

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Master

en

Médecine vétérinaire

THEME

Suivie sérologique « ELISA » de la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène et de la maladie de Newcastle chez la dinde chair dans la wilaya de Sétif

Présenté par :

Mr : DJAHNIT Lyamine

Mr : ABDESSELAM Mustapha

Mr : DJAFFAR Abdnnour

Soutenu publiquement, le 10/12/2020. Devant le jury :

Mr KHELEF Djamel

Professeur (ENSV)

Président

Mr SALHI Omar

MCA (ISV Blida)

Examineur

Mr MESSAI Chafik Redha

MCA (ENSV)

Promoteur

2019-2020

Dédicace :

Nous dédions ce modeste travail

A NOS CHERS PARENTS ;

Aucune dédicace ne saurait exprimer notre respect, gratitude éternelle et notre considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre instruction et bien être.

Nous vous remercions pour tout le soutien que vous nous portez depuis notre enfance et j'espère que votre bénédiction nous accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulé, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A nos amis et frères ;

Avec qui on a eu le plaisir de partager 5 ans d'expériences joyeuses que nous garderions à vie.

A notre professeur et encadreur,

Qui nous a aidé durant notre parcours d'études et encouragé à accomplir ce travail

Remerciements :

En tout premier lieu, nous remercions le bon dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force et la volonté pour accomplir ce modeste travail,

Deuxièmement, nous souhaitons exprimer notre gratitude au docteur MESSAI CHAFIK REDHA, pour ces conseils et sa disponibilité sans limite, qui a contribué à notre formation et qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi au Pr KHELEF DJAMEL, d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous tenons à remercier également Mr SALHI OMAR, d'avoir accepté d'être examinateur de ce travail.

Nous remercions également Dr CHORFA ABDELHAFID pour son aide et de nous avoir permis de travailler au sein de son laboratoire pour la réalisation de cette étude.

Enfin, nous tenons à remercier les enseignants, vétérinaires et toutes les personnes qui nous ont aidé le long de ce parcours et à la réalisation de ce modeste projet.

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné **Mr DJAHNIT Lyamine**, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'D' followed by a cursive 'JAHNIT' and a final flourish.

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné **Mr ABDESSELAM Mustapha**, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Mustapha', written in a cursive style.

Déclaration sur l'honneur

Je soussigné **Mr DJAFFAR Abdnnour**, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'E. A.', written in a cursive style.

RESUME :

Une étude sérologique a été menée au sein de quatre élevages de dinde chair dans la wilaya de Sétif en Algérie. L'objectif a été de détecter un passage viral ainsi d'évaluer la qualité de la vaccination.

Une étude sérologique par la technique ELISA vis-à-vis des virus de la maladie de l'influenza aviaire (H9N2) et de Newcastle (ND). Les échantillons de sérum ont été soumis au test Elisa indirect en utilisant les kits IDvet FLU H9, NDV. Pour les élevages de dinde chair concernés

Les scores sérologiques suivants ont été enregistrés : les moyennes des titres et les coefficients de variabilité :

De l'influenza pour l'élevage « A » (MT=19247) (CV=13) ; pour l'élevage « B » (MT=537) (CV=146) ; pour l'élevage « C » (MT=20216) (CV=2) ; pour l'élevage « D » (MT=340) (CV=76).

De la maladie de Newcastle pour l'élevage « A » (MT=7268) (CV=46) ; pour l'élevage « B » (MT=10486) (CV=21) ; pour l'élevage « C » (MT=7103) (CV=46) ; pour l'élevage « D » (MT=10931) (CV=23).

En conclusion ce travail a montré une pression virale élevée sur le terrain et des échecs de vaccination ainsi la disposition d'une base de données pour la mise en place d'un programme de prophylaxie médicale spécifique aux conditions épidémiologiques des élevages et une vaccination adéquate sont nécessaires pour baisser la pression des virus circulante et améliorer la rentabilité des élevages.

Mots clé :

Dinde chair –influenza aviaire–Maladie de Newcastle – Vaccination – ELISA– Sétif.

ملخص

أجريت الدراسة السيرولوجية في أربع مزارع للدريك الرومي اللاحم بولاية سطيف بالجزائر. كان الهدف هو اكتشاف ممر فيروسي وتقييم جودة التطعيم.

دراسة مصلية باستخدام تقنية ELISA ضد فيروسات مرض أنفلونزا الطيور (H9N2) في نيوكاسل. تم إخضاع عينات المصل لاختبار ELISA غير المباشر باستخدام مجموعة IDvet FLU H9، NDV. لمزارع الدريك الرومي اللاحم المعنية

تم تسجيل الدرجات المصلية التالية: متوسطات العيار ومعاملات التباين:

الأنفلونزا للمزرعة "أ" (MT=19247) (CV = 13) ؛ للمزرعة "ب" (CV=146) (MT=537)؛ للمزرعة "ج" (MT=20216) (CV=2)؛ للمزرعة "د" (CV=76) (MT=340) .

مرض نيوكاسل للمزرعة "أ" (MT = 7268) (CV = 46) ؛ للمزرعة "ب" (CV=21) (MT=10486)؛ للمزرعة "ج" (MT=7103) (CV=46)؛ للمزرعة "د" (CV=23) (MT=10931) .

في الختام ، أظهر هذا العمل وجود ضغط فيروسي مرتفع في الحقل وفشل التطعيم ، وبالتالي توفر قاعدة بيانات لإنشاء برنامج الوقاية الطبية الخاص بالظروف الوبائية للمزارع والتحصين المناسب ضروري لخفض ضغط الفيروسات المنتشرة وتحسين ربحية المزارع.

الكلمات الدالة:

دريك رومي اللاحم - أنفلونزا الطيور - مرض نيوكاسل - التطعيم - إيليسا - سطيف.

SUMMARY:

A serological study was conducted in four meat turkey farms in the wilaya of Setif in Algeria. The objective was to detect a viral passage and to evaluate the quality of vaccination.

A serological study using the ELISA technique against avian influenza (H9N2) viruses from and Newcastle (ND). Serum samples were subjected to indirect Elisa testing using IDvet FLU H9, NDV kits. For the meat turkey farms concerned.

The following serological scores were recorded: mean titers and coefficients of variability:

Influenza for farm "A" (MT=19247) (CV=13); for farm "B" (MT=537) (CV=146); for farm "C" (MT=20216) (CV=2); for farm "D" (MT=340) (CV=76).

Newcastle disease for Farm "A" (MT=7268) (CV=46); for Farm "B" (MT=10486) (CV=21); for Farm "C" (MT=7103) (CV=46); for Farm "D" (MT=10931) (CV=23).

In conclusion, this work has shown high viral pressure in the field and vaccination failures.

Thus, the availability of a database for the implementation of a medical prophylaxis program specific to the epidemiological conditions of the farms and an adequate vaccination are necessary to lower the pressure of circulating viruses and improve the profitability of the farms.

Key words:

Turkey - Avian influenza - Newcastle disease - Vaccination - ELISA – Sétif.

Listes des abréviations

% : pourcentage

< : Inférieur

> : Supérieur

BI : Bronchite Infectieuse

BSE : Bovine Spongiform Encephalopathy (maladie de la vache folle)

DMEP : Date de Mise En Place des poussins

DO: Densité Optique

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

G : Gumboro

hCG : Hormone Chorionique Gonadotrope

HVT : Herpes virus of Turkey

IA : Influenza Aviaire

IAFP : Influenza Aviaire Faiblement Pathogène

IAHP Influenza Aviaire Hautement Pathogène

IBDV : Virus Bursite Infectieuse

IHA : inhibition de l'hémagglutination

LTI : Laryngotrachéite Infectieuse

MN : Maladie De Newcastle

MT : Moyenne des Titres

OGM : Organisme Génétiquement Modifié.

PMVi : PARAMYXOVIRUS DE TYPE 1

SIGT Syndrome Infectieux De La Grosse Tête

SRAS : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

VIH : Virus De L'immunodéficience Humaine

Liste des figures

Figure 1 : principe du test Elisa indirect (Zuchuat, 2014).....	4
Figure 2 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique pa l'enzyme (peroxydase) (Zuchuat, 2014)	5
Figure 3 Localisation des élevages de poulet de chair (Originale, 2020).	28
Figure 4 : Équipement de protection individuelle (Originale,2020).	30
Figure 5 : Seringues.....	30
Figure 6 : Aiguilles.....	30
Figure 7 : Pipettes (Originale,2020).	31
Figure 8 : : Embouts de pipette à usage unique (Originale,2020).	32
Figure 9 : Plaque de pré dilution format 96 puits(Originale,2020).	32
Figure 10 : Minuteurs. (Originale,2020).	32
Figure 11 : laveur automatique (Originale,2020).	33
Figure 12 : Lecteur de microplaques à 96 puits. (Originale,2020).	33
Figure 13 : Centrifuge (Originale,2020).	33
Figure 14 : sang après centrifugation (Originale,2020).	33
Figure 15 : Prélèvement sanguin au niveau de la veine alaire (Maminiaina, 2017).	35
Figure 16 : Technique de prélèvement sanguin (Originale,2020).	35
Figure 17 : Récupération du sérum photos (Originale,2020).	36
Figure 18 : vortex (Originale, 2020).	
Figure 19 : Thermo hygromètre(Originale, 2020).	
Figure 20 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « A » de l'IAFP.	40
Figure 21 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « B » de l'IAFP.	42
Figure 22 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « C » de l'IAFP.....	44
Figure 23 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « D » de l'IAFP.....	46
Figure 24 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « A » de la maladie de Newcastle	48
Figure 25 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « B » de la maladie de Newcastle	50
Figure 26 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « C » de la maladie de Newcastle.	52
Figure 27 Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « D » de la maladie de Newcastle.	54

Liste des tableaux

Tableau 1 : Domaines d'application de l'ELISA (manuel-faculty.scf.edu)	7
Tableau 2 : Protocoles ELISA, biomolécules cibles, nombre d'étapes de chaque test (les étapes de lavage, de blocage, d'ajout de substrat et d'arrêt ne sont pas calculées dans le nombre d'étapes), durée approximative du test ainsi que les avantages/inconvénients de chaque protocole.....	10
Tableau 3 : Résumé des principales différences entre vaccins vivants et inactivés.....	17
Tableau 4 : Description des quatre élevages de dinde chair retenu pour l'étude.	34
Tableau 5 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « A » de l'IAFP.....	40
Tableau 6 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « B » de l'IAFP.	42
Tableau 7 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « C » de l'IAFP.	44
Tableau 8 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « D » de l'IAFP.....	46
Tableau 9 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « A » pour la maladie (MN).....	48
Tableau 10 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « B » de la maladie (MN).	50
Tableau 11 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « C » de la maladie (MN).	52
Tableau 12 Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « D » de la maladie (MN).	54

SOMMAIRE

Dédicaces

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : GENERALITE ELISA	3
I. Définition	3
II. Invention du test d'immuno-absorption enzymatique (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (ELISA)	3
III. Principe du test ELISA :	3
III.1. Peroxydase :	4
IV. Aperçu général sur les applications d'ELISA :	5
IV.1. L'industrie alimentaire	5
IV.2. Développement de vaccins	6
IV.3. Immunologie.....	6
IV.4. Diagnostic	6
V. Les différents protocoles.....	8
V.1. ELISA direct	8
V.2. ELISA indirect	8
V.3. Sandwich ELISA.....	9
V.4. Double Sandwich ELISA.....	9
V.5. ELISA compétitif.....	9
V.6. ELISA direct	10
VI. Avantages et inconvénients de l'ELISA :	12

VI.1. Importance de l'ELISA conventionnel.....	12
VI.2. Pénurie d'ELISA conventionnel	12
CHAPITRE 2 : LES MALADIES VIRALES.....	14
I. Maladie de l'influenza aviaire.....	14
I.1. Étiologie.....	14
I.2. Symptômes et lésions	14
I.3. Diagnostic	15
II. Maladie de Newcastle (MN).....	15
II.1. Etiologie	15
II.2. Symptômes	15
II.3. Lésions	16
II.4. Diagnostic.....	16
CHAPITRE 3 : VACCINATION CHEZ LES VOLAILLES :.....	17
I. Généralité :.....	17
II. Types de vaccins :.....	17
III. Les techniques de vaccination :.....	18
III.1. Vaccination par eau de boisson :	18
III.2. Vaccination par nébulisation :	19
III.3. Vaccination par injection :	20
III.4. Vaccination par voie oculaire	21
III.5. Vaccination par transfixion alaire ((WING WEB STAB)).....	22
IV. Protocoles de vaccination :.....	22
V. Échec du vaccin	22
CHAPITRE 4 : PRELEVEMENTS EN VUE D'ANALYSES SEROLOGIQUES CHEZ LA VOLAILLE	24
I. Introduction :.....	24
II. Type de prélèvement :.....	24
III. Technique de prélèvement :.....	24

IV. Conservation du prélèvement	25
V. Taille du prélèvement :	25
VI. Moment du prélèvement :	25

PARTIE EXPERIMENTALE

I. OBJECTIF :	28
II. LIEU ET PERIODE DU TRAVAIL :	28
III. MATERIEL ET METHODES :	29
III.1. Description de l'expérience	29
III.2. Matériel :	30
III.3. Méthodes :	35
III.4. ANALYSE SEROLOGIQUE :	36
IV. Interprétation :	39
V. RESULTATS ET DISCUSSION	40
V.1. L'influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)	40
V.2. La maladie de Newcastle	48
VI. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :	56

Références bibliographiques

INTRODUCTION

INTRODUCTION

En Algérie, la filière avicole « chair » a connu depuis 1980 un développement notable, soutenu par une politique incitative. Cependant, les pratiques d'élevage accusent un retard technologique considérable par rapport aux pays industrialisés, ceci retentissant non seulement sur la productivité des ateliers avicoles, mais aussi et surtout sur la santé publique. En effet, la problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments. La barrière sanitaire au niveau des élevages est tellement faible, qu'elle est à l'origine de taux de mortalités excessifs, d'utilisation abusive des produits vétérinaires et de la propagation de diverses pathologies. (Kaci, et al., 2001)

Parmi toutes ces risques les maladies virales sont les plus redoutables d'où leurs impacts négatifs sur les troupeaux car les traitements curatifs sont inexistantes.

Pour cela la vaccination reste l'outil primordial afin de prévenir l'impact de ces maladies dans nos élevages avicoles.

En fin les tests sérologiques sont d'une importance majeure pour le contrôle de la vaccination afin de s'assurer d'une bonne protection des animaux.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : GENERALITE ELISA

I.Définition

ELISA est le sigle anglais pour Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. Ce terme regroupe les tests utilisant un marqueur enzymatique lié de façon covalente à un anticorps ou à un antigène. A partir d'un substrat chromogène, incolore, spécifique de l'enzyme couplée, celle-ci est capable de catalyser une réaction générant un produit coloré. La densité optique (DO) est proportionnelle à la quantité de substrat ayant réagi. (Baco, 2011)

II.Invention du test d'immuno-absorption enzymatique (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) (ELISA)

La technique d'ELISA a été conceptualisée et développée par 2 scientifiques suédois, Peter Perlmann (investigateur principal) et Eva Engvall à l'Université de Stockholm en 1971. A la fin des années 60, Stratis Avrameas et GB Pierce mettent au point la technique d'immunoenzymologie, technique d'analyse par réaction entre antigènes et anticorps et utilisant comme marqueur des enzymes. (Frederick, 2008)

III.Principe du test ELISA :

Le principe de l'ELISA indirect consiste à détecter la présence d'un anticorps spécifique dans un échantillon.

Le test comporte quatre étapes principales :

- **Fixation de l'antigène :** L'antigène connu, spécifique à l'anticorps recherché, est incubé sur une plaque de microtitration. L'antigène va se fixer de manière électrostatique au fond des puits. Ils sont ensuite lavés pour enlever les antigènes non fixés.>
- **Fixation de l'anticorps à doser :** On incube notre échantillon à doser (sérum contenant l'anticorps), ainsi que nos standards (solution contenant des concentrations connues d'anticorps). Les anticorps spécifiques vont se fixer aux antigènes. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps non fixés.

- **Fixation de l'anticorps de détection :** On incube ensuite un anticorps secondaire couplé à une peroxydase. C'est un anti IgG qui va donc reconnaître l'anticorps primaire. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps secondaires non fixés.
- **Révélation :** On incube un substrat spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire une coloration bleue. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés.

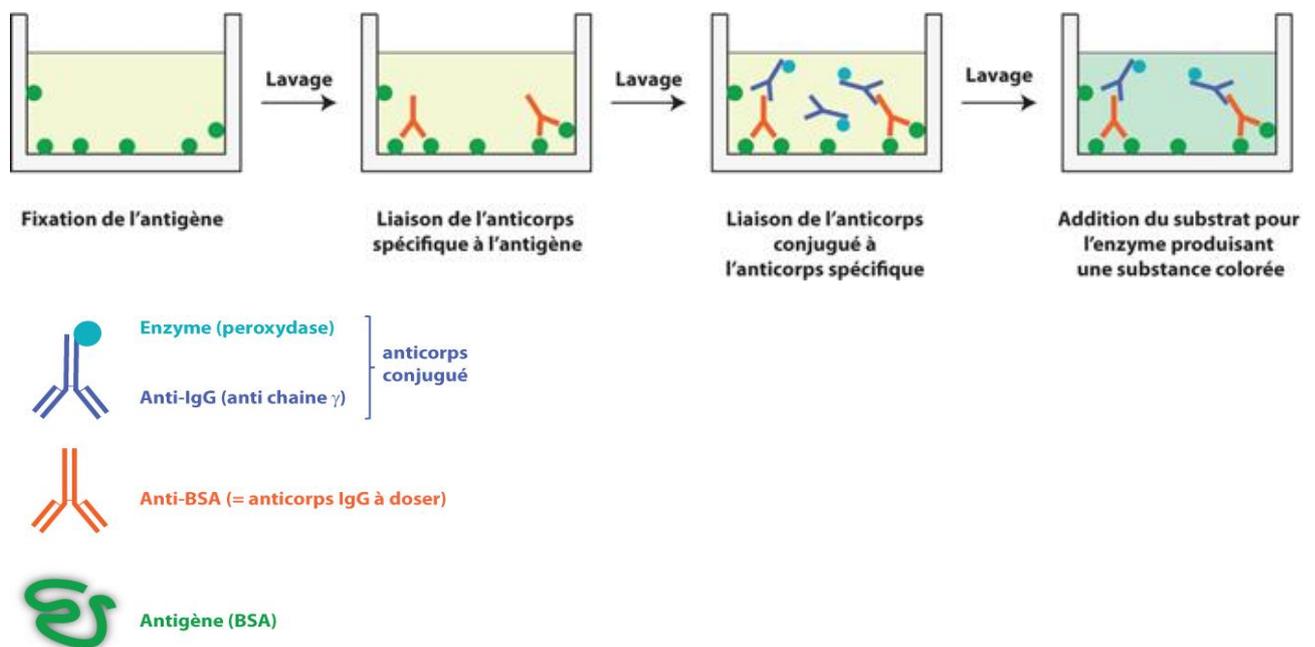


Figure 1 : principe du test Elisa indirect (Zuchuat, 2014)

III.1. Peroxydase :

La peroxydase est une enzyme de type oxydase, permettant la dégradation des peroxydes. L'oxydation de divers substrats permet d'obtenir un composé chromogénique comme produit final. (Zuchuat, 2014)

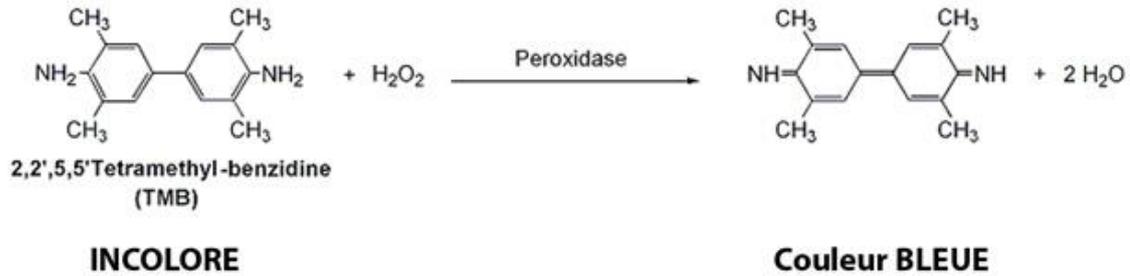


Figure 2 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique par l'enzyme (peroxydase) (Zuchuat, 2014)

IV. Aperçu général sur les applications d'ELISA :

On a constaté qu'ELISA jouait des rôles majeurs dans tous les domaines tels que l'industrie alimentaire, le développement de vaccins, l'immunologie (auto-immunité et l'immunité humorale), le diagnostic (grossesse, cancer et maladies infectieuses), la toxicologie, la surveillance des médicaments, l'industrie pharmaceutique et la transplantation. (Hosseini, et al., 2018)

IV.1.L'industrie alimentaire

ELISA joue un rôle majeur dans l'industrie alimentaire. C'est la principale plate-forme pour identifier les allergènes alimentaires tels que ceux présents dans le lait, les cacahuètes, les noix, les amandes et les œufs (Peng, et al., 2014). Peng et al. ont mis au point un test ELISA en sandwich à base d'anticorps monoclonaux pour la détection de l'ovalbumine dans les aliments, qui est la cause la plus fréquente d'allergie alimentaire, en particulier chez les enfants. L'ELISA peut également être utilisé pour corroborer l'authenticité des produits alimentaires (Peng, et al., 2014). Cette technique est d'une grande utilité pour éviter d'éventuelles pertes causées par une substitution frauduleuse (Asensio, et al., 2008). Dans le cas de la viande et des produits à base de viande, l'ELISA s'est révélée être une technique fiable qui permet un contrôle minutieux du produit, en particulier lorsque des considérations religieuses dans le choix des aliments sont concernés (Asensio, et al., 2008). L'ELISA est également une technique essentielle pour le contrôle de la qualité des poissons, le lait (ainsi que leurs sous-produits), les aliments génétiquement modifiés, les aliments irradiés, ou d'autres composants alimentaires nocifs qui peuvent être transférés à l'homme, tels que les l'encéphalopathie spongiforme bovine (Asensio, et al., 2008). Les protéines non carnées comme le soja ont des propriétés

nutritionnelles précieuses. Néanmoins, en raison de leur similarité avec le produit type, elles sont rarement ajoutées aux produits à base de viande sans être déclarées. Un contrôle minutieux des produits par ELISA permet d'éviter une telle falsification. (Stephen, et al., 2020)

IV.2.Développement de vaccins

Le test ELISA est un excellent candidat pour le développement de vaccins. L'échantillon de sérum provenant d'un modèle animal ou humain immunisé peut être testé pour détecter la présence d'anticorps contre certains types d'antigènes, qui ont été intentionnellement injectés à l'hôte. (Pizza, et al., 2000).

Normalement, différents antigènes sont utilisés pour produire des réactions immunitaires chez l'hôte, parmi lesquels on peut choisir ceux qui choisissent une réponse de protection plus élevée avec moins d'effets indésirables (Miura, et al., 2008).

IV.3.Immunologie

Le défenseur du corps, le système immunitaire, peut fonctionner en mode cellulaire ou humoral (inné ou adaptatif) [8] (Janeway, et al., 2001). La mesure et le suivi des changements de la réponse immunitaire sont à la base de la compréhension des maladies immunitaires. Diverses études* ont démontré que la méthode ELISA est la méthode de référence, rapide et rentable pour de telles mesures et de tels contrôles. (Orsolini, et al., 2016).

Un grand nombre d'exemples d'applications d'ELISA en immunologie sont rapportés, tandis que certains efforts ont été déployés pour optimiser davantage les protocoles ELISA et pour valider/établir leur précision, leur sensibilité et leur spécificité afin de soutenir la pratique clinique (Uchida, et al., 2014).

IV.4.Diagnostic

Dans le domaine du diagnostic, ELISA s'est révélé être une plate-forme efficace appliquée dans le monde entier pour détecter divers types de maladies chez les humains et les animaux.

Tableau 1 : Domaines d'application de l'ELISA (manuel-faculty.scf.edu)

Domaines	Utilisations
Médecine humaine et vétérinaire	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostic d'une variété de maladie telles que le virus West Nile (chez l'homme ou les animaux), Le VIH, le SRAS, la maladie e Lyme, la trichinose, la tuberculose et de nombreuses autres en détectant les anticorps sériques.
Vétérinaire	<ul style="list-style-type: none"> • Détecte les virus tel que le virus de la leucémie féline (FLV) et le virus de l'immunodéficience (FIV) chez les chats. • Détecte les parasites tels que des difilaria chez les chiens. • Diagnostic de problèmes thyroïdiens chez les chiens et les chats en mesurant les concentrations de thyroxine sérique (t4). • Diagnostic de l'encéphalite équine chez les chevaux en détectant les arbovirus.
Agriculture : récoltes	<ul style="list-style-type: none"> • Détecte des virus tels que le virus Y de la pomme de terre et le virus mosaïque du concombre dans les récoltes alimentaires. • Détecte les mycotoxines dans les récoltes telles que l'aflatoxine dans les grains de céréales et les maïs. • Détecte les virus dans les plantes décoratives, tels que le virus de la mosaïque jaune du haricot, dans les glaïeuls. • Détecte la falsification de récolte non modifiées génétiquement (non-OGM) avec des produits OGM, par ex., détection de la teneur en « round ready » et en Bt.
Environnement	<ul style="list-style-type: none"> • Test la qualité d'air intérieur, comme par ex, détection de toxine dues à la moisissure dans les bâtiments.
Sécurité et qualité alimentaires	<ul style="list-style-type: none"> • Evite la transmission de l'encéphalite spongiforme bovine (maladie de la vache folle, BSE) en dépistant les tissus du système nerveux central dans la viande crue, dans les viandes traitées et cuisinées et sur la surface. • Détermine si l'étiquetage alimentaire est correct, par exemple en vérifiant la présence de protéine de lait de vache dans les produits laitiers de chèvre ou la présence de blé non dur dans les produits à base de blé dur.

	<ul style="list-style-type: none"> • Préviens les réactions allergiques en détectant les ingrédients qui ne figurent pas sur les étiquettes de contenu alimentaire par exemple, en détectant les arachides dans les produits dans lesquelles les arachides ne figurent pas comme ingrédients.
Autres :	<ul style="list-style-type: none"> • Détecte la consommation restreinte ou illégale de drogues, par ex, drogue améliorant les performances, marijuana, méthamphétamine, cocaïne, etc. • Confirme la grossesse en détectant la gonadotrophine (hCG) dans les urines humaines.

V. Les différents protocoles

Différents protocoles ELISA sont généralement utilisés dans la pratique clinique selon l'objectif du test, le type d'échantillons analysés et la pureté des réactifs. Dans cette section, les principaux protocoles pour la conduite d'ELISA, y compris les protocoles directs, indirects, sandwich, double sandwich et compétitifs sont brièvement décrits :

V.1. ELISA direct

L'ELISA direct est un test en deux étapes (sans compter les étapes de lavage et de blocage). La première étape consiste à fixer l'analyte d'intérêt à la surface solide du puits (tableau 2). Dans l'étape suivante, un anticorps primaire marqué par une enzyme est introduit dans le test. En fonction de la stratégie de détection, le substrat et les agents bloquants sont ensuite ajoutés au puits et le signal de lecture final peut être enregistré (Tableau 2). Ce type de test nécessite généralement des échantillons isolés et purifiés (analytes) car les autres protéines de l'échantillon peuvent interagir avec la phase vendue, ce qui introduit une erreur dans le test. Il convient de noter que tous les anticorps primaires ne peuvent pas être marqués par une enzyme, ce qui limite ce type de test. (Hosseini, et al., 2018)

V.2. ELISA indirect

Le test ELISA indirect suit les mêmes étapes que le test ELISA direct, sauf pour l'anticorps marqué, qui est un anticorps secondaire dans le test ELISA indirect (Tableau 2). Bien que ce

test offre une meilleure accessibilité à une grande variété d'anticorps secondaires marqués, il souffre également de la non-spécificité du test. (Hosseini, et al., 2018)

V.3.Sandwich ELISA

Le test en sandwich, comme son nom l'indique, "enveloppe" l'analyte d'intérêt entre les anticorps primaires et secondaires des deux côtés (Tableau 2). Cette stratégie offre un meilleur contrôle de la spécificité du test car la première biomolécule immobilisée (anticorps primaire) peut être hautement purifiée. Néanmoins, si l'analyte en question n'interagit pas avec l'anticorps primaire, l'anticorps secondaire a une chance de se coupler à l'anticorps primaire et de produire un signal faux positif (Tableau 2). (Hosseini, et al., 2018)

V.4.Double Sandwich ELISA

Dans ce protocole, connu comme le protocole ELISA le plus spécifique, l'analyte d'intérêt est pris en sandwich entre deux anticorps, qui sont produits dans les corps de différents hôtes. Par conséquent, ces anticorps sont incapables de se lier l'un à l'autre, ce qui minimise le risque de liaison non spécifique. Comme l'illustre le Tableau 2, un antigène est pris en sandwich entre un anticorps de capture (la première biomolécule immobilisée dans le puits) et un anticorps primaire. L'anticorps secondaire se couple ensuite à l'anticorps primaire et le signal de détection peut être enregistré. Bien que la procédure soit longue et fastidieuse, ce test est le type d'ELISA le plus fiable. (Hosseini, et al., 2018)

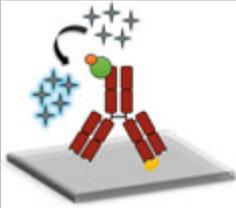
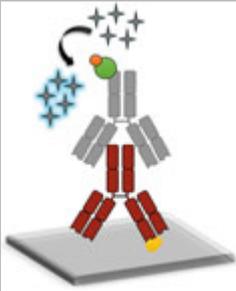
V.5.ELISA compétitif

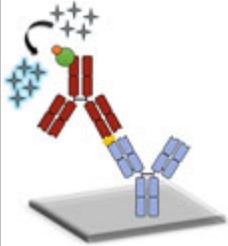
La stratégie concurrentielle ELISA est légèrement différente des autres. Dans ce protocole, deux séries d'expériences sont réalisées en parallèle. Comme le montre le Tableau 2, la première série d'expériences suit le protocole de l'ELISA indirect, tandis que l'expérience parallèle introduit des anticorps primaires, qui sont déjà couplés à des antigènes par incubation préalable. Selon la concentration de l'antigène dans la solution d'incubation, certaines parties des anticorps restent non liées. Lorsque ces complexes sont ajoutés aux puits recouverts d'antigènes, les anticorps primaires ont moins de chances de réagir avec les antigènes, car leurs sites de liaison sont préoccupés. Cette expérience, en concurrence avec la première série d'expériences (où les anticorps ne sont pas pré-couplés avec des antigènes) fournit un résultat de détection comparatif. Le signal reçu des anticorps pré-couplés est inversement corrélé avec le la

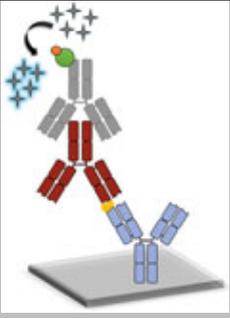
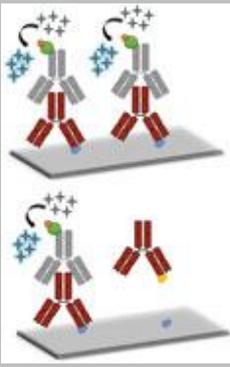
présence de l'analyte d'intérêt. Ce test est long, fastidieux et consomme de grands volumes d'échantillons. Néanmoins, il offre un degré élevé de spécificité (Hosseini, et al., 2018).

Tableau 2 : Protocoles ELISA, biomolécules cibles, nombre d'étapes de chaque test (les étapes de lavage, de blocage, d'ajout de substrat et d'arrêt ne sont pas calculées dans le nombre d'étapes), durée approximative du test ainsi que les avantages/inconvénients de chaque protocole

(Hosseini, et al., 2018).

Protocoles	Biomolécule cible	Les étapes	Durée approximative	Avantages	Désavantages
<p>V.6.ELISA</p> <p><i>direct</i></p> 	Ag	2	3 h et 10 min	<ul style="list-style-type: none"> - Rapide - N'exige pas l'AC secondaire - Élimine les éventuelles liaisons non spécifiques des anticorps secondaires 	<ul style="list-style-type: none"> - Exige une grande pureté Ag - L'AC primaire conjugué n'est pas largement disponible
<p>ELISA indirect</p> 	Ac	3	4 h et 10 min	<ul style="list-style-type: none"> - Disponibilité de l'AC secondaire conjugué pour ce protocole - L'immuno-réactivité de l'AC primaire n'est pas compromise 	<ul style="list-style-type: none"> - Une étape supplémentaire est nécessaire par rapport au protocole direct - Les risques de reliures non spécifiques sont relativement élevés

				- La liaison multiple de l'AC secondaire à l'AC primaire offre une amplification du signal de détection	
Sandwich ELISA 	Ag	3	4 h et 10 min	<ul style="list-style-type: none"> - Applicabilité dans l'identification d'une grande variété de biomolécules cibles - Haute spécificité du protocole 	<ul style="list-style-type: none"> - Une étape supplémentaire est nécessaire par rapport au protocole direct - En l'absence d'Ag, les Abs primaires et secondaires pourraient réagir et produire un faux signal positif
Double Sandwich ELISA	Ag et Ac	4	5 h et 10 min	<ul style="list-style-type: none"> - Applicabilité dans l'identification d'une grande variété de 	<ul style="list-style-type: none"> - Longue et fastidieuse procédure

				biomolécules cibles - Haute spécificité du protocole	
ELISA compétitif 	Ag	Dépend du protocole appliqué	4 h et 10 min (pour chaque expérience)	- Haute spécificité du protocole	- Consommation élevée de réactifs - Une procédure longue et fastidieuse

VI. Avantages et inconvénients de l'ELISA :

VI.1. Importance de l'ELISA conventionnel

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique.
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation d'une gamme en parallèle.
- L'utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible.
- Technique accessible à tous les biologistes.
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé.
- La validité des trousse est d'environ 1 an (Frederick, 2008).

VI.2. Pénurie d'ELISA conventionnel

Voici quelques-unes des lacunes générales de l'ELISA classique :

- Procédure fastidieuse et laborieuse
- Options de multiplexage limitées
- Nécessité d'un équipement de laboratoire centralisé

- Un volume d'échantillons relativement élevé est nécessaire.

Bien que le test ELISA soit très reproductible, de telles pénuries pourraient donner lieu aux erreurs typiques du test. La variation de la lecture de la densité optique peut être traitée par un choix judicieux des contrôles dans l'essai, y compris le blanc, la concentration zéro, la liaison non spécifique et les répliques de contrôle de liaison maximale. La constance dans la manipulation de l'ELISA vient avec la pratique. Généralement, les techniciens de laboratoire acquièrent les compétences nécessaires pour effectuer un test très fiable et reproductible. (Hosseini, et al., 2018)

CHAPITRE 2 : LES MALADIES VIRALES

I. Maladie de l'influenza aviaire

L'influenza aviaire est une affection virale à tropisme respiratoire, entérique ou nerveux atteignant les volailles et les oiseaux domestiques ou sauvages. La forme la plus grave se manifeste par une maladie aiguë et généralisée causant une très forte mortalité pouvant aller jusqu'à 100%. (Saegerman, et al., 2004)

I.1.Étiologie

L'influenza aviaire (IA) est causée par un virus de type A classé en 16 sous-types d'hémagglutinine (H1-H16) et neuf sous-types de neuraminidase (N1-N9). (Swayne, et al., 2020)

I.2.Symptômes et lésions

Les lésions de l'influenza aviaire chez les volailles peuvent être extrêmement variées en fonction du virus en cause et de l'espèce des oiseaux infectés. D'autres facteurs concernent la présence d'autres agents pathogènes, le statut immunitaire de l'hôte, l'âge de l'oiseau et les facteurs environnementaux. En général, les symptômes observés avec les virus IAHP sont limités aux tractus respiratoire et intestinal et les lésions concernent les sinus, les bronches, les poumons, les sacs aériens et les intestins. Ces lésions comprennent une inflammation mucopurulente ou caséuse et un épaississement des sacs aériens, un œdème de la séreuse et d'autres lésions localisées. Avec certaines souches virales on peut observer une entérite. Les lésions internes sont rares et concernent une péritonite, une pancréatite, une atteinte de l'appareil reproducteur et des reins. Une diminution de la production des œufs sans autre symptôme est couramment observée chez les pondeuses et les reproductrices. (Swayne, et al., 2020)

Avec les virus IAHP, différentes lésions peuvent être observées en fonction de la souche virale. Pour certains virus rapidement mortels expérimentalement (en moins de 24 heures chez les oiseaux inoculés par la voie intraveineuse), peu de lésions seront généralement observées. Par exemple, le virus rapidement mortel A/Chicken/Hong Kong/97 provoque surtout un œdème pulmonaire entraînant une hypoxie et souvent la mort. La plupart des virus IAHP tuent les oiseaux et causent des lésions variées. Les lésions externes les plus évidentes sont une

hémorragie et une nécrose de la crête et des barbillons, des hémorragies des pattes et des pieds, un gonflement des sinus, des lésions conjonctivales et périorbitaires. D'autres lésions macroscopiques dues aux virus IAHP comprennent des pétéchies dans de nombreux organes et des foyers nécrotiques sur le foie, la rate, les reins, le pancréas et le poumon. A l'examen histologique on observe les lésions cellulaires et l'apoptose provoquées par la réplication virale, principalement dans les tissus lymphoïdes de tout l'organisme. Aucune lésion n'est pathognomonique du virus IAHP et d'autres agents pathogènes doivent être envisagés dans le diagnostic différentiel, notamment le virus vélogène de la maladie de Newcastle. (Swayne, et al., 2020)

I.3.Diagnostic

Un diagnostic définitif de l'IA est établi par : (1) la détection directe des protéines virales ou de l'acide nucléique de l'IA dans des échantillons tels que les tissus, les écouvillons, les cultures cellulaires ou les œufs embryonnés ; ou (2) l'isolement et l'identification du virus de l'IA. Un diagnostic présomptif peut être établi par la détection d'anticorps au virus de l'IA. (Vegad, 2007)

II.Maladie de Newcastle (MN)

La maladie de Newcastle est une maladie virale des oiseaux, très contagieuse et présente partout dans le monde. Sa présentation clinique est variable. Elle se manifeste généralement par des signes respiratoires mais le tableau clinique peut être dominé par un abattement, des symptômes nerveux ou des diarrhées. (Rasamoelina-Andriamanivo, et al., 2016)

II.1.Etiologie

La maladie de Newcastle est provoquée par certaines souches de paramyxovirus de type 1 (PMVi). (Guérin, et al., 2011)

II.2.Symptômes

Les signes cliniques ne sont pathognomoniques de la MN ; on peut voir par une pneumonie, une encéphalite, et des troubles digestifs

II.3.Lésions

Les autopsies pratiquées sur les oiseaux morts de formes suraiguës ou aiguës avec des souches viscérotropes vélogènes de PMV1 montrent des lésions de type hémorragique et ulcéronécrotique qui intéressent le tube digestif et ses formations lymphoïdes :

- Pétéchies ou suffusions (hémorragies en piqûres de puces ou en plaques) :
 - Ventricule succenturié : les papilles glandulaires sont décapées, surtout à la jonction œsophage proventricule.
 - Gésier : hémorragies sous la couche cornée ;
 - Intestin : pétéchies réparties le long de la muqueuse intestinale.
 - Autres tissus : séreuses, trachée, cœur, etc. ;
- Ulcères nécrotiques : on observe des ulcères plats des amygdales cæcales et des anneaux lymphoïdes, recouverts d'un magma nécrotique plus ou moins mêlé de fibrine (érosions intestinales recouvertes de tissu mort noyé dans des protéines coagulées par l'inflammation provenant du sang). (Guérin, et al., 2011)

II.4.Diagnostic

D'après les résultats caractéristiques de l'autopsie.

La confirmation dépend de divers tests de laboratoire, tels que IH et ELISA, ainsi que de l'isolement du virus et de sa caractérisation. (Vegad, 2007)

CHAPITRE 3 : VACCINATION CHEZ LES VOLAILLES :

I. Généralité :

Les vaccins sont des préparations constituées de microbes atténués ou tués (entiers ou fragmentés), administrés à faible dose chez un individu, pour provoquer une réponse immunitaire en stimulant la production d'anticorps spécifiques dirigés contre le microbe administré, sans développer la maladie. (Pons, 2018)

II. Types de vaccins :

Les vaccins se répartissent en 2 catégories : les vaccins vivants et les vaccins inactivés. Ils diffèrent dans leur stabilité, leur mode d'administration et leurs conséquences sur l'immunité. Le Tableau 3 reprend les différences principales de ces 2 types de vaccins (Box, 1984)

**Tableau 3 : Résumé des principales différences entre vaccins vivants et inactivés
(Box, 1984)**

Paramètres	Vaccin vivant	Vaccin inactivé
Antigène	Faible quantité, multiplication chez l'hôte	Grande quantité, pas de multiplication
Administration	Collective possible	Quasi exclusivement individuelle
Adjuvant	Absent	Indispensable
Sensibilité aux anticorps déjà présents	Plutôt forte	Plutôt faible
Effet rappel	Peu visible	Fort sur un oiseau immunocompétent et primo-vacciné
Stimulation de l'immunité locale	Forte	Plutôt faible
Réactions vaccinales	Possible en cas d'atténuation faible ou d'administration inadéquate	Liées à l'adjuvant

Couplage à d'autres vaccins	Généralement à éviter car interactions possibles	Possible
Établissement de l'immunité	Rapide	Lente
Durée d'immunité	Dépend du vaccin mais plutôt courte (6-8 semaines)	Longue
Peuvent exister en autovaccin	Non	Oui

III. Les techniques de vaccination :

Différentes méthodes de vaccination sont utilisées pour administrer les vaccins : eau de boisson, nébulisation, injections, transfixion alaire, in ovo. L'administration optimale d'un vaccin est le seul moyen de stimuler la fonction immunitaire chez les volailles, et donc la protection requise contre les différentes maladies. D'autres paramètres tels que l'âge des volailles, leur nombre, le type de vaccin, l'organe-cible à atteindre, le savoir-faire et les coûts économiques doivent être pris en compte pour choisir la voie d'administration optimale des vaccins. L'opérateur doit faire attention à l'hygiène des locaux dans lesquels les vaccins sont préparés et utilisés. (Fritts, et al., 2003)

III.1. Vaccination par eau de boisson :

La distribution d'un vaccin dans l'eau de boisson est l'une des méthodes les plus répandues de vaccination de masse de grands cheptels avicoles ; elle est strictement recommandée pour des vaccins vivants tels ceux de la maladie de Gumboro ou de l'encéphalomyélite, et possible pour un large éventail de vaccins vivants respiratoires, comme ceux de la laryngotrachéite infectieuse, de la maladie de Newcastle, de la bronchite infectieuse, et du Métapneumovirus aviaire. (Fritts, et al., 2003)

La qualité de l'eau utilisée pour la vaccination est le premier élément à maîtriser. Elle ne doit être ni chlorée ni contenir aucune trace d'aucun désinfectant. Elle ne doit pas contenir non plus d'éléments métalliques comme le fer, par exemple, et elle doit être d'une bonne qualité bactériologique et chimique générale (Guérin, et al., 2011) .

Le pH doit être si possible plutôt acide, de l'ordre de 5,5 à 6,5. Une eau chlorée peut être neutralisée par ajout de thiosulfate de sodium (16 mg/litre). Des spécialités du commerce sont

prises à disposition contenant du thiosulfate de sodium et un colorant bleu alimentaire qui, outre la neutralisation du chlore, permettent de tracer la distribution du vaccin dans les canalisations en début de séance de vaccination, puis en fin de séance de contrôler le pourcentage d'oiseaux qui ont bu le vaccin (langue bleue). La poudre de lait écrémé peut également être utilisée pour protéger les particules vaccinales des oxydants comme le chlore ou le fer. Dans ce cas, elle sera ajoutée à l'eau (2,5 g/litre) et bien homogénéisée avant dissolution du vaccin afin que les particules vaccinales ne soient pas précipitées au fond par du lait non dissous. (Guérin, et al., 2011)

Le volume d'eau et le temps d'administration, le type et le nombre d'abreuvoirs requis pour un certain nombre de volailles sont à prendre en compte pour bien préparer la procédure de vaccination dans un bâtiment. (Fritts, et al., 2003).

La mise en solution du vaccin se réalise en ouvrant les flacons de vaccin sous le niveau d'eau afin d'éviter le contact direct avec l'air et aussi assurer une meilleure dissolution par l'entrée d'eau sous pression dans le flacon sous vide. Le flacon de vaccin sera ensuite rincé deux fois pour récupérer le maximum de particules vaccinales

Le temps d'assoiffement ne doit pas dépasser 1 h 30. Les abreuvoirs sont nettoyés avec une éponge humidifiée mais sans détergent ni désinfectant. (Guérin, et al., 2011)

Parmi les aspects critiques, on compte le risque d'inactivation du virus vaccinal, la perte du titre vaccinal, et la nécessité de vacciner à pleine dose tous les oiseaux. (Fritts, et al., 2003)

III.2. Vaccination par nébulisation :

L'administration par nébulisation de vaccins vivants est utilisée dans deux contextes très différents, le couvoir et le bâtiment d'élevage. L'administration à 1 jour consiste en la vaccination simultanée de petits groupes d'environ 80 à 150 poussins, qui reçoivent le vaccin dans leur caisse de transport. On utilise en général des tunnels de pulvérisation à cette fin. Un volume contrôlé avec constance et précision, administré à chaque caisse de poussins, permet leur exposition homogène au vaccin. On vise à couvrir les oiseaux de liquide, ainsi le vaccin est administré directement sur les yeux et les narines, et les gouttelettes qui brillent à la surface de leur duvet les incite à se les picorer les uns des autres, ainsi que sur la surface de la caisse de transport. C'est pourquoi la taille des particules importe peu dans ce cas, et les gouttelettes sont plus grossières que pour une pulvérisation en poulailler, et est en général comprise entre 100 et 800 microns. De l'eau douce distillée, fraîche, doit être utilisée pour la reconstitution du vaccin, car la température de l'eau a aussi un impact sur sa durée de vie. L'administration de vaccin à

la ferme est menée sur de grands nombres, allant généralement jusqu'à plusieurs dizaines de milliers de volailles.

Si les volailles sont élevées au sol, elles peuvent se déplacer dans le bâtiment et, de ce fait, seront moins accessibles au vaccin. Pour les volailles en cage, il sera difficile d'atteindre toutes les rangées de cages à la fois et de pulvériser suffisamment en profondeur dans les cages elles-mêmes. Avant de choisir son matériel de pulvérisation pour vacciner en élevage, il importe de comprendre les différentes caractéristiques offertes par chaque type d'équipement telles que la taille des gouttelettes, la portée de pulvérisation des gouttelettes, le volume d'eau consommé par unité de temps, le temps minimum pour vacciner un poulailler. (Fritts, et al., 2003)

III.3. Vaccination par injection :

III.3.1. Injection in ovo :

La vaccination in ovo est effectuée pendant le processus de transfert des œufs en incubation dans le couvoir, à l'éclosoir. Le vaccin est injecté juste sous les membranes au fond de la chambre d'air. Selon l'âge de l'embryon au moment du transfert, généralement entre 17 et 19 jours d'incubation, environ 25-75% du vaccin (0,05 ml dans la plupart des cas) est injecté dans la région du cou et de l'épaule. Dans les 25 à 75 % restants, le vaccin est administré dans le compartiment extra-embryonnaire (38) (In ovo technology for vaccine delivery.). (Stephen, et al., 2020)

Elle concerne les vaccins contre la maladie de Marek à sérotypes 1, 2 ou 3 soit respectivement Rispens CVI988, SB-1 ou HVT (Herpesvirus of Turkey), seuls ou combinés, les vaccins à souches natives ou vecteurs, principalement la souche vaccinale HVT, tel que le vaccin vecteur vHVT-IBD (maladies de Marek & Gumboro), etc. (Fritts, et al., 2003)

En pratique, un petit orifice est pratiqué du côté arrondi de l'œuf, et l'on injecte le vaccin sous la membrane chorio-allantoïque, jusqu'à la cavité amniotique, ou directement dans l'embryon. Les injecteurs automatiques de couvoirs sont utilisés pour la vaccination in ovo. Des systèmes sanitaires intégrés permettent généralement l'application in ovo du vaccin sans risque de contamination. (Fritts, et al., 2003)

III.3.2. Injection sous-cutanée / intramusculaire

Les injections sous-cutanées et intramusculaires sont fréquemment utilisées chez les reproducteurs et les poules pondeuses commerciales avant la production d'œufs. Il est généralement recommandé d'utiliser ces vaccins au moins quatre semaines avant le début de la production d'œufs afin de minimiser tout effet négatif que la manipulation ou le vaccin pourrait avoir sur les performances de production d'œufs. La vaccination sous-cutanée est le plus souvent effectuée à l'aide d'une ½inch, aiguille de calibre 18, dans le cou. La zone à mi-chemin entre la tête et l'épaule est optimale et permet au vaccinateur de soulever la peau du muscle du cou et d'insérer l'aiguille, dirigée vers le corps de l'oiseau, dans la zone sous-cutanée et de déposer le vaccin. L'injection intramusculaire est généralement effectuée à l'aide d'une aiguille de calibre 18 (½ inch) pour injecter le vaccin dans le muscle pectoral ou de la patte. Les injections dans le muscle pectoral sont plus sûres lorsque le vaccin est déposé dans le muscle pectoral superficiel à 2 ou 3 cm de l'os de la quille. Si l'aiguille est maintenue à un angle de 45 degrés par rapport à l'oiseau, toute injection accidentelle dans la cavité corporelle ou le foie peut être évitée (Lovell, 1995). La vaccination des pattes se fait généralement dans le muscle gastrocnémien latéral. Les deux points d'injection intramusculaire peuvent entraîner la présence d'une émulsion résiduelle pendant une période prolongée (Droual, 1990). Un dépôt résiduel dans le muscle dépend de nombreux facteurs, dont l'antigène et l'adjuvant présents dans le vaccin. Il convient de déterminer avec soin l'usage prévu de la viande avant de l'injecter par voie intramusculaire. (Stephen, et al., 2020)

III.4. Vaccination par voie oculaire

La vaccination dite « goutte dans l'œil » est utilisée principalement pour la vaccination LTI. Elle est parfois utilisée pour sécuriser la dose administrée de vaccins également administrés en nébulisation (ND, SIGT), ou pour des vaccins fragiles, comme des vaccins mycoplasmes thermosensibles. Le flacon compte-gouttes délivre des gouttes de 30 microns et un excipient coloré permet de visualiser la qualité de l'administration.

C'est une intervention coûteuse en main-d'œuvre, qui ne permet pas d'avoir une cadence de manipulation élevée si on veut assurer la qualité de l'administration. Des appareils permettent cependant d'améliorer la qualité de l'intervention en assurant notamment la position du flacon de vaccin afin d'avoir une taille de gouttelette de 30 microns de façon homogène. (Guérin, et al., 2011)

III.5. Vaccination par transfixion alaire ((WING WEB STAB))

La vaccination par ponction de la membrane alaire est la méthode de choix pour l'administration de vaccins contre la variole aviaire. Un applicateur double à deux aiguilles permet de s'assurer que le vaccin est injecté dans la peau lors de la pénétration par l'aiguille, autrement dit par transfixion. Pour optimiser le contact entre la dose vaccinale et les tissus de la peau, il est conseillé de bien déplier l'aile, le dessous vers le haut, et de transfixer la membrane alaire verticalement, vers le bas. Une semaine après la vaccination il est conseillé d'examiner le site d'application sur un échantillon d'oiseaux vaccinés. Une vaccination réussie sera confirmée par la formation d'un petit nodule avec un œdème et une croûte causée par la réaction locale au vaccin. (Fritts, et al., 2003)

IV. Protocoles de vaccination :

La conception optimale d'un programme de vaccination vétérinaire dépend à la fois des caractéristiques du vaccin et de l'épidémiologie de l'agent pathogène ou du parasite. Les caractéristiques pertinentes du vaccin sont la proportion des sujets vaccinés qui sont initialement protégés, la durée de la protection et la couverture obtenue par le programme de vaccination. (woolhouse, 1997)

V. Échec du vaccin

De nombreux facteurs peuvent provoquer l'échec d'un vaccin. L'une des causes les plus fréquentes d'échec d'un vaccin est l'administration inappropriée du vaccin. Certains vaccins vivants, tels que le vaccin contre la maladie de Marek, sont faciles à tuer, et le non-respect des pratiques de manipulation recommandées par le fabricant entraînera l'inactivation du virus avant l'administration. De même, les vaccins viables administrés dans l'eau de boisson peuvent être détruits avant d'atteindre l'oiseau s'ils sont mal manipulés ou si les désinfectants de l'eau n'ont pas été retirés de l'eau avant l'ajout du vaccin. Les vaccins qui sont administrés par injection intramusculaire ou sous-cutanée peuvent également échouer si les vaccinateurs ne l'administrent pas au bon lieu de vaccination approprié. (Stephen, et al., 2020)

Bien que la cause la plus fréquente de l'échec d'un vaccin soit une insuffisance ou une erreur dans l'administration du vaccin, de nombreux cas de vaccins n'offrant tout simplement pas une protection adéquate. Dans certains cas, la souche de terrain d'un organisme est d'une très grande virulence et la souche vaccinale est très atténuée. Dans cette situation, le troupeau peut être

efficacement vacciné, mais l'immunité est insuffisante pour protéger complètement contre la maladie. De nombreux agents infectieux ont plusieurs sérotypes différents, et l'échec du vaccin peut être dû au fait que les antigènes du sérotype vaccinal sont différents et n'offrent pas de protection contre le sérotype particulier de l'agent à l'origine de la maladie. (Stephen, et al., 2020)

Les conditions de gestion jouent un rôle important dans la prévention des défaillances des vaccins. Si l'on laisse des agents infectieux s'accumuler dans une exploitation au fil des troupeaux successifs sans nettoyage ni désinfection, il est possible que la dose de provocation d'un agent infectieux particulier soit si importante, ou si proche, qu'un programme de vaccination normalement efficace soit dépassé. Le statut immunitaire du troupeau reproducteur peut également être impliqué dans l'échec d'un vaccin. Si le troupeau reproducteur fournit à sa progéniture des niveaux élevés d'anticorps maternels, la vaccination au cours des deux premières semaines de vie résulte que le vaccin soit neutralisé. Le moment de la vaccination des jeunes volailles avec les vaccins viables doivent toujours prendre la présence ou l'absence d'anticorps maternels en considération. (Stephen, et al., 2020)

Certains agents de maladies infectieuses et mycotoxines sont immunosuppresseurs et peuvent entraîner l'échec du vaccin. Le virus de la bursite infectieuse, l'anémie infectieuse et le virus de la maladie de Marek sont des exemples d'agents qui peuvent provoquer une immunosuppression sévère chez les poulets. Une mycotoxine, l'aflatoxine, s'est avérée expérimentalement immunosuppressive et a été impliquée dans la diminution de la résistance à la maladie. (Stephen, et al., 2020)

CHAPITRE 4 : PRELEVEMENTS EN VUE D'ANALYSES SEROLOGIQUES CHEZ LA VOLAILLE

I.Introduction :

La sérologie englobe un ensemble de technique de laboratoire qui permet de déterminer la présence d'anticorps vis-à-vis d'un germe infectieux détermine et dans certains cas, de les quantifier. (Majo, et al., 2012)

II.Type de prélèvement :

Dans tous les cas, il faut prélever du sang. La prise de de sang d'une volaille s'effectue principalement au niveau de la veine alaire. Cependant, si l'oiseau est très jeune, la veine jugulaire est préférable. (Majo, et al., 2012)

III.Technique de prélèvement :

On expose la veine à la vue en prélevant quelques plumes sur la surface ventrale de la région humérale de l'aile. La veine sera visible dans la dépression entre les muscles biceps brachialis et triceps humeralis. Elle est plus facilement visible si la peau est d'abord humidifiée avec de l'alcool à 70 % ou un autre désinfectant incolore. Pour faciliter la ponction veineuse, étendez les deux ailes vers le dos en les serrant fermement l'une contre l'autre dans la zone de la toile alaire avec la main gauche. Insérez l'aiguille dans la veine de l'aile droite qui tient la seringue dans la partie droite main. L'aiguille doit être insérée à l'opposé à la direction du flux sanguin. Pour une analyse rapide et précise saignant, il est essentiel que l'aiguille soit bien aiguisée. Une très un léger vide devrait être développé par intermittence pour déterminer si une ponction veineuse ou cardiaque a eu lieu. Après la ponction veineuse, un léger vide constant doit être continu à prélever du sang. Si le vide est trop grand, la paroi du vaisseau peut être aspirée dans l'aiguille et boucher l'ouverture biseautée. Il est parfois nécessaire de faire pivoter le une aiguille et une seringue pour s'assurer que l'ouverture biseautée est libre dans le lumen du vaisseau. (Stephen, et al., 2020)

IV. Conservation du prélèvement

Chez les oiseaux, il est recommandé de choisir des tubes en plastique de polypropylène, plutôt que des tubes en verre ou en autre composant du sang.

Les tubes ne doivent pas contenir d'anticoagulant sanguine. Il faut en plus tenir compte de ces points.

- Ne jamais remplir le tube totalement sauf s'il s'agit de tubes spéciaux séparateurs de sérum contenant par exemple un gel ou des billes en plastique.
- Après avoir obtenu le sang, placer le tube horizontalement pour augmenter la surface du caillot
- Si le prélèvement est envoyé par transport rapide, il peut rester à température ambiante. Il faut le conserver avant de l'envoyer au laboratoire, il vaut mieux le garder à 4°C.
- Ne jamais le congeler.
- Le sérum doit être séparé le plus vite possible du caillot pour éviter l'hémolyse. C'est pourquoi il vaut mieux séparer le sérum et le placer dans un nouveau tube si l'envoi du prélèvement doit tarder plus de deux jours. (Majo, et al., 2012)

V. Taille du prélèvement :

Comme les examens sérologiques sont peu relativement coûteux d'un point de vue économique. Il est possible de demander l'analyse de grand nombre de prélèvements. Pour obtenir un résultat significatif, il faut avoir un nombre représentatif de prélèvement et de ce fait, plus le lot est de grande taille, plus le nombre de prélèvements doit être important. En pratique, il est souhaitable d'obtenir au moins 20 prélèvements par lots de poulets de chair de 30 par lots de poules reproductrices ou pondeuses. Il ne faut jamais prendre moins de 10 prélèvements. (Majo, et al., 2012)

VI. Moment du prélèvement :

Il faut tenir compte du fait que les anticorps n'apparaissent qu'après l'infection par le germe et qu'il faut attendre environ une semaine après l'infection pour pouvoir détecter les premiers anticorps circulant. De ce fait, lorsque le prélèvement a lieu environ deux semaines après l'apparition des signes cliniques ou la vaccination des volailles, on considère que la séroconversion est plus ou moins complète. Lorsque l'on souhaite mettre en évidence une

reconversion, il faut réaliser des prélèvements au début du tableau clinique et les renouveler 2 à 3 semaines plus tard. (Majo, et al., 2012)

PARTIE

EXPERIMENTALE

I.OBJECTIF :

L'objectif de notre étude sérologique est le suivi et le contrôle sérologique de quelque élevage de dinde chair, c'est-à-dire contrôle de la qualité de la vaccination et de déceler s'il y'a circulation du virus sauvage des Maladies : Influenza Aviaire Faiblement Pathogène H9N2 (IAHP), Newcastle (MN).

II.LIEU ET PERIODE DU TRAVAIL :

Cette étude a été menée durant les mois de février et mars 2020 sur une durée de 2 mois, sur des élevages de dinde chair localisés dans la Wilaya de Sétif Est d'Algérie. Les analyses sérologiques ont été effectuées au sein du laboratoire MC. LABOVET-Algérie sis El-Eulma Sétif.



Figure 3 : Localisation des élevages de dinde chair (Originale, 2020).

III. MATERIEL ET METHODES :

III.1. Description de l'expérience

Quatre élevages de dinde chair ont fait l'objet d'une suivie sérologique et le contrôle vaccinal pour les deux maladies : Influenza aviaire faiblement pathogène IAFP et la maladie de Newcastle MN. Ces élevages sont situés à dans la commune de Bir-Hadada wilaya de Sétif.

Pour chaque bâtiment des visites ont été effectuées et les prélèvements de sang ont été réalisés 3 à 5 semaines après la vaccination ou l'apparition de signes cliniques ou lésionnels des maladies concernés. Pour le choix des dates de visite ont a pris en compte de nombreux paramètres tels que l'âge des oiseaux, la phase d'élevage, la vaccination (date d'application, le programme de de vaccination et la phase de la maladie s'il y'a suspicion.

Une anamnèse et des commémoratifs ont été établies et axés sur la situation sanitaire et la prophylaxie médicale préalablement instaurée : type de vaccin (vivant ou inactivé), date et âge lors de la vaccination, méthode d'administration du vaccin, date d'apparition des signes cliniques et les lésions rencontrées lors des autopsies.

Puis les échantillons de sangs sont prélevés, conservés et transportés au laboratoire MC. LABOVET- Algérie sous couvert de froid positif +4C°.

Enfin les sérums sont obtenus par centrifugation le test ELISA indirect est réalisé après toutes les préparations.

III.2. Matériel :

III.2.1. Matériel de prélèvement

- Équipement de protection individuelle ;
- Seringues de différentes tailles (5 cc)
- Aiguilles hypodermiques de calibres (18G)
- Tubes secs.



Figure 4 : Équipement de protection individuelle (Originale,2020).



Figure 5 : Seringues.



Figure 6 : Aiguilles.

III.2.2. Matériel de laboratoire

- Pipettes de précision mono et multi-canaux capable de délivrer des volumes de 5 µl, 100 µl et 300 µl ;
- Embouts jaunes de pipette à usage unique de 200µl de volume (Eppendorf, Suiden)
- Plaque de pré dilution format 96 puits (figure :9)
- Minuteurs (Isolab, Germany) (figure :10)
- Eau distillée
- Système de lavage automatique laveur automatique (Biotek, Ex 50) (figure :11)
- Lecteur de microplaques Elx 800 (Biotek, USA) (figure :12)
- Centrifugeuse (TZD, China) (figure :13)
- Plaque ELISA sensibilisée Id Screen® NDVS, FLU H9S (IdVet, France).



Figure 7 : Pipettes (Originale,2020).

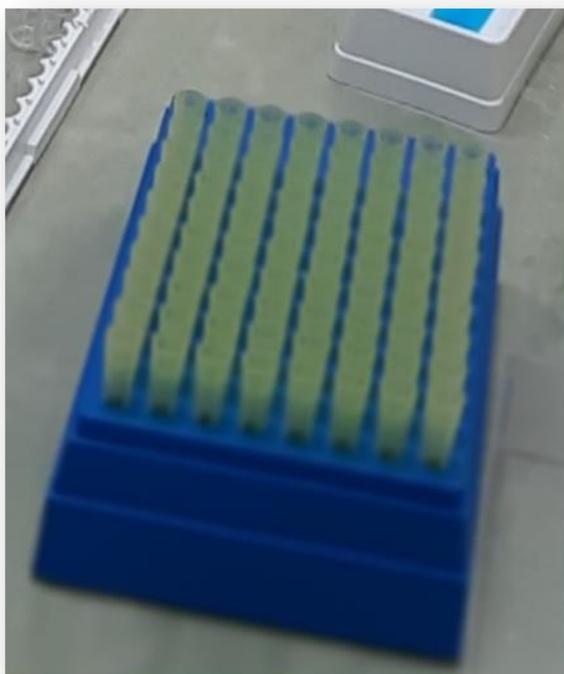


Figure 8 : : Embouts de pipette à usage unique (Originale,2020).



Figure 9 : Plaque de pré dilution format 96 puits(Ori-ginale, 2020).



Figure 10 : Minuteurs. (Originale, 2020).



Figure 11 : laveur automatique (Originale,2020).



Figure 12 : Lecteur de microplaques à 96 puits (Originale,2020).



Figure 13 : Centrifuge (Originale,2020).

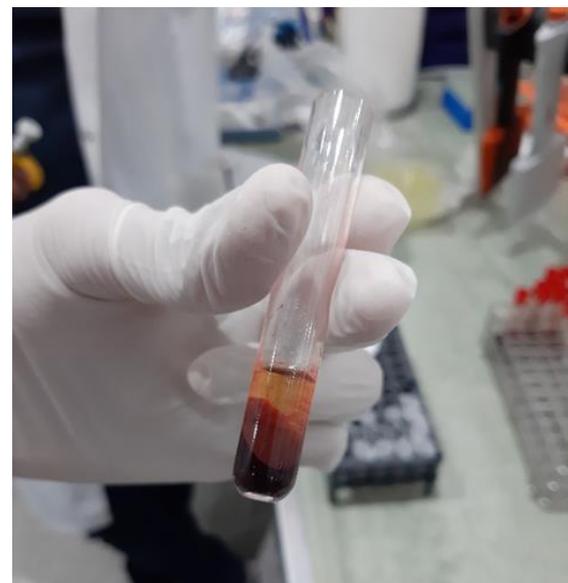


Figure 14 : sang après centrifugation (Originale,2020).

III.2.3. Les animaux

Tableau 4 : Description des quatre élevages de dinde chair retenu pour l'étude.

Elevages	Souche	Type	Effectif	DMEP	Date de prélèvement	Age	Nb de prélèvement
A	Big 9	Dinde chair	5000	26/10/2019	25/02/2020	123 Jour(s)	20
B	Big 9	Dinde chair	15000	26/10/2019	29/11/2019	35 Jour(s)	20
C	Big 9	Dinde chair	5000	26/10/2019	25/02/2020	123 Jour(s)	20
D	Big 9	Dinde chair	5000	26/10/2019	25/02/2020	123 Jour(s)	20

III.3.Méthodes :

Deux à trois semaines après l'apparition des signes cliniques pour le diagnostic des virus sauvage et trois à 5 semaines après vaccination pour le contrôle vaccinale les prélèvements de sang ont été réalisés.

III.3.1.Technique d'échantillonnage

Afin d'obtenir des échantillons représentatifs nous avons procédé par une technique qui couvre toutes les parties du bâtiment.

III.3.2.Technique de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la veine alaire des volailles directement dans l'élevage.

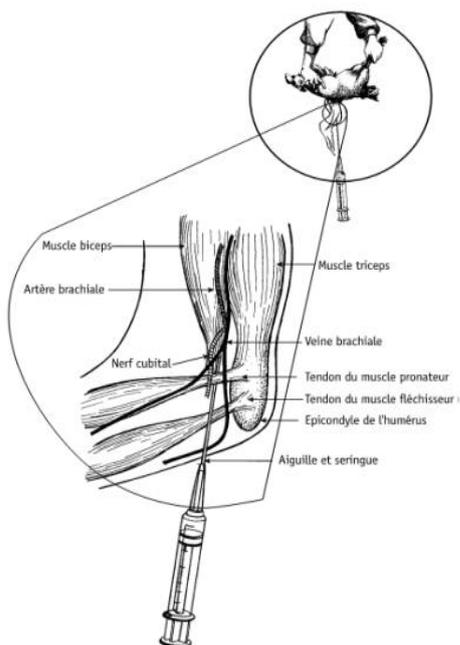


Figure 15 : Prélèvement sanguin au niveau de la veine alaire (Maminiaina, 2017).



Figure 16 : Technique de prélèvements sanguins (Originale, 2020).

Du sang prélevé par une seringue de 5 cc, puis il est versé dans un tube sec. Le paquet des échantillons est étiqueté avec le nom de l'éleveur, type d'élevage, l'âge de la bande, la date et la région.

III.3.3. Transport du sang

Les échantillons ont été placés dans une glacière à température (+2°C à 8°C) et vite transporter au laboratoire.

III.4. Analyse sérologique :

III.4.1. Récupération du sérum :

Une fois arriver au laboratoire le sang est centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse afin d'obtenir une meilleure séparation entre le caillot et le sérum. Puis, les sérums ont été mis dans des microtubes de 2 ml (Eppendorf®) avec une pipette.



Figure 17 : Récupération du sérum (Originale, 2020).

III.4.2. Technique d'analyse

On ramène tous les réactifs à température ambiante avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou vortex.

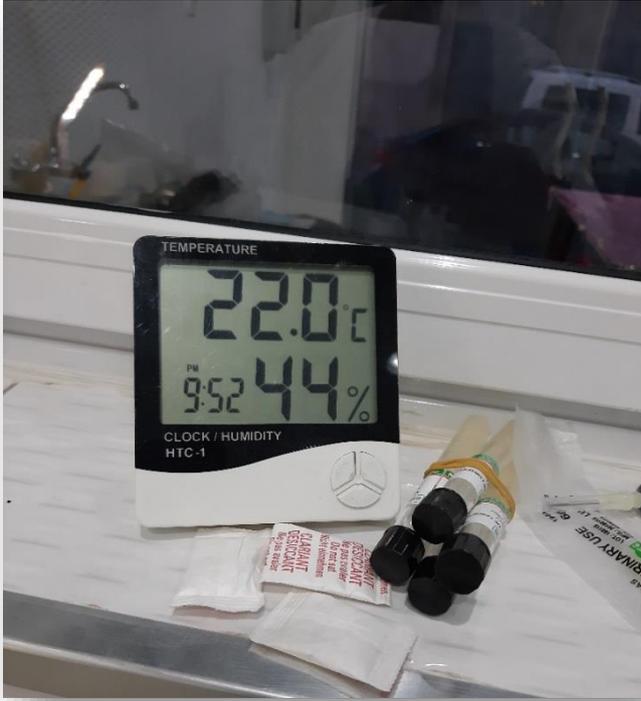


Figure 18 : Thermo-hygromètre (Originale, 2020).



Figure 19 : Vortex (Originale, 2020).

Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. Ne pas ajouter le tampon de dilution aux puits contrôle A1, B1, C1, D1, - les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses.

Les échantillons, quant à eux sont analysés à la dilution finale de 1/500 en tampon dans la plaque ELISA. Dans une plaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1, D1, aux contrôles et ajouter le sérum et le diluant pour avoir le titre 1/500 ;

1. Dans la plaque d'ELISA, ajouter :
 - 100 μ l du contrôle négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 μ l du contrôle positif dans les puits C1 et D1.
 - Les sérums dilués dans le reste des puits.

2. Couvrir la plaque et incuber 60 minutes (± 6 min) à température ambiante pour le kit ID Screen® Influenza H9 Indirect et 30 minutes pour le kit : ID Screen® Newcastle Disease Indirect,
3. Préparer le conjugué ;
4. Vider les puits puis laver 3 fois chaque puits avec la solution de lavage et éviter le dessèchement entre les lavages ;
5. Distribuer 100ul de conjugué dans chaque puits.
6. Couvrir la plaque et incuber à température ambiante pour les plaques ELISA ;
7. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au minimum, éviter le dessèchement des entre les lavages.
8. Distribuer 100ul de solution de révélation dans chaque puits.
9. Couvrir la plaque et incuber 15 min (± 2 min) à température ambiante à l'obscurité.
10. Distribuer 100ul de solution d'arrêt dans chaque puits pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape N°9.

Mesurer et enregistré les densités optiques à 450 nm.

IV.INTERPRETATION :

Les résultats de l'ELISA sont traités par le logiciel ID Soft™ 5.11 et afin de les interpréter différents critères sont pris en compte ainsi que les signes cliniques les lésions et le protocole vaccinal.

- Positivité des sérums ;
- Moyenne des titres des anticorps (MT) ;
- Moyenne géométrique (GMT) ;
- Coefficient de variabilité (CV) ;
- Bases lignes des moyennes des titres. (Base interne du laboratoire).

V. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats et leurs interprétations sont décrits pour chacune des maladies dans chaque élevage.

V.1.L'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP)(H9N2)

V.1.1.Résultats sérologiques de l'élevage « A » pour l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP)(H9N2)

Les résultats sérologiques de l'élevage « A » pour l'Influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP)(H9N2) sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

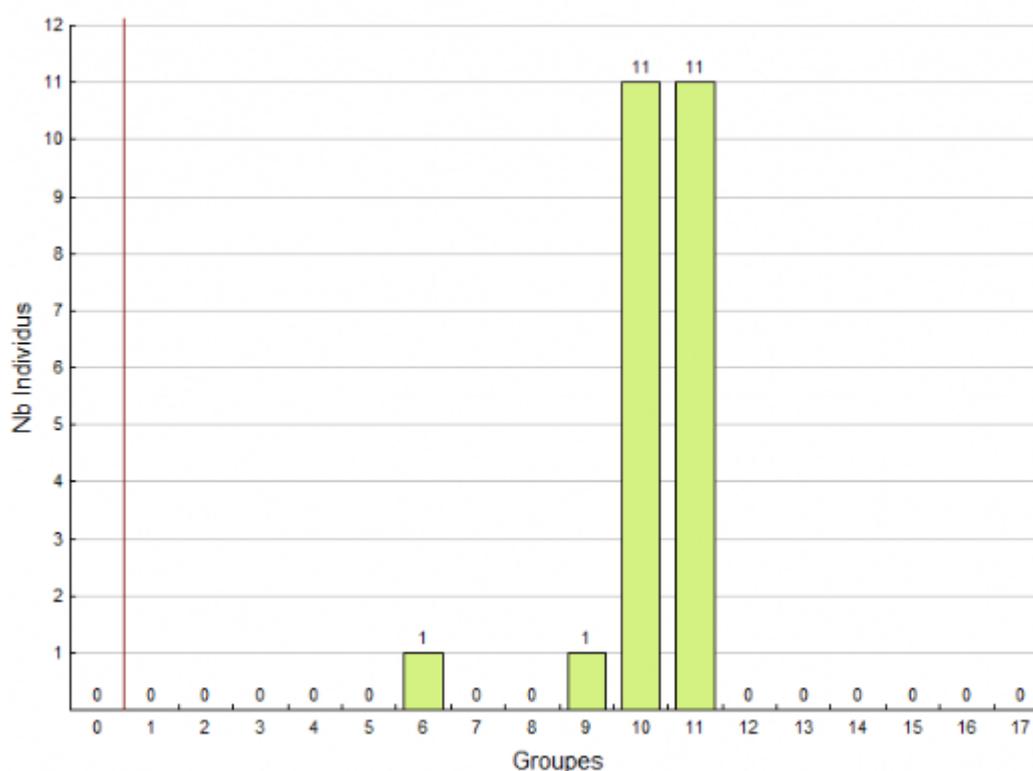


Figure 20 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « A » de l'IAFP.

Tableau 5 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « A » de l'IAFP.

Moyenne	19 247
Minimum	8 089
Maximum	20 614
G.M.T.	18 988
% CV	13
Nombre de Sérums Positifs	24/24

V.1.2. Interprétation des résultats de l'élevage « A » pour l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP)(H9N2)

- Vaccination : L'élevage « A » est non vacciné contre IAFP.
- Signes cliniques : bouchon trachéale ; mortalité élevée.
- Le nombre de sérums positifs (24/24)
- Le CV est très serré (CV=13)
- La moyenne des titres est élevée (MT=19247)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont a conclu que c'est un passage viral très sévère.

V.1.3. Résultats sérologiques de l'élevage « B » pour l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)

Les résultats sérologiques de l'élevage « B » pour l'Influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2) sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

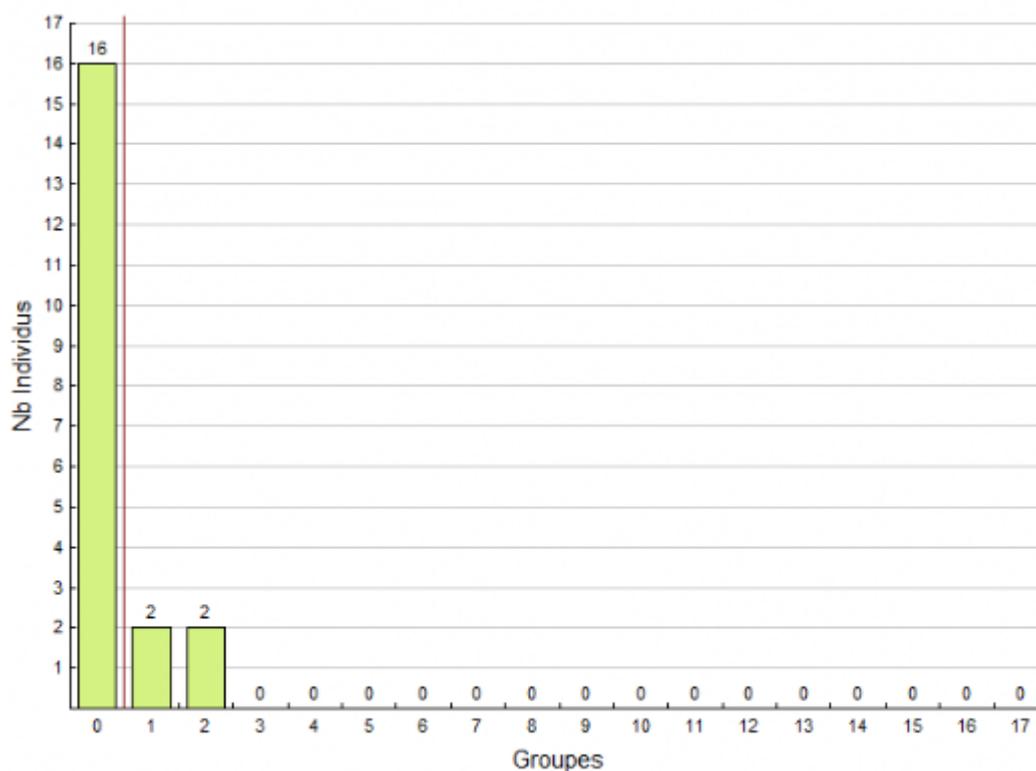


Figure 21 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « B » de l'IAFP.

Tableau 6 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « B » de l'IAFP.

Moyenne	537
Minimum	81
Maximum	2 789
G.M.T.	279
% CV	146
Nombre de Sérums Positifs	04/20

**V.1.4. Interprétation des résultats de l'élevage « B » pour l'influenza aviaire
faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)**

- Vaccination : L'élevage « B » est non vacciné contre IAHP
- Signes cliniques : Absence de signes cliniques et lésionnels.
- Le nombre de sérums positifs (04/20)
- Le CV est très hétérogène (CV=146)
- La moyenne géométrique des titres est basse (GMT=279).
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont a conclu que c'est le début d'infection.

V.1.5. Résultats sérologiques de l'élevage « C » pour l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)

Les résultats sérologiques de l'élevage « C » pour l'Influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2) sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

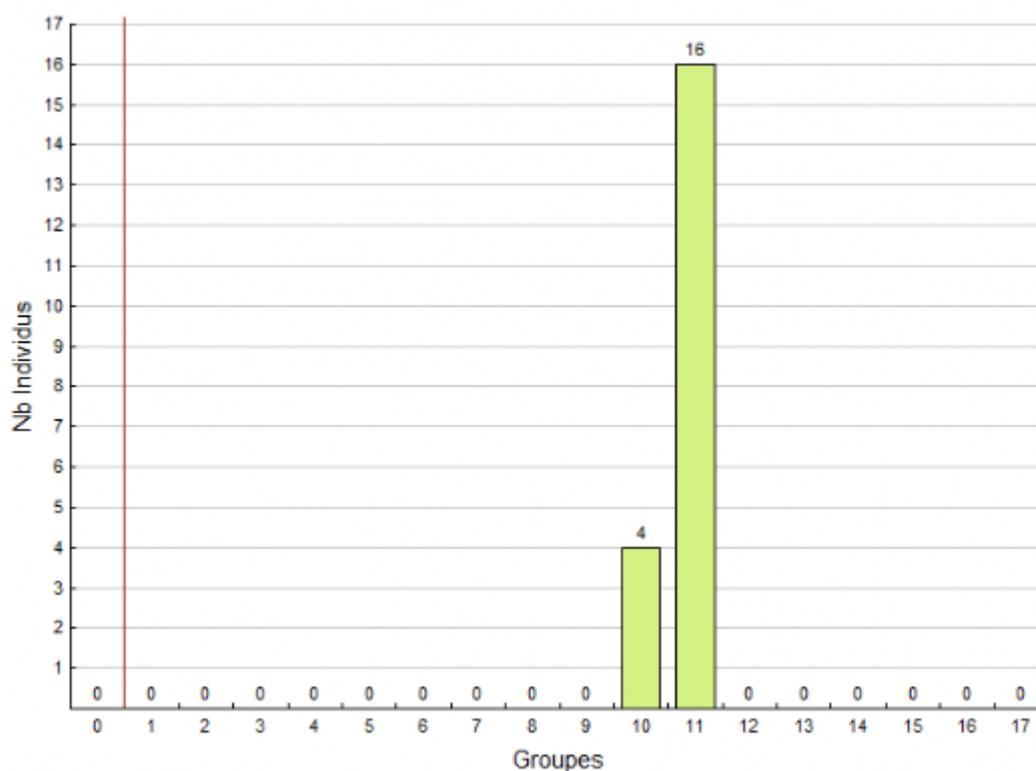


Figure 22 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « C » de l'IAFP

Tableau 7 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « C » de l'IAFP.

Moyenne	20 216
Minimum	18 815
Maximum	20 483
G.M.T.	20 211
% CV	2
Nombre de Sérums Positifs	20/20

**V.1.6. Interprétation des résultats de l'élevage « C » pour l'influenza aviaire
faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)**

- Vaccination : L'élevage « C » n'a pas été vacciné contre IAFP
- Signes cliniques : hémorragie sous cutanée ; bouchon trachéal ; mortalité très élevée.
- Le nombre de sérums positifs (20/20).
- Le CV est très serré (CV=2)
- La moyenne des titres est élevée (MT=20216)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est un passage viral très sévère.

V.1.7. Résultats sérologiques de l'élevage « D » pour l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)

Les résultats sérologiques de l'élevage « D » pour l'Influenza aviaire faiblement pathogène (IAHP)(H9N2) sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

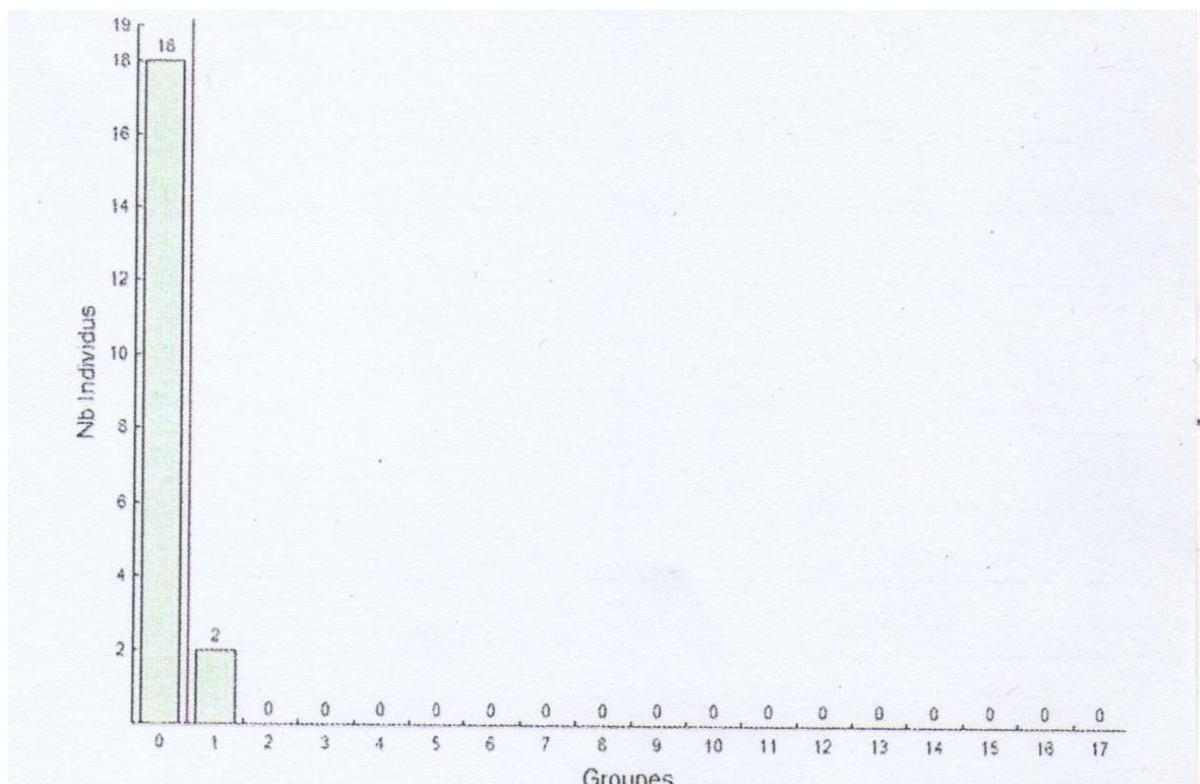


Figure 23 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « D » de l'IAFP

Tableau 8 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « D » de l'IAFP.

Moyenne	340
Minimum	44
Maximum	1021
G.M.T.	253
% CV	76
Nombre de Sérums Positifs	02/20

**V.1.8. Interprétation des résultats de l'élevage « D » pour l'influenza aviaire
faiblement pathogène (IAHP)(H9N2)**

- Vaccination : L'élevage « D » n'est pas vacciné contre IAFP.
- Signes cliniques : Absence de signes cliniques et lésionnels.
- Quelques sujets positifs (02/20).
- Le CV est très hétérogène (CV=76)
- La moyenne géométrique des titres est basse (GMT=253)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est le début d'infection.

V.2.La maladie de Newcastle

V.2.1.Résultats sérologiques de l'élevage « A » pour la maladie de Newcastle

Les résultats sérologiques de l'élevage « A » pour la maladie de Newcastle sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

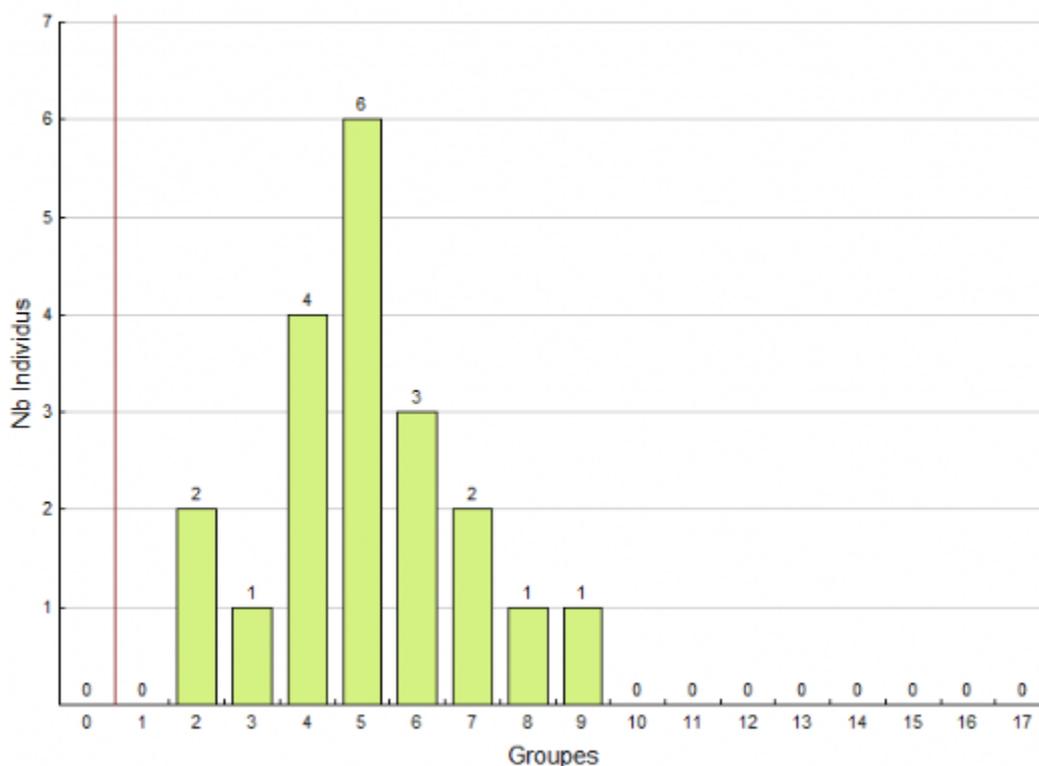


Figure 24 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « A » de la maladie de Newcastle

Tableau 9 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « A » pour la maladie (MN).

Moyenne	7268
Minimum	2327
Maximum	14457
G.M.T.	6501
% CV	46
Nombre de Sérums Positifs	20/20

V.2.2. Interprétation des résultats de l'élevage « A » pour la maladie de Newcastle

- Vaccination : L'élevage « A » a été vacciné en utilisant deux vaccins.
- Signes cliniques : respiratoires et digestifs modérés.
- Le nombre de sérums positifs (20/20).
- Le CV (CV=46).
- La moyenne des titres est un peu plus élevée (MT=7268)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est un passage viral léger car les animaux sont bien vaccinés, deux vaccinations primo et rappel, ce qui procure une bonne protection contre les virus circulant dans le terrain.

V.2.3. Résultats sérologiques de l'élevage « B » pour la maladie de Newcastle

Les résultats sérologiques de l'élevage « B » pour la maladie de Newcastle sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

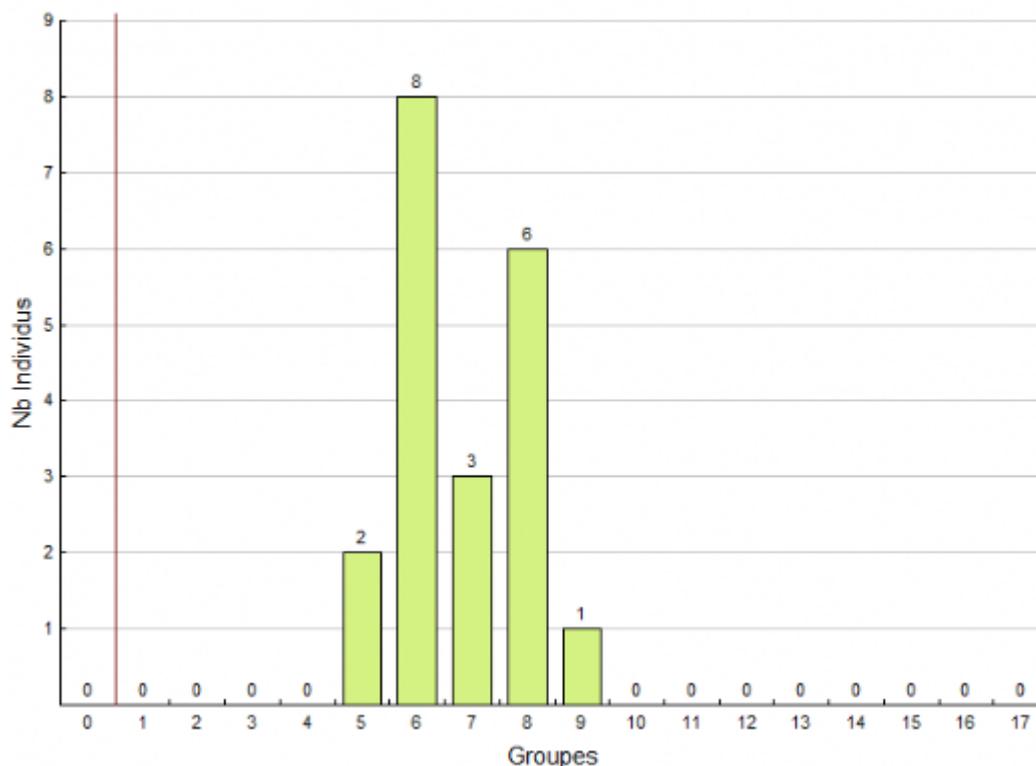


Figure 25 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « B » de la maladie de Newcastle

Tableau 10 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « B » de la maladie (MN).

Moyenne	10 486
Minimum	6 748
Maximum	14 477
G.M.T.	10 267
% CV	21
Nombre de Sérums Positifs	20/20

V.2.4. Interprétation des résultats de l'élevage « B » pour la maladie de Newcastle

- Vaccination : L'élevage B a été vacciné contre la maladie de Newcastle par 2 vaccins.
- Signes cliniques : respiratoires et digestifs modérés.
- Le nombre de sérums positifs (20/20)
- Le CV est serré (CV=21)
- La moyenne des titres est élevée (MT=10486)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est un passage viral modéré.

V.2.5. Résultats sérologiques de l'élevage « C » pour la maladie de Newcastle

Les résultats sérologiques de l'élevage « C » pour la maladie de Newcastle sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

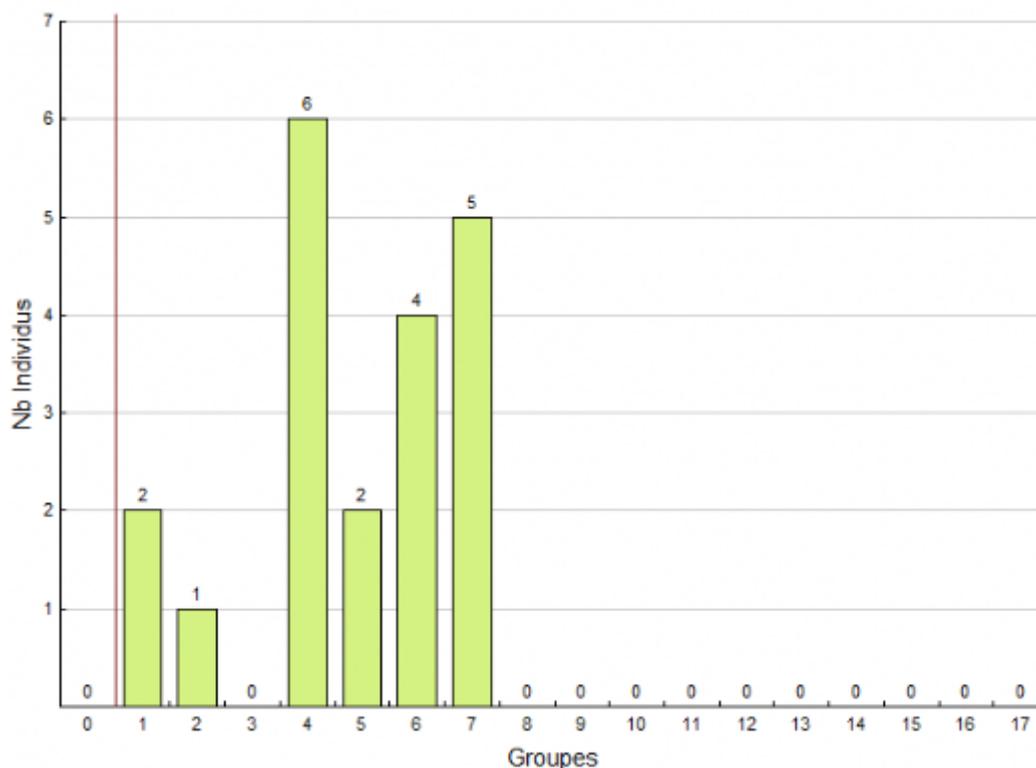


Figure 26 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « C » de la maladie de Newcastle.

Tableau 11 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « C » de la maladie (MN).

Moyenne	7 103
Minimum	1 622
Maximum	11 960
G.M.T.	6 160
% CV	46
Nombre de Sérums Positifs	20/20

V.2.6. Interprétation des résultats de l'élevage « C » pour la maladie de Newcastle

- Vaccination : L'élevage C a été vacciné par 2 vaccins.
- Signes cliniques : Absence de signes cliniques et lésionnels.
- Le nombre de sérums positifs (20/20).
- Le CV (CV=46)
- La moyenne des titres est légèrement élevée (MT=7103).
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est un passage viral léger car les animaux bien vaccinés deux vaccinations ce qui étend le spectre de protection contre les virus circulant dans le terrain

V.2.7. Résultats sérologiques de l'élevage « D » pour la maladie de Newcastle

Les résultats sérologiques de l'élevage « D » pour la maladie de Newcastle sont présentés dans la figure et le tableau ci-dessous :

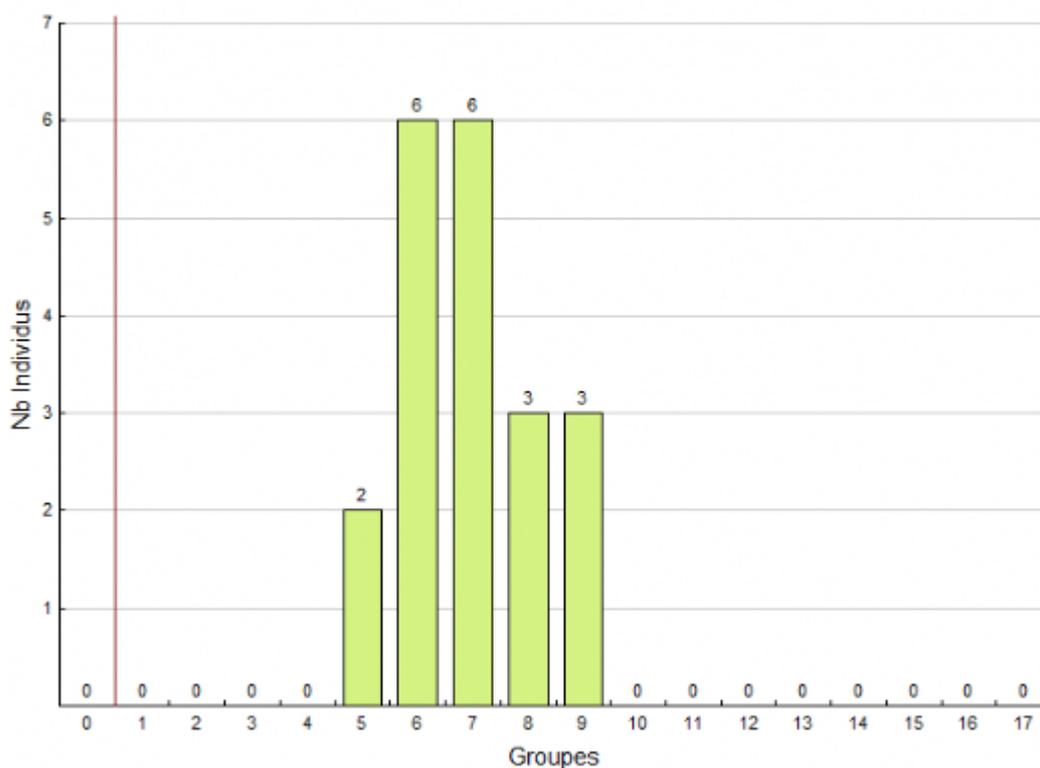


Figure 27 : Représentation graphique de groupe de titre de l'élevage « D » de la maladie de Newcastle.

Tableau 12 : Statistiques des titres sérologiques de l'élevage « D » de la maladie (MN).

Moyenne	10 931
Minimum	6 675
Maximum	15 569
G.M.T.	10 645
% CV	23
Nombre de Sérums Positifs	20/20

V.2.8. Interprétation des résultats de l'élevage « D » pour la maladie de Newcastle

- Vaccination : L'élevage D a été vacciné par 2 vaccins.
- Signes cliniques : respiratoires et digestifs modérés.
- Le nombre de sérums positifs (20/20).
- Le CV est serré (CV=23)
- La moyenne des titres est élevée (MT=10931)
- Les données de la Baseline MC VETOLAB ALGERIE.

Après analyse des différents paramètres cliniques, lésionnels, protocole vaccinal et les statistiques du Test ELISA ont conclu que c'est un passage viral modéré.

VI.CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS :

En conclusion cette étude après avoir analysé les sérums des différents élevages de dinde chair par la technique sérologique (ELISA) a permis de diagnostiquer des maladies virales au sein des élevages en dépit de leur vaccination.

Comme recommandations, on propose les points suivants :

- Le programme de vaccination doit être basé sur des données épidémiologiques de la région ;
- Les conditions de conservation des vaccins et la technique de vaccination doivent être réalisées par un professionnel.
- Améliorer la technique de vaccination en faisant appel à un personnel expérimenté ;
- L'utilisation d'un matériel adéquat pour la vaccination (Nébuliseur) ;
- Utilisation des stabilisateurs de vaccin ;
- Choix de la souche vaccinale,
- Renforcement des protocoles par des rappels lorsque la pression virale est élevée ;
- Vaccination aux couvoirs pour anticiper les virus sauvages du terrain,

Ainsi un suivi sérologique pour s'assurer de la bonne protection du troupeau et réduire l'impact des pathologies dans les élevages de volailles.

Références bibliographiques

- Asensio, Luis, et al. 2008.** Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 2008, Vol. 19, pp. 1–8.
- Baco, Etienne. 2011.** *SYNTHESE D'HAPTENES DE PHYCOTOXINES POUR L'ELABORATION D'UN IMMUNOCAPTEUR*. s.l. : UNIVERSITÉ BORDEAUX I, 2011. thèse POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR.
- bich, Tran ngoc. 2008.** *virose immunodepressive de palmipedes : approche moléculaires appliqués au dagnostic et epidemiologie du goose hemorrhagic (GHPV) et du Duck Enteris (DEV)*. s.l. : UNIVERSITE DE TOULOUSE, 2008. thèse de doctorat.
- Box. 1984.** *Poultry vaccines—Live or killed*. s.l. : Poultry International. May, 1984.
- Droual, R., A.A. Bickford, B.R. Charlton, and D.R. Kuney. 1990.** *Investigation of problems associated with intramuscular breast injection of oil-adjuvanted killed vaccines in chickens Avian Dis*. 1990.
- Eterradossi, Nicolas et Saif, Yehia M. 2020.** GUMBORO. [auteur du livre] David E. Swayne, et al. *Diseases of Poultry*. 2020.
- Frederick, Magniez. 2008.** *La technique ELISA*. s.l. : biotechnologies, 2008.
- Fritts, C et Lemiere, S. 2003.** TECHNIQUES DE VACCINATION. [auteur du livre] Jean-pierre vaillancourt , HLshivaprasad Venne , moncef bouzouaia Jeanne brugère-picoux. [éd.] AFAS. *Manuel de pathologie aviaire*. 2003.
- Guérin, Jean-Luc, Bolloy, Dominique et Villate, didier. 2011.** *maladies des volailles*. [éd.] France Agricole. 3eme edition. paris : s.n., 2011.
- Hosseini, Samira, et al. 2018.** *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. 1. s.l. : Springer Singapore, 2018.
- In ovo technology for vaccine delivery.* **Gildersleeve, R.P., and D.R. Klein Fluke.** Proc North Central Avian Dis Conf.
- Jackwood, Mark W et Sjaak, deWit. 2020.** Infectious Bronchitis. [auteur du livre] David E. Swayne, et al. *Diseases of Poultry*. 2020.
- Janeway, CA Jr, et al. 2001.** *Immunobiology, 5th edn. The Immune System in Health and Disease*. New York :Garland Science : s.n., 2001.
- Jefte M. Drijvers, Imad M. Awan, Cory A. Perugino, Ian M. Rosenberg and Shiv Pillai. 2017.** *The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: The Application of ELISA in Clinical Research*. [auteur du livre] Morteza Jalali Francesca Saldanha Mehdi Jalali.

- Basic Science Methods for Clinical Researchers*. 1st Edition. Ragon Institute of MGH, MIT and Harvard, Cambridge, MA, United States : Elsevier, 2017, pp. 120-121.
- Kaci, A, et al. 2001.** *Conduite des élevages de poulets de chair en Algérie : Un sous-équipement chronique. Agroligne n° 18. Novembre-Décembre 2001:17-19.* 2001.
- Lai S, Wang S, Luo J, Lee LJ, Yang S-T, Madou MJ. 2004.** Design of a compact disk-like microfluidic platform for enzyme-linked immunosorbent assay. *Anal Chem* . 2004.
- Lovell, E.J. 1995.** *Farm vaccination—Injection method oil emulsion vaccines.* s.l. : ACPV Workshop on Poultry Vaccination Techniques and Evaluation, 46th North Central Avian Disease Conference, 1995.
- Majo, Natàlia et Dolz, Roser. 2012.** *Autopsie des volailles.* DU POINT VETERINAIRE. s.l. : Atlas, 2012. Vol. 82.
- Maminiaina, Olivier Fridolin. 2017.** *EXPÉRIMENTATION SUR LES MOYENS DE LUTTE CONTRE LES MALADIES PARASITAIRES INTERNES ET LA MALADIE DE NEWCASTLE DANS UN MILIEU CONTRÔLÉ À KIANJASOA.* 2017.
- manuel-faculty.scf.edu.** biotechnology explorer elisa immun explorer. [En ligne] bio-rad. <http://explorer.bio-rad.fr>.
- Mikulskis A, Yeung D, Subramanyam M, Amaravadi L. 2011.** Solution ELISA as a platform of choice for development of robust, drug tolerant immunogenicity assays in support of drug development. *J Immunol Methods*. 2011.
- Miura, K, et al. 2008.** *Development and characterization of a standardized ELISA including a reference serum on each plate to detect antibodies induced by experimental malaria vaccines.* 2008.
- Orsolini, G, et al. 2016.** *Comparison of Immunoenzymatic Assay and Crithidia Immunofluorescence Test for The Detection of anti-Double Strand DNA Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythematosus.* s.l. : BMJ Publishing Group Ltd, 2016.
- Peng, Juan, et al. 2014.** Development of a monoclonal antibody-based sandwich ELISA for the detection of ovalbumin in foods. [éd.] *Food and agricultural immunology*. 2014, Vol. 25, pp. 1–8.
- Pizza, M, et al. 2000.** *Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome.* 2000.
- Pons, Caroline. 2018.** *LA VACCINATION A L'OFFICINE : ETUDE SUR SITE DE LA FAISABILITE DE LA VACCINATION ANTIGRIPPALE A L'OFFICINE EN REGION MIDI-PYRENEES.* s.l. : UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER, 2018. THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE.

- Pruslin FH, To SE, Winston R, Rodman TC. 1991.** Caveats and suggestions for the ELISA
J Immunol Methods. 1991.
- Rasamoelina-Andriamanivo, Harentsoaniaina, et al. 2016.** La maladie de Newcastle
Recherche interdisciplinaire pour le développement durable et la biodiversité des
espaces ruraux malgaches. Application à différentes thématiques de territoire. 2016.
- ROUZET, Adeline. 2017.** *Identification des protéines antigéniques impliquées dans la
maladie du poumon d'éleveur d'oiseaux.* s.l. : UNIVERSITE BORGONE FRANCHE-
COMTE, 2017. p. 35, THESE DE DOCTORAT.
- Saegerman, C, et al. 2004.** Evaluation, contrôle et prévention du risque de transmission du
virus influenza aviaire à l'homme. *ANNALES DE MEDECINE VETERINAIRE.* 2004.
- Stephen, R Collett et John A, Smith. 2020.** Principles of Disease Prevention, Diagnosis, and
Control. [auteur du livre] Martine Boulianne, Catherine M. Logue, Larry R.
McDougald, Venugopal Nair, David L. Suarez David E. Swayne. *Diseases of Poultry.*
14th Edition. 2020.
- . 2020. Principles of Disease Prevention, Diagnosis, and Control. [auteur du livre] David E.
Swayne Martine Boulianne Catherine M. Logue Larry R. McDougald Venugopal Nair
David L. Suarez. [éd.] wiley blackwell. *Diseases of Poultry.* 14th Edition. 2020.
- Stephen, R, et al. 2020.** Principles of Disease Prevention, Diagnosis, and Control. s.l. :
Springer, 2020.
- Swayne, David, David L, Suarez et Leslie, D. Sims. 2020.** Influenza. [auteur du livre]
Diseases of Poultry. David E. Swayne, Martine Boulianne, Catherine M. Logue, Larry
R. McDougald, Venugopal Nair, David L. Suarez. 2020.
- Uchida, K, et al. 2014.** *Standardized serum GM-CSF autoantibody testing for the routine
clinical diagnosis of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis.* s.l. : J Immunol
Methods, 2014.
- Vegad, J.L. 2007.** *A COLOUR ATLAS OF POULTRY DISEASES.* 2007.
- woolhouse. 1997.** The design of veterinary vaccination programmes. The Veterinary Journal,
1997, Vol. 153, pp. 41–47.
- Wright PF, et al. 1993.** *Standardisation and validation of enzyme-linked immunosorbent
assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis.* s.l. :
Rev Sci Tech, 1993.
- Zuchuat, Sandrine. 2014.** 14: Le test ELISA - BiOutils. *www.bioutils.ch.* [En ligne]
Université de Genève, 2014. [Citation : 17 06 2020.]
[https://www.bioutils.ch/protocoles/14-le-test-elisa.](https://www.bioutils.ch/protocoles/14-le-test-elisa)

SUMMARY:

A serological study was conducted in four meat turkey farms in the wilaya of Setif in Algeria. The objective was to detect a viral passage and to evaluate the quality of vaccination.

A serological study using the ELISA technique against avian influenza (H9N2) viruses from and Newcastle (ND). Serum samples were subjected to indirect Elisa testing using IDvet FLU H9, NDV kits. For the meat turkey farms concerned.

The following serological scores were recorded: mean titers and coefficients of variability:

Influenza for farm "A" (MT=19247) (CV=13); for farm "B" (MT=537) (CV=146); for farm "C" (MT=20216) (CV=2); for farm "D" (MT=340) (CV=76).

Newcastle disease for Farm "A" (MT=7268) (CV=46); for Farm "B" (MT=10486) (CV=21); for Farm "C" (MT=7103) (CV=46); for Farm "D" (MT=10931) (CV=23).

In conclusion, this work has shown high viral pressure in the field and vaccination failures.

Thus, the availability of a database for the implementation of a medical prophylaxis program specific to the epidemiological conditions of the farms and an adequate vaccination are necessary to lower the pressure of circulating viruses and improve the profitability of the farms.

Key words:

Turkey - Avian influenza - Newcastle disease - Vaccination - ELISA – Sétif.

ملخص

أجريت الدراسة السيرولوجية في أربع مزارع للدريك الرومي اللاحم بولاية سطيف بالجزائر. كان الهدف هو اكتشاف ممر فيروسي وتقييم جودة التطعيم.

دراسة مصلية باستخدام تقنية ELISA ضد فيروسات مرض أنفلونزا الطيور (H9N2) في نيوكاسل. تم إخضاع عينات المصل لاختبار ELISA غير المباشر باستخدام مجموعة IDvet FLU H9، NDV. لمزارع الدريك الرومي اللاحم المعنية

تم تسجيل الدرجات المصلية التالية: متوسطات العيار ومعاملات التباين:

الأنفلونزا للمزرعة "أ" (MT=19247) (CV = 13) ؛ للمزرعة "ب" (MT=537) (CV=146)؛ للمزرعة "ج" (MT=20216) (CV=2)؛ للمزرعة "د" (MT=340) (CV=76) .

مرض نيوكاسل للمزرعة "أ" (MT = 7268) (CV = 46) ؛ للمزرعة "ب" (MT=10486) (CV=21)؛ للمزرعة "ج" (MT=7103) (CV=46)؛ للمزرعة "د" (MT=10931) (CV=23) .

في الختام ، أظهر هذا العمل وجود ضغط فيروسي مرتفع في الحقل وفشل التطعيم ، وبالتالي توفر قاعدة بيانات لإنشاء برنامج الوقاية الطبية الخاص بالظروف الوبائية للمزارع والتحصين المناسب ضروري لخفض ضغط الفيروسات المنتشرة وتحسين ربحية المزارع.

الكلمات الدالة:

دريك رومي اللاحم - أنفلونزا الطيور - مرض نيوكاسل - التطعيم - إيليسا - سطيف.

RESUME :

Une étude sérologique a été menée au sein de quatre élevages de dinde chair dans la wilaya de Sétif en Algérie. L'objectif a été de détecter un passage viral ainsi d'évaluer la qualité de la vaccination.

Une étude sérologique par la technique ELISA vis-à-vis des virus de la maladie de l'influenza aviaire (H9N2) et de Newcastle (ND). Les échantillons de sérum ont été soumis au test Elisa indirect en utilisant les kits IDvet FLU H9, NDV. Pour les élevages de dinde chair concernés

Les scores sérologiques suivants ont été enregistrés : les moyennes des titres et les coefficients de variabilité :

De l'influenza pour l'élevage « A » (MT=19247) (CV=13) ; pour l'élevage « B » (MT=537) (CV=146) ; pour l'élevage « C » (MT=20216) (CV=2) ; pour l'élevage « D » (MT=340) (CV=76).

De la maladie de Newcastle pour l'élevage « A » (MT=7268) (CV=46) ; pour l'élevage « B » (MT=10486) (CV=21) ; pour l'élevage « C » (MT=7103) (CV=46) ; pour l'élevage « D » (MT=10931) (CV=23).

En conclusion ce travail a montré une pression virale élevée sur le terrain et des échecs de vaccination ainsi la disposition d'une base de données pour la mise en place d'un programme de prophylaxie médicale spécifique aux conditions épidémiologiques des élevages et une vaccination adéquate sont nécessaires pour baisser la pression des virus circulante et améliorer la rentabilité des élevages.

Mots clé :

Dinde chair –influenza aviaire–Maladie de Newcastle – Vaccination – ELISA– Sétif.