueuse trachéale, des inclusions peuvent être observées dans des cellules intactes parmi les débris cellulaires dans la lumière de la trachée. Les coupes longitudinales plutôt que transversales de la trachée permettent l'examen de toute la longueur de l'organe (Armstrong, 1959).

II.5.1.7 Méthodes moléculaires

Plusieurs méthodes moléculaires d'identification de l'ADN du VLTI dans des échantillons cliniques ont été signalées, mais la PCR s'est révélée très utile. Des tests d'hybridation dot-blot et des fragments d'ADN de virus cloné s'est avérée très sensible pour la détection de virus lorsque l'isolement et l'ELISA étaient négatifs (Keam *et al.*, 1991 ; Key *et al.*, 1994). Humberd *et al.* (2002), en utilisant une PCR imbriquée, ont montré que l'ADN du VLTI pouvait être détecté dans les tissus fixés au formol et inclus en paraffine indépendamment de la présence de cellules syncytiales, inclusions intranucléaires ou les deux.

La PCR s'est avérée plus sensible que l'isolement viral pour les échantillons cliniques, en particulier lorsque d'autres virus contaminants tels que les adénovirus sont présents (Williams *et al.*, 1994). Alexander et Nagy (1997) ont constaté que du milieu à la fin de la phase d'infection, la PCR et l'isolement du virus étaient similaire en sensibilité, mais la PCR était supérieure dans la phase de récupération.

La combinaison de la PCR avec l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) de plusieurs gènes viraux et régions génomiques ont permis la caractérisation de différentes souches au sein d'un pays ou région (Chang *et al.*, 1997). Plusieurs rapports ont montré que si certaines souches de terrain sont étroitement liées aux virus vaccinaux et susceptibles d'être dérivés de ceux-ci, d'autres sont de véritables "types sauvages" (Ojkic *et al.*, 2006).

Il n'y a pas encore de molécule universellement acceptée qui permet de différencier les souches de terrain et les souches vaccinales. Une bonne histoire de vaccination dans le troupeau peut aider à interpréter les résultats, mais il convient de noter que l'infection par la souche de

terrain peut se produire chez les oiseaux vaccinés. Des souches vaccinales peuvent également être isolées occasionnellement à partir d'oiseaux non vaccinés (OIE, 2018).

II.5.2 Epreuves sérologiques

La méthode de choix pour la détection des anticorps anti-VLTI dans le sérum de poulet est l'ELISA. La séroneutralisation virale (SN) peut également être utilisée (Adair *et al.*, 1985). Les tests IDG (immunodiffusion en gélose) et d'immunofluorescence indirecte sont peu utilisés de nos jours.

II.5.2.1 Méthode immuno-enzymatique

L'antigène pour ELISA est obtenu par sonication des cultures de cellules fortement infectées au moment où l'ECP est maximal, qui est ensuite centrifugée et le surnageant absorbé sur les cupules des microplaques. Un antigène négatif est fourni par matériel de culture cellulaire non infecté traité de la même manière. Le test consiste essentiellement en l'ajout de 0,1 ml de dilutions au 1/10 de sérums à tester pour dupliquer des puits recouverts d'antigène positif ou négatif. Après incubation à 37°C pendant 2 heures, les plaques sont lavées quatre fois et une dilution 1/4000 un sérum anti-poulet préparé sur lapin conjuguée à de la peroxydase est ajoutée. Après incubation à 37°C pendant 1 heure, les plaques sont lavées à nouveau quatre fois. Enfin, un substrat constitué d'acide 5-aminosalicylique est ajouté à chaque puits suivi par le peroxyde d'hydrogène à une concentration finale de 0,0005%, et l'absorbance du fluide dans chaque puits est lu à 450 nm sur un spectrophotomètre. Le résultat pour chaque sérum est exprimé comme différence entre l'absorbance moyenne produite avec les antigènes positifs et négatifs. Le point de coupure positif / négatif est considéré comme la valeur d'absorbance moyenne pour de nombreux sérums négatifs plus 3 écarts-types. Le test est très sensible et peut-être le meilleur moyen disponible pour la surveillance des élevages. Les réponses d'anticorps mesurées par ELISA sont détectables 7 à 10 jours après l'infection et le pic se situe à environ 2 semaines. La réponse aux vaccins LTI peut être variable et les tests ne valent pas la peine avant 14 jours après la vaccination (OIE, 2018).

II.5.2.2 Séroneutralisation

Des tests de SN peuvent être effectués sur les MCAs d'œufs de poule embryonnaires qui ont été incubés pendant 9 à 11 jours, où l'anticorps neutralise spécifiquement la formation des foyers nécrotiques causée par le VLTI. Alternativement, les tests peuvent être effectués dans des cultures cellulaires, où l'anticorps neutralise spécifiquement le VLTI empêchant ainsi l'ECP. Des

dilutions de sérums sont ajoutées à un volume égal d'une solution virale à concentration constante. Cette concentration peut être de 100 doses infectieuses médianes d'œufs (DIE 50) pour inoculations d'œufs, ou 100 doses infectieuses médianes de culture tissulaire (DICT 50) pour l'inoculation des cultures. Les mélanges sont incubés à 37°C pendant 1 heure pour permettre à toute neutralisation de se produire. Lorsque le test est réalisé dans des œufs, les mélanges virus / sérum sont inoculés sur les MCAs déposées, en utilisant au moins cinq œufs par dilution. Les œufs sont scellés et incubés à 37 ° C pendant 6 à 7 jours. Le point limite est enregistré comme étant la dilution la plus élevée du sérum là où aucune piqûre n'est présente 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 CO₂ 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 (Adair *et al.*, 1985).

II.6 Stratégie d'intervention

II.6.1 Prophylaxie sanitaire

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

II.6.2 Prophylaxie médicale (La vaccination)

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

La vaccination préventive du VLTI est administrée à l'âge de 6 à 8 semaines, suivie du rappel à 12 à 15 semaines pour les pondeuses et les reproducteurs (Gingerich et Carver, 2006). Ces vaccins déclenchent la réponse immunitaire en provoquant une infection de la trachée sans provoquer de maladie. La plus haute immunité protectrice est atteinte de 15 à 20 semaines après la vaccination, qui peut durer plus d'un an (Neff *et al.*, 2008) et aucune interférence n'a été signalée entre la LTI et d'autres vaccins si l'intervalle entre les vaccinations est de plus de 2 semaines (Aston *et al.*, 2019).

La vaccination contre le VLTI n'est pas suggérée pour les poulets de chair en raison de sa préoccupation économique (Giambrone *et al.*, 2008). La voie d'administration du vaccin a toujours été essentielle pour assurer la protection et éviter les réactions indésirables au vaccin. La méthode du collyre est considérée comme relativement plus sûre et offre plus de protection que les méthodes d'application de masse comme l'eau potable et l'administration par pulvérisation. Un vaccin VLTI supérieur doit contenir un titre $>10^2$ unités de formation de plaques / ml pour induire une immunité adéquate lorsqu'il est administré par des voies autres que la voie orale (Raggi et Lee, 1965).

Dans certaines occasions, la vaccination conduit à la création d'oiseaux porteurs latents, qui agissent comme une source d'infection pour les troupeaux non vaccinés (Bagust *et al.*, 1986). Ces virus latents sont réactivés, conduisant à une excrétion intermittente du VLTI lorsque les oiseaux sont soumis à des conditions de stress comme début de la ponte, le transport, la vaccination, etc. entraînant la propagation de la maladie aux oiseaux sensibles (Hughes *et al.*, 1991 ; Guy *et al.*, 1990). L'utilisation intensive de vaccins vivants atténués a entraîné de nouvelles

flambées de la LTI dans de nombreuses régions du monde. Des études expérimentales antérieures suggéraient une aggravation des infections prolongées par la LTI suite à une mauvaise vaccination (García, 2017). Plusieurs types de vaccins sont développés contre le VLTI :

II.6.2.1 Vaccins à virus vivant modifié

L'immunisation contre la LTI a été accomplie la première fois par application de virus virulent par voie cloacale (Brandly et Bushnell, 1934). 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 infra-orbitaire (Shibley *et al.*, 1962), instillation intranasale (Benton *et al.*, 1958), des follicules plumeux (Molgard et Cavett, 1947), instillation oculaire (Sinkovic et Hunt, 1968), et oralement dans l'eau de boisson (Hilbink *et al.*, 1981). Des souches sauvages du VLTI ont été atténuées par le passage successif dans les cultures cellulaires (Gelenczei et Marty, 1965 ; Izuchi *et al.*, 1984), et les œufs embryonnés (Samberg et Aronovici, 1969). 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 (Hitchner, 1969).

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) ; Hilbink *et al.* (1981) 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) 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 (Purcell et Surman, 1974) ou dose excessive (Clarke *et al.*, 1980). 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 (Andreasen *et al.*, 1989 ; Hilbink *et al.*, 1987 ; Picault *et al.*, 1982 ; Samberg *et al.*, 1971), atténuation insuffisante, production des infectés latents (Bagust *et al.*, 1986) et virulence accrue en raison du passage *in vivo* (d'oiseau-à-oiseau) (Guy *et al.*, 1991). La diffusion des virus vaccinaux de la LTI de poulets vaccinés aux poulets non vaccinés a été démontrée (Andreasen *et al.*, 1989 ; Hilbink *et al.*, 1987 ; Picault *et al.*, 1982 ; Samberg *et al.*, 1971). Une telle diffusion devrait être évitée du fait du retour possible du virus vaccinal à la virulence (Guy *et al.*, 1991). Alternativement, le virus vaccinal peut avoir comme conséquence la maladie clinique chez les poulets non vaccinés dus à l'atténuation insuffisante (James *et al.*, 2008).

II.6.2.2 Vaccins inactivés

Des vaccins expérimentaux ont été préparés à partir du VLTI entièrement inactivé (Guy *et al.*, 1992 ; Fahey *et al.*, 1983), ou des préparations des glycoprotéines du VLTI purifiées (York et Fahey, 1990). 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 (Guy *et al.*, 2008).

II.6.2.3 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 (Guo *et al.*, 1994 ; Okamura *et al.*, 1994). Des auteurs ont développé des virus recombinants du VLTI manquant de la thymidine kinase, un facteur de virulence d'*Herpesvirus*, en insérant des gènes marqueurs Lac-Z dans le gène de la thymidine kinase d'ADN virale (Han *et al.*, 2002 ; Okamura *et al.*, 1994 ; Schnitzlein *et al.*, 1994). Saif *et al.* (1994) 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 a été passée en revue (Bagust et Johnson, 1995). 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.

II.6.2.4 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 (Devlin *et al.*, 2008 ; Keeler *et al.*, 1995). 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.

II.6.2.5 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 (Alls *et al.*, 1969 ; Gelenczei et Marty, 1965 ; Cover *et al.*, 1960). 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) 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 de 10 à 12 jours d'âge, habituellement dans l'eau de boisson (Guy *et al.*, 2008).

II.6.3 Eradication

La LTI reste une maladie importante dans toutes les régions de production intensive de volaille du monde. L'éradication du VLTI nécessite la mise en œuvre d'un programme de contrôle coordonné avec l'effort de coopération des agences gouvernementales, des laboratoires, des producteurs de volaille, des entreprises de santé avicole et des vétérinaires (Dufour et Zavala, 2008). Les mesures de contrôle devraient être axées sur le diagnostic en temps opportun, la mise en œuvre de la biosécurité stricte, le nettoyage et la désinfection, l'application du système d'information géographique (SIG), la vaccination et la communication entre les éleveurs de volailles et les organismes de contrôle (Guy and García, 2008 ; Mallinson *et al.*, 1981). Il existe peu de rapports concernant l'utilisation de médicaments à base de plantes pour le traitement du VLTI. A plus forte concentration, Yinhuangerchen, un mélange à base de plantes chinois a réduit le niveau du VLTI dans les tissus et a également développé une immunité muqueuse, chez les oiseaux traités avec le mélange Yinhuangerchen après 72 heures après l'infection (Zhang *et al.*, 2018). (Cheng *et al.*, 2011) ont découvert que la décoction de Huangqi Maxingshigan, contenant cinq plantes médicinales (Amande, Gypsum fibrosum, Herba ephedrae, Radix astragali, Radix glycythizae) a fourni une défense antioxydante dans le processus anti-LTI. De plus, il peut améliorer l'immunité muqueuse grâce à l'induction de la production d'IgA.

Un plan de biosécurité efficace comprend la quarantaine et l'hygiène du site, la restriction du mouvement des travailleurs, de l'équipement, des aliments, des véhicules et des oiseaux potentiellement contaminés. Une décontamination appropriée des désinfectants et des déchets doit être prise en considération. Les mesures préventives devraient également se concentrer sur le contrôle des oiseaux sauvages, des rongeurs, des chiens et des chats qui accèdent aux étables (Volkova *et al.*, 2012). Les oiseaux morts doivent être correctement enlevés et éliminés en toute sécurité. Un nettoyage et une désinfection appropriés des poulaillers doivent être effectués et le temps d'arrêt doit être prolongé entre les lots suivants. Les troupeaux de poulets de basse-cour et de fantaisie devraient être étroitement surveillés et inclus dans le plan d'éradication car ils peuvent agir comme des réservoirs du VLTI (Mallinson *et al.*, 1981).

En outre, la propagation du virus et la durée d'une épidémie peuvent être réduites par une vaccination thérapeutique. Le niveau maximum de la diversité dans les descendances VLTI a été associée à une fréquence accrue de recombinaison dans les régions « points chauds » du génome du virus (Loncoman *et al.*, 2017).

II.6 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%) (Gomes, 2008 ; Johnson *et al.*, 2004).

Son diagnostic sur le terrain est alors délicat en première intention et le recours au laboratoire représente un moyen de confirmation de l'infection.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'expansion rapide de la population de volailles a conduit à une augmentation des flambées de la LTI dans de nombreuses régions de production de volaille du monde, en particulier dans les pays à forte densité de volaille. La LTI reste une menace importante pour l'industrie avicole. Une meilleure compréhension de la biologie, de l'épidémiologie et de la pathogenèse du virus, ainsi qu'une biosécurité stricte, peuvent aider à contrôler les flambées de maladies. Le plan coordonné comprenant le diagnostic rapide, la mise en œuvre d'une biosécurité stricte, le programme de vaccination, nettoyage, la désinfection et le chauffage appropriés des poulaillers et une communication accrue entre le gouvernement et l'industrie sera l'approche la plus efficace pour contrôler le VLTI.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- A. WILLIAMS, R., SAVAGE, C. E. & JONES, R. 1994. 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 Pathology*, 23, 709-720.
- ADAIR, B., TODD, D., MCKILLOP, E. & BURNS, K. 1985. Comparison of serological tests for detection of antibodies to infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 14, 461-469.
- ALARAJI, F., HAMMADI, H., ABED, A. & KHUDHAIR, Y. Molecular detection and phylogenetic tree of infectious laryngotracheitis virus in layers in Al-Diwaniyah province, Iraq, *Veterinar World*, 12 (4): 605-608. 2019. Abstract.
- ALEXANDER, H. S. & NAGY, É. 1997. Polymerase chain reaction to detect infectious laryngotracheitis virus in conjunctival swabs from experimentally infected chickens. *Avian diseases*, 646-653.
- ALLS, A., IPSON, J. & VAUGHAN, W. 1969. Studies on an ocular infectious laryngotracheitis vaccine. *Avian diseases*, 36-45.
- ANDREASEN JR, J. R., GLISSON, J. R., GOODWIN, M. A., RESURRECCION, R. S., VILLEGAS, P. & BROWN, J. 1989. Studies of infectious laryngotracheitis vaccines: immunity in layers. *Avian diseases*, 524-530.
- ANDREASEN JR, J. R., GLISSON, J. R. & VILLEGAS, P. 1990. Differentiation of vaccine strains and Georgia field isolates of infectious laryngotracheitis virus by their restriction endonuclease fragment patterns. *Avian diseases*, 646-656.
- ARMSTRONG, W. 1959. A slide smear technique for the diagnosis of laryngotracheitis. *Avian diseases*, 3, 80-84.
- ASTON, E. J., JORDAN, B. J., WILLIAMS, S. M., GARCÍA, M. & JACKWOOD, M. W. 2019. Effect of pullet vaccination on development and longevity of immunity. *Viruses*, 11, 135.
- AZIZ, T. 2010. Infectious laryngotracheitis (ILT) targets broilers. *World Poultry*, 25, 28-30.
- BAGUST, T., JONES, R. & GUY, J. 2000. Avian infectious laryngotracheitis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 19, 483-492.
- BAGUST, T. J., B.W.CALNEK & K.J.FAHEY, A. 1986. Laryngotracheitis (gallid-1) herpesvirus infection in the chicken 4. latency establishment by wild and vaccine strains of ILT virus. *Avian Pathology*, 15, 581-595.

Références bibliographiques

- BAGUST, T. J. & JOHNSON, M. A. 1995. Avian infectious laryngotracheitis: Virus-host interactions in relation to prospects for eradication. *Avian Pathology*, 24, 373-391.
- BANG, B. G. & BANG, F. B. 1967. Laryngotracheitis virus in chickens: a model for study of acute nonfatal desquamating rhinitis. *The Journal of experimental medicine*, 125, 409-428.
- BARHOOM, S. Outbreak of laryngotracheitis (LT) in vaccinated commercial layer flocks in Palestine. Proceedings of the 2nd Scientific Conference of animal wealth research in the Middle East and North Africa, Cairo International Convention Center, 24-26 October, 2009, 2009. Massive Conferences and Trade Fairs, 176-182.
- BEACH, J. 1931. A filtrable virus, the cause of infectious laryngotracheitis of chickens. *The Journal of experimental medicine*, 54, 809-816.
- BEAUDETTE, F. 1937. Infectious laryngotracheitis. *Poultry Science*, 16, 103-105.
- BELTRÁN, G., WILLIAMS, S. M., ZAVALA, G., GUY, J. S. & GARCÍA, M. 2017. The route of inoculation dictates the replication patterns of the infectious laryngotracheitis virus (ILTVM) pathogenic strain and chicken embryo origin (CEO) vaccine. *Avian Pathology*, 46, 585-593.
- BENTON, W., COVER, M. & GREENE, L. 1958. The clinical and serological response of chickens to certain laryngotracheitis viruses. *Avian diseases*, 2, 383-396.
- BLAKEY, J., STOUTE, S., CROSSLEY, B. & METE, A. 2019. Retrospective analysis of infectious laryngotracheitis in backyard chicken flocks in California, 2007–2017, and determination of strain origin by partial ICP4 sequencing. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31, 350-358.
- BLACKER HP, KIRKPATRICK NC, RUBITE A, O'ROUKE D, NOORMOHAMMADI AH. 2011. Epidemiology of recent outbreaks of infectious laryngotracheitis in poultry in Australia. *Aust Vet J.* 89(3):89–94.
- BOUDERBAL 2018. evolution de la laryngotrachéite en Algérie. *dick-ceva*.
- BRANDLY, C. 1936. Studies on the egg-propagated viruses of infectious laryngotracheitis and fowl pox. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 88, 587-599.
- BRANDLY, C. & BUSHNELL, L. 1934. A report of some investigations of infectious laryngotracheitis. *Poultry Science*, 13, 212-217.
- 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

Références bibliographiques

- BRYANT, N. A., DAVIS-POYNTER, N., VANDERPLASSCHEN, A. & ALCAMI, A. 2003. Glycoprotein G isoforms from some alphaherpesviruses function as broad-spectrum chemokine binding proteins. *The EMBO journal*, 22, 833-846.
- BURNET, F. 1934. The propagation of the virus of infectious laryngo-tracheitis on the chorio-allantoic membrane of the developing egg. *British Journal of Experimental Pathology*, 15, 52.
- CALLISON, S., RIBLET, S., OLDONI, I., SUN, S., ZAVALA, G., WILLIAMS, S., RESURRECCION, R., SPACKMAN, E. & GARCIA, M. 2007. 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, 31-38.
- CHACÓN, J. L., NÚÑEZ, L. F. N., VEJARANO, M. P., PARRA, S. H. S., ASTOLFI-FERREIRA, C. S. & FERREIRA, A. J. P. 2015. Persistence and spreading of field and vaccine strains of infectious laryngotracheitis virus (ILTV) in vaccinated and unvaccinated geographic regions, in Brazil. *Tropical animal health and production*, 47, 1101-1108.
- CHANG, YATES V.J. & D.E., D. A. H. F. 1960. Some observations of the propagation of infectious laryngotracheitis virus in tissue culture. *Avian diseases*, 4, 484-490.
- CHANG, P.-C., LEE, Y.-L., SHIEN, J.-H. & SHIEH, H. K. 1997. Rapid differentiation of vaccine strains and field isolates of infectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism of PCR products. *Journal of virological methods*, 66, 179-186.
- CHANG, P., JASTY, V., FRY, D. & YATES, V. 1973. Replication of a cell-culture-modified infectious laryngotracheitis virus in experimentally infected chickens. *Avian diseases*, 683-689.
- CHENG, J., LI, Q., SHI, W. & ZHONG, X. 2011. Effects of Huangqi Maxingshigan decoction on infectious laryngotracheitis in chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 10, e24.
- CLARKE, J., ROBERTSON, G. & PURCELL, D. 1980. Spray vaccination of chickens using infectious laryngotracheitis virus. *Australian Veterinary Journal*, 56, 424-428.
- COPPO, M. J., HARTLEY, C. A. & DEVLIN, J. M. 2013. Immune responses to infectious laryngotracheitis virus. *Developmental & Comparative Immunology*, 41, 454-462.
- COVER, M. & BENTON, W. 1958. The biological variation of the infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 2, 375-383.
- COVER, M., BENTON, W. & KRAUSS, W. 1960. The effect of parental immunity and age on the response to infectious laryngotracheitis vaccination. *Avian diseases*, 4, 467-473.

Références bibliographiques

- COVER, M. S. 1996. The early history of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 40, 494-500.
- CREELAN, J. L., CALVERT, V. M., GRAHAM, D. A. & MCCULLOUGH, S. J. 2006. 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, 173-179.
- CRUICKSHANK, J., BERRY, D. & HAY, B. 1963. The fine structure of infectious laryngotracheitis virus. *Virology*, 20, 376-378.
- DALAB, A. E. 2012. Molecular Diagnosis of Explosive Outbreak of Infectious Laryngotracheitis (ILT) by Polymerase Chain Reaction in Palestine. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 36.
- DAVIDSON, I., RAIBSTEIN, I. & ALTORY, A. 2015. Differential diagnosis of fowlpox and infectious laryngotracheitis viruses in chicken diphtheritic manifestations by mono and duplex real-time polymerase chain reaction. *Avian Pathology*, 44, 1-4.
- DAVISON, A. J., EBERLE, R., EHLERS, B., HAYWARD, G. S., MCGEOCH, D. J., MINSON, A. C., PELLETT, P. E., ROIZMAN, B., STUDDERT, M. J. & THIRY, E. 2009. The order herpesvirales. *Archives of virology*, 154, 171-177.
- DAVISON, S., SMITH, G. & ECKROADE, R. J. 1989. Laryngotracheitis in chickens: the length of the preinfectious and infectious periods. *Avian diseases*, 18-23.
- DE MACEDO COUTO, R., PREIS, I. S., BRAGA, J. F. V., BRASIL, B. S., DRUMMOND, M. G., DA SILVA MARTINS, N. R. & ECCO, R. 2015. Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus in naturally infected egg layer chickens in a multi-age flock in Brazil. *Archives of virology*, 160, 241-252.
- DEVLIN, J., BROWNING, G., GILKERSON, J., FENTON, S. & HARTLEY, C. 2008. 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, 83-88.
- DEVLIN, J. M., VIEJO-BORBOLLA, A., BROWNING, G. F., NOORMOHAMMADI, A. H., GILKERSON, J. R., ALCAMI, A. & HARTLEY, C. A. 2010. Evaluation of immunological responses to a glycoprotein G deficient candidate vaccine strain of infectious laryngotracheitis virus. *Vaccine*, 28, 1325-1332.
- DOBSON, N. 1935. Infectious laryngotracheitis in poultry. *Vet Rec*, 15, 1467-1471.
- DUFOUR-ZAVALA, L. 2008. Epizootiology of infectious laryngotracheitis and presentation of an industry control program. *Avian diseases*, 52, 1-7.
- EBRAHIMI, POURBAKHS S.A., SHAHSAVANDI, S., MOMAYEZ, R. & AND GHOLAMI, M. R. 2003a. Isolation and Identification of Infectious Laryngotracheitis Virus from Commercial Flocks of Iran Using Various Techniques. *Arch. Razi Ins.*, 56, 11-22.

Références bibliographiques

- EBRAHIMI , POURBAKSH S.A., SHAHSAVANDI, S., MOMAYEZ, R., AND GHOLAMI, M. R. & 2003b. Isolation and Identification of Infectious Laryngotracheitis Virus from Commercial Flocks of Iran Using Various Techniques. *Arch. Razi Ins.*, 56, 11-22.
- ERIC, GINGERICH & DAVISON, A. S. 2005. Current practices to control infectious Laryngotracheitis in the U.S. *Northeastern Conference on Avian Diseases*, 37-39.
- FAHEY, K., BAGUST, T. & YORK, J. 1983. Laryngotracheitis herpesvirus infection in the chicken: the role of humoral antibody in immunity to a graded challenge infection. *Avian Pathology*, 12, 505-514.
- FAHEY, K. J. & YORK, J. J. 1990. The role of mucosal antibody in immunity to infectious laryngotracheitis virus in chickens. *Journal of general virology*, 71, 2401-2405.
- FITZGERALD, J. E. & HANSON, L. 1963. A comparison of some properties of laryngotracheitis and herpes simplex viruses. *American journal of veterinary research*, 24, 1297-1303.
- FULTON, R., SCHRADER, D. & WILL, M. 2000. Effect of route of vaccination on the prevention of infectious laryngotracheitis in commercial egg-laying chickens. *Avian diseases*, 8-16.
- GARCÍA, M. 2017. Current and future vaccines and vaccination strategies against infectious laryngotracheitis (ILT) respiratory disease of poultry. *Veterinary Microbiology*, 206, 157-162.
- GARCÍA, M. & ZAVALA, G. 2019. Commercial vaccines and vaccination strategies against infectious laryngotracheitis: what we have learned and knowledge gaps that remain. *Avian diseases*, 63, 325-334.
- GELENCZEI, E. & MARTY, E. 1965. Strain stability and immunologic characteristics of a tissue-culture-modified infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 9, 44-56.
- GIAMBRONE, J., FAGBOHUN, O. & MACKLIN, K. 2008. Management practices to reduce infectious laryngotracheitis virus in poultry litter. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 64-68.
- GLORIEUX, S., FAVOREEL, H., MEESEN, G., VAN DEN BROECK, W. & NAUWYNCK, H. 2009. Different replication characteristics of historical pseudorabies virus strains in porcine respiratory nasal mucosa explants. *Veterinary Microbiology*, 136, 341-346.
- GODOY, A., ICARD, A., MARTINEZ, M., MASHCHENKO, A., GARCÍA, M. & EL-ATTRACHE, J. 2013. Detection of infectious laryngotracheitis virus antibodies by glycoprotein-specific ELISAs in chickens vaccinated with viral vector vaccines. *Avian diseases*, 57, 432-436.
- GOMES, B. 2008. mise en oeuvre et gestion des mesures de protection de la santé animale contre la Laryngotrachéite infectieuse aviaire dans la région de Bastos, Jaboticabal, Sao Paulo, Brésil.

Références bibliographiques

- GORAYA, M. U., ALI, L. & YOUNIS, I. 2017. Innate immune responses against avian respiratory viruses. *Hosts and Viruses*, 4, 78.
- GOUGH, A., PETTIT, J., GAGNON, A. & WEBER, L. 1977. An outbreak of infectious laryngotracheitis in commercial poultry flocks in Ontario. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 41, 146.
- GOWTHAMAN, V., KUMAR, S., KOUL, M., DAVE, U., MURTHY, T. G. K., MUNUSWAMY, P., TIWARI, R., KARTHIK, K., DHAMA, K. & MICHALAK, I. 2020. Infectious laryngotracheitis: Etiology, epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control—a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 40, 140-161.
- GOWTHAMAN, V., SINGH, S. D., DHAMA, K., BARATHIDASAN, R., MATHAPATI, B. S., SRINIVASAN, P., SARAVANAN, S. & RAMAKRISHNAN, M. A. 2014. Molecular detection and characterization of infectious laryngotracheitis virus (Gallid herpesvirus-1) from clinical samples of commercial poultry flocks in India. *VirusDisease*, 25, 345-349.
- GRIFFIN, A. & BOURSNEILL, M. 1990. 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. *Journal of general virology*, 71, 841-850.
- GUO, P., SCHOLZ, E., MALONEY, B. & WELNIAK, E. 1994. Construction of recombinant avian infectious laryngotracheitis virus expressing the β -galactosidase gene and DNA sequencing of the insertion region. *Virology*, 202, 771-781.
- GUO, P., SCHOLZ, E., TUREK, J., NODGREEN, R. & MALONEY, B. 1993. Assembly pathway of avian infectious laryngotracheitis virus. *American journal of veterinary research*, 54, 2031-2039.
- GUY, JAMES S. & GARCIA, M. 2008. Laryngotracheitis. *Diseases of poultry*, 137-152.
- GUY, J. & BAGUST, T. 2003. Laryngotracheitis, In *Diseases of poultry*, 11th Ed. Iowa State University Press, Ames, 121-134.
- GUY, J., BARNES, H. & SMITH, L. G. 1992. Rapid diagnosis of infectious laryngotracheitis using a monoclonal antibody-based immunoperoxidase procedure. *Avian Pathology*, 21, 77-86.
- GUY, J. & GARCÍA, M. 2008. Laryngotracheitis, [in:] Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LL, Nolan LK, Swayne DE: *Diseases of Poultry*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA.
- GUY, J. S. 2008. Laryngotracheitis. *Diseases of poultry*, 137-152.
- GUY, J. S., BARNES, H. J. & MORGAN, L. M. 1990. Virulence of infectious laryngotracheitis viruses: comparison of modified-live vaccine viruses and North Carolina field isolates. *Avian diseases*, 106-113.

Références bibliographiques

- GUY, J. S., BARNES, H. J. & SMITH, L. 1991. Increased virulence of modified-live infectious laryngotracheitis vaccine virus following bird-to-bird passage. *Avian diseases*, 348-355.
- HAN, M., KWEON, C., MO, I. & KIM, S. 2002. Pathogenicity and vaccine efficacy of a thymidine kinase gene deleted infectious laryngotracheitis virus expressing the green fluorescent protein gene. *Archives of virology*, 147, 1017-1031.
- HAN, M. G. & KIM, S. J. 2001. Analysis of Korean strains of infectious laryngotracheitis virus by nucleotide sequences and restriction fragment length polymorphism. *Veterinary Microbiology*, 83, 321-331.
- HANSON & BAGUST 1991. Infectious laryngotracheitis. In: Calnek BW, editor. *Diseases of Poultry 9th edition*, 485–495.
- HAYASHI, S., ODAGIRI, Y., KOTANI, T. & HORIUCHI, T. 1985. Pathological changes of tracheal mucosa in chickens infected with infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 943-950.
- HIDALGO, H. 2003. Infectious laryngotracheitis: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 5, 157-168.
- HILBINK, F., OEI, H. & VAN ROOZELAAR, D. 1987. Virulence of five live vaccines against avian infectious laryngotracheitis and their immunogenicity and spread after eyedrop or spray application. *Veterinary Quarterly*, 9, 215-225.
- HILBINK, F., SMIT, T. & YADIN, H. 1981. Drinking water vaccination against infectious laryngotracheitis. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 45, 120.
- HINSHAW, W., JONES, E. & GRAYBILL, H. 1931. A study of mortality and egg production in flocks affected with infectious laryngotracheitis. *Poultry Science*, 10, 375-382.
- HITCHNER, S. Virus concentration as a limiting factor in immunity response to laryngotracheitis vaccines. *JOURNAL OF THE AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION*, 1969. AMER VETERINARY MEDICAL ASSOC 1931 N MEACHAM RD SUITE 100, SCHAUMBURG, IL ..., 1425-&.
- HITCHNER, S., FABRICANT, J. & BAGUST, T. 1977. A fluorescent-antibody study of the pathogenesis of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 185-194.
- HODGSON, T. N. L. A. C. 2009. 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*,.
- HONESS, R. W. & ROIZMAN, B. 1974. Regulation of herpesvirus macromolecular synthesis I. Cascade regulation of the synthesis of three groups of viral proteins. *Journal of virology*, 14, 8-19.

Références bibliographiques

- HUGHES, C., JONES, R., GASKELL, R., JORDAN, F. & BRADBURY, J. 1987. Demonstration in live chickens of the carrier state in infectious laryngotracheitis. *Research in Veterinary Science*, 42, 407-410.
- HUGHES, C., WILLIAMS, R., GASKELL, R., JORDAN, F., BRADBURY, J., BENNETT, M. & JONES, R. 1991. Latency and reactivation of infectious laryngotracheitis vaccine virus. *Archives of virology*, 121, 213-218.
- HUGHES, C. S. & JONES, R. 1988. Comparison of cultural methods for primary isolation of infectious laryngotracheitis virus from field material. *Avian Pathology*, 17, 295-303.
- HUMBERD, J., GARCÍA, M., RIBLET, S. M., RESURRECCION, R. & BROWN, T. 2002. Detection of infectious laryngotracheitis virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues by nested polymerase chain reaction. *Avian diseases*, 46, 64-74.
- IZUCHI, T. & HASEGAWA, A. 1982. Pathogenicity of infectious laryngotracheitis virus as measured by chicken embryo inoculation. *Avian diseases*, 18-25.
- IZUCHI, T., HASEGAWA, A. & MIYAMOTO, T. 1984. 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 diseases*, 323-330.
- JAMES S, J., G. A. T. & BAGUST 2008. Laryngotracheitis in : SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry, 12th Edition*, 121-134.
- JORDAN 1958. Some observations of laryngotracheitis. *Vet Rec*, 605-610.
- JORDAN & CHUBB 1962. The agar gel diffusion technique in the diagnosis of infectious laryngotracheitis (ILT) and its differentiation from fowl pox. *Res. Vet. Sci.*, 245-255.
- JORDAN, F. 1966. A review of the literature on infectious laryngotracheitis (ILT). *Avian diseases*, 10, 1-26.
- JORDAN, F. 1981. Immunity to infectious laryngotracheitis. British Poultry Science Ltd. Edinburgh.
- KEAM, L., YORK, J. J., SHEPPARD, M. & FAHEY, K. 1991. Detection of infectious laryngotracheitis virus in chickens using a non-radioactive DNA probe. *Avian diseases*, 257-262.
- KEELER C JR, POULSEN D, ROBINSON H, SANTORO J & THUREEN D. 1995. Immunization of chickens with gene (DNA) vaccines. *132nd Annual Meeting of the AVMA*, 143.
- KEELER, J., CALVIN, L., KINGSLEY, DAVID, H., BURTON & CATHERINE, R. A. 1991. Identification of the thymidine kinase gene of infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 920-929.
- KEELER JR, C. L., HAZEL, J. W., HASTINGS, J. E. & ROSENBERGER, J. K. 1993. Restriction endonuclease analysis of Delmarva field isolates of infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 418-426.

Références bibliographiques

- KERNOHAN, G. 1931. Infectious laryngotracheitis in fowls. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 78, 196-202.
- KIRKPATRICK, N. C., MAHMOUDIAN, A., COLSON, C. A., DEVLIN, J. M. & NOORMOHAMMADI, A. H. 2006. Relationship between mortality, clinical signs and tracheal pathology in infectious laryngotracheitis. *Avian Pathology*, 35, 449-453.
- KOTIW, M., WILKS, C. & MAY, J. 1982. Differentiation of infectious laryngotracheitis virus strains using restriction endonucleases. *Avian diseases*, 718-731.
- LEIB, D., BRADBURY, J. M., GASKELL, R. M., HUGHES, C. S. & JONES, R. 1986. Restriction endonuclease patterns of some European and American isolates of avian infectious laryngotracheitis virus. *Avian diseases*, 835-837.
- LINARES, J., BICKFORD, A., COOPER, G., CHARLTON, B. & WOOLCOCK, P. 1994. An outbreak of infectious laryngotracheitis in California broilers. *Avian diseases*, 188-192.
- LOHR, J. 1977. Causes of sudden drop in egg production in New Zealand laying flocks. *New Zealand veterinary journal*, 25, 100-102.
- LONCOMAN, C. A., HARTLEY, C. A., COPPO, M. J., VAZ, P. K., DIAZ-MÉNDEZ, A., BROWNING, G. F., LEE, S.-W. & DEVLIN, J. M. 2017. Development and application of a TaqMan single nucleotide polymorphism genotyping assay to study infectious laryngotracheitis virus recombination in the natural host. *PLoS One*, 12, e0174590.
- MALLINSON, E., MILLER, K. & MURPHY, C. 1981. Cooperative control of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 723-729.
- MAY, H. G. & TITSLER, R. P. 1925. Tracheo-laryngotracheitis in poultry. *J Am Vet Med Assoc*, 67, 229-231.
- MCNULTY, M., ALLAN, G. & MCCRACKEN, R. 1985. Infectious laryngotracheitis in Ireland. *Irish Veterinary Journal*, 39, 124-125.
- METTENLEITER, T. C. 2002. Herpesvirus assembly and egress. *Journal of virology*, 76, 1537-1547.
- MEULEMANS, G. & HALEN, P. 1978. Some physico-chemical and biological properties of a Belgian strain (u 76/1035) of infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 7, 311-315.
- MOLGARD, P. & CAVETT, J. 1947. The feather follicle method of vaccinating with fowl laryngotracheitis vaccine. *Poultry Science*, 26, 563-567.
- MONTGOMERY, R. D., MAGEE, D. L., WATSON, J. A., HUBBARD, S. A., WILSON, F. D., CUMMINGS, T. S., LUNA, G. L., MASLIN, W. R., SADLER, C. R. & THORNTON, D. L. 2007. An episode of infectious

Références bibliographiques

- laryngotracheitis affecting Mississippi broiler-breeders and broilers in 2002-2003. *Mississippi Agric. and Forestry Expt. Sta. Bull*, 1160, 1-39.
- NAGY, E. 1992. Detection of infectious laryngotracheitis virus infected cells with cloned DNA probes. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 56, 34.
- NAKAMICHI, K., MATSUMOTO, Y. & OTSUKA, H. 2002. Bovine herpesvirus 1 glycoprotein G is necessary for maintaining cell-to-cell junctional adherence among infected cells. *Virology*, 294, 22-30.
- NEFF, C., SUDLER, C. & HOOP, R. 2008. Characterization of western European field isolates and vaccine strains of avian infectious laryngotracheitis virus by restriction fragment length polymorphism and sequence analysis. *Avian diseases*, 52, 278-283.
- NEIGHBOR, N., NEWBERRY, L., BAYYARI, G., SKEELES, J., BEASLEY, J. & MCNEW, R. 1994. The effect of microaerosolized hydrogen peroxide on bacterial and viral poultry pathogens. *Poultry Science*, 73, 1511-1516.
- OIE 2014. Avian infectious laryngotracheitis. *Man Diagn Tests Vaccines Terr Anim*, Chapter 2.3.3.
- OIE 2018. Chapter : 2.3.3 Avian infectious laryngotracheitis. *OIE terrestrial manuel*.
- OJKIC, D., SWINTON, J., VALLIERES, M., MARTIN, E., SHAPIRO, J., SANEI, B. & BINNINGTON, B. 2006. Characterization of field isolates of infectious laryngotracheitis virus from Ontario. *Avian Pathology*, 35, 286-292.
- OKAMURA, H., SAKAGUCHI, M., HONDA, T., TANENO, A., MATSUO, K. & YAMADA, S. 1994. Construction of recombinant infectious laryngotracheitis virus expressing the LacZ gene of E. coli with thymidine kinase gene. *Journal of Veterinary Medical Science*, 56, 799-801.
- OLDONI, I., RODRIGUEZ-AVILA, A., RIBLET, S. M., ZAVALA, G. & GARCIA, M. 2009. Pathogenicity and growth characteristics of selected infectious laryngotracheitis virus strains from the United States. *Avian Pathology*, 38, 47-53.
- OLLIS, G. 2008. Infectious laryngotracheitis in poultry
Agri-Facts
- OU, S., GIAMBRONE, J. & MACKLIN, K. 2011. Infectious laryngotracheitis vaccine virus detection in water lines and effectiveness of sanitizers for inactivating the virus. *Journal of Applied Poultry Research*, 20, 223-230.
- PICAULT, J., GUITTET, M. & BENNEJEAN, G. 1982. Innocuite et activite de differents vaccins de la laryngotracheite infectieuse aviaire. *Avian Pathology*, 11, 39-48.

Références bibliographiques

- PLUMMER, G., GOODHEART, C., HENSON, D. & BOWLING, C. 1969. A comparative study of the DNA density and behavior in tissue cultures of fourteen different herpesviruses. *Virology*, 39, 134-137.
- PREIS, I. S., BRAGA, J. F., COUTO, R. M., BRASIL, B. S., MARTINS, N. R. & ECCO, R. 2013. Outbreak of infectious laryngotracheitis in large multi-age egg layer chicken flocks in Minas Gerais, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 591-596.
- PRIDEAUX, C., KONGSUWAN, K., JOHNSON, M., SHEPPARD, M. & FAHEY, K. 1992. Infectious laryngotracheitis virus growth, DNA replication, and protein synthesis. *Archives of virology*, 123, 181-192.
- PULSFORD, M. & STOKES, J. 1953. Infectious laryngotracheitis in South Australia: a note on its occurrence and a survey of the distribution of antibodies active against the virus. *Australian Veterinary Journal*, 29, 8-12.
- PURCELL, D. 1971. Histopathology of infectious laryngotracheitis in fowl infected by an aerosol. *Journal of comparative pathology*, 81, 421-431.
- PURCELL, D. & MCFERRAN, J. 1969. Influence of method of infection on the pathogenesis of infectious laryngotracheitis. *Journal of comparative pathology*, 79, 285-291.
- PURCELL, D. & SURMAN, P. 1974. Aerosol administration of the SA-2 vaccine strain of infectious laryngotracheitis virus. *Australian Veterinary Journal*, 50, 419-420.
- RAGGI, L. & LEE, G. 1965. Infectious laryngotracheitis outbreaks following vaccination. *Avian diseases*, 9, 559-565.
- REDDY, V. R., STEUKERS, L., LI, Y., FUCHS, W., VANDERPLASSCHEN, A. & NAUWYNCK, H. J. 2014. Replication characteristics of infectious laryngotracheitis virus in the respiratory and conjunctival mucosa. *Avian Pathology*, 43, 450-457.
- ROBERTSON, G. & EGERTON, J. 1981. Replication of infectious laryngotracheitis virus in chickens following vaccination. *Australian Veterinary Journal*, 57, 119-123.
- ROIZMAN, B. 1996. Herpes simplex viruses and their replication. *Virology*, 2231-2295.
- RP, P., CF, H. & EL, J. 1957. A rapid histological technique for the diagnosis of infectious avian laryngotracheitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 130, 406-408.
- RUANO, M., EL-ATTRACHE, J. & VILLEGAS, P. 2001. Efficacy comparisons of disinfectants used by the commercial poultry industry. *Avian diseases*, 972-977.

Références bibliographiques

- RUSSELL, R. 1983. Respiratory tract lesions from infectious laryngotracheitis virus of low virulence. *Veterinary pathology*, 20, 360-369.
- RUSSELL, R. & TURNER, A. 1983. Characterization of infectious laryngotracheitis viruses, antigenic comparison by kinetics of neutralization and immunization studies. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 47, 163.
- SAEPULLOH, M. 2004. Molecular characterization of infectious laryngotracheitis virus (ILT) isolates from outbreak cases at Lipa City, Batangas Province, The Philippines. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 9, 26-36.
- SAIF, Y. M., J. K. ROSENBERGER, S. S. CLOUD, M. A. WILD, J. K. MCMILLEN, A. R. D., SCHWARTZ. & EFFICACY AND SAFETY OF A RECOMBINANT HERPESVIRUS OF TURKEYS CONTAINING GENES FROM INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS VIRUS, P. A. V. M. A. M., MN, (1994), 154. 1994. Efficacy and safety of a recombinant herpesvirus of turkeys containing genes from infectious laryngotracheitis virus. *Proc Am Vet Med Assoc: Minneapolis*, 154.
- SAMBERG, Y. & ARONOVICI, I. 1969. development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis. I. Modification of a laryngotracheitis virus. *Refuah Vet*.
- SAMBERG, Y., CUPERSTEIN, E., BENDHEIM, U. & ARONOVICI, I. 1971. The development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis IV. Immunization of chickens with a modified laryngotracheitis vaccine in the drinking water. *Avian diseases*, 413-417.
- SARY, K., CHÉNIER, S., GAGNON, C. A., SHIVAPRASAD, H., SYLVESTRE, D. & BOULIANNE, M. 2017. Esophagitis and pharyngitis associated with avian infectious laryngotracheitis in backyard chickens: two cases. *Avian diseases*, 61, 255-260.
- SCHNITZLEIN, W. M., RADZEVICIUS, J. & TRIPATHY, D. N. 1994. Propagation of infectious laryngotracheitis virus in an avian liver cell line. *Avian diseases*, 211-217.
- SCHOLZ, E., PORTER, R. E. & GUO, P. 1994. Differential diagnosis of infectious laryngotracheitis from other avian respiratory diseases by a simplified PCR procedure. *Journal of virological methods*, 50, 313-321.
- SEDDON, H. 1935. The occurrence of infectious laryngo-tracheitis in fowls in New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 11, 212-223.
- SEIFRIED, O. 1931. Histopathology of infectious laryngotracheitis in chickens. *The Journal of experimental medicine*, 54, 817-826.

Références bibliographiques

- SHAN-CHIA, O. 2010. *Improved Detection and Control of Infectious Laryngotracheitis Virus on Poultry Farms*.
- SHIBLEY, G., LUGINBUHL, R. & HELMBOLDT, C. 1962. A study of infectious laryngotracheitis virus. I. Comparison of serologic and immunogenic properties. *Avian diseases*, 6, 59-71.
- SINKOVIC, B. & HUNT, S. 1968. Vaccination of day-old chickens against infectious laryngotracheitis by conjunctival instillation. *Australian Veterinary Journal*, 44, 55-57.
- SRINIVASAN, P., BALACHANDRAN, C., MURTHY, T., SARAVANAN, S., PAZHANIVEL, N., MOHAN, B. & MANOHAR, B. M. 2012. Pathology of infectious laryngotracheitis in commercial layer chicken.
- STEUKERS, L., VANDEKERCKHOVE, A. P., VAN DEN BROECK, W., GLORIEUX, S. & NAUWYNCK, H. J. 2012. Kinetics of BoHV-1 dissemination in an in vitro culture of bovine upper respiratory tract mucosa explants. *ILAR journal*, 53, E43-E54.
- THILAKARATHNE DS, HARTLEY CA, DIAZ-MENDEZ A, COPPO MJC, DEVLIN JM. 2020. Development and application of a combined molecular and tissue culture-based approach to detect latent infectious laryngotracheitis virus (ILT) in chickens. *J Virol Methods*. 277:113797.
- TIMURKAAN, N., YILMAZ, F., BULUT, H., OZER, H. & BOLAT, Y. 2003. Pathological and immunohistochemical findings in broilers inoculated with a low virulent strain of infectious laryngotracheitis virus. *Journal of veterinary science*, 4, 175-180.
- TRAN, L. C., KISSNER, J. M., WESTERMAN, L. E. & SEARS, A. E. 2000. A herpes simplex virus 1 recombinant lacking the glycoprotein G coding sequences is defective in entry through apical surfaces of polarized epithelial cells in culture and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 1818-1822.
- TRIPATHY, D. & REED, W. 2013. *Pox. Dis Poultry*. Swayne CDE, editor. USA: Wiley-Blackwell.
- TULLY, T. N. 1995. Avian respiratory diseases: clinical overview. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 9, 162-174.
- VAN KAMMEN, A. & SPRADBROW, P. 1976. Rapid diagnosis of some avian virus diseases. *Avian diseases*, 748-751.
- VANDERKOP, M. A. 1993. Alberta. Infectious laryngotracheitis in commercial broiler chickens. *The Canadian Veterinary Journal*, 34, 185.
- VASUDEVAN, G., MONIKA, K. & SACHIN, K. 2016. Avian infectious laryngotracheitis: A neglected poultry health threat in India. *Vaccine*, 34, 4276-4277.

Références bibliographiques

- VOLKOVA, V., THORNTON, D., HUBBARD, S. A., MAGEE, D., CUMMINGS, T., LUNA, L., WATSON, J. & WILLS, R. 2012. Factors associated with introduction of infectious laryngotracheitis virus on broiler farms during a localized outbreak. *Avian diseases*, 56, 521-528.
- WATRACH, A. M., L. E. HANSON & WATRACH., A. M. A. 1963. The structure of infectious laryngotracheitis virus. *Virologie*, 21, 601-608.
- WILKS, C. & KOGAN, V. 1979. An immunofluorescence diagnostic test for avian infectious laryngotracheitis. *Australian Veterinary Journal*, 55, 385-388.
- WILLIAMS, R., BENNETT, M., BRADBURY, J., GASKELL, R., JONES, R. & JORDAN, F. 1992. Demonstration of sites of latency of infectious laryngotracheitis virus using the polymerase chain reaction. *Journal of general virology*, 73, 2415-2420.
- WINTERFIELD, R. W. & SO., A. I. G. 1968. Susceptibility of turkeys to infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 12, 191-202.
- YAMADA, S., MATSUO, K., FUKUDA, T. & UCHINUNO, Y. 1980. Susceptibility of ducks to the virus of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 930-938.
- YAN, Z., LI, S., XIE, Q., CHEN, F. & BI, Y. 2016. Characterization of field strains of infectious laryngotracheitis virus in China by restriction fragment length polymorphism and sequence analysis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28, 46-49.
- YORK, J. J. & FAHEY, K. 1990. Humoral and cell-mediated immune responses to the glycoproteins of infectious laryngotracheitis herpesvirus. *Archives of virology*, 115, 289-297.
- YORK, J. J., YOUNG, J. & FAHEY, K. 1989. The appearance of viral antigen and antibody in the trachea of naive and vaccinated chickens infected with infectious laryngotracheitis virus. *Avian Pathology*, 18, 643-658.
- ZELLEN, G., WEBER, L. & MARTIN, S. 1984. Infectious laryngotracheitis in the Niagara Peninsula: a case control study. *The Canadian Veterinary Journal*, 25, 75.
- ZHANG, T., CHEN, J., WANG, C., SHI, W. & LI, D. 2018. The therapeutic effect of Yinhuangerchen mixture on Avian infectious laryngotracheitis. *Poultry Science*, 97, 2690-2697.