
LA BRONCHITE INFECTIEUSE AVIAIRE EN TUNISIE : SEROPREVALENCE, PATHOGENICITE ET ETUDE DE COMPATIBILITE VACCIN-ISOLATS

H. BOUROGAA¹, K. MILED¹, I. LARBI¹, J. NSIRI¹, L. GRIBAA¹, I. EL BEHI¹,
W. BEN RHOUMA¹, F. ALLAGUI¹, H. SASSI¹ ET A. GHARAM^{1*}

¹ Laboratoire de Recherche de Microbiologie Vétérinaire, Institut Pasteur de Tunis, 13 place Pasteur, BP 74
1002 Tunis-Belvédère, Tunisie.

* Auteur Correspondant : E-mail : abdeljelil.ghram@pasteur.rns.tn

RESUME

Une étude séro-épidémiologique a concerné un échantillon de 5660 sérums de poulets de tout âge, provenant de régions à forte concentration avicole, collectés pendant les années 2006 à 2008. Les résultats du test ELISA permettant la détection des anticorps sériques anti-virus de la bronchite infectieuse, indiquent une mauvaise prise en charge de la vaccination dans nos élevages avicoles se traduisant par de faibles réponses ne permettant pas d'assurer une protection efficace contre des virus virulents en circulation. 45 à 69% des élevages montrent une réponse vaccinale positive ; et seuls 5 à 15% de ces élevages sont protégés.

L'étude de pathogénicité des isolats tunisiens TN20/00 et TN335/01 confirment la sévérité de leur pouvoir pathogène avec des scores cliniques et lésionnels assez élevés.

L'évaluation de la capacité du vaccin Massachusetts H120 à protéger les oiseaux contre ces isolats, démontre le faible niveau de la protection conférée par le vaccin, en particulier vis-à-vis de l'isolat TN20/00. Enfin, ces différents résultats permettent de déterminer la pathogénicité des souches virales en circulation dans les élevages et de choisir le(s) vaccin(s) à utiliser pour mieux maîtriser cette pathologie grave.

Mots clés : Aviaire, bronchite infectieuse, séroprévalence, pathogénicité, isolats tunisiens, protection vaccinale.

ABSTRACT

A sero-epidemiological study was carried out on 5660 sera collected, between 2006 and 2008, from different flocks in different regions of the country. The ELISA results showed low levels of antibodies indicating vaccination failures. 45 to 69% of the flocks showed positive levels of antibodies and only 5 to 15% of these were protected.

The pathogenicity studies of the Tunisian field isolates TN20/00 and TN335/01 demonstrated high clinical and lesion scores indicating the pathogenic effect of the two isolates.

The challenge experiments conducted to evaluate the cross-protection between the H120 vaccine and the field isolates showed low protection rate, especially against the TN20/00 virus.

The overall results allowed the determination of the pathogenic nature of the field isolates and a vaccination program based on the use of the only Massachusetts H120 strain did not reduce tracheal and kidney lesions. To better control the disease, adapting the vaccination program by using vaccine allowing better protection against variant strains, is recommended.

Key words : Avian, infectious bronchitis, seroprevalence, pathogenicity, tunisian isolates, vaccine protection.

INTRODUCTION

La bronchite infectieuse aviaire (BI) a été décrite pour la première fois aux Etats-Unis d'Amérique (USA) dans les années trente en tant que maladie aiguë touchant en particulier les jeunes poulets¹ et depuis, elle est décrite dans toutes les régions où l'élevage avicole est développé.

Le virus responsable est un membre du genre Coronavirus, de la famille des Coronaviridae et de l'ordre des Nidovirales². C'est un virus non segmenté, de polarité positive, avec un génome comprenant un simple brin d'ARN de 32 Kb³. Il est composé de 4 protéines de structure, une glycoprotéine de surface S clivée en S1 et S2, une glycoprotéine transmembranaire M, une petite protéine de l'enveloppe E et une protéine N associée à l'ARN viral formant la nucléocapside^{4,5,6}.

Le virus de la BI (VBI) affecte les poulets de tout âge qui, avec les faisans et les pintades, sont les seules espèces connues, infectées naturellement.

La maladie se présente sous différentes formes cliniques, principalement un syndrome respiratoire. L'infection de l'oviducte peut provoquer des lésions irréversibles chez les poussins de poulettes. Chez les oiseaux plus âgés, on observe un arrêt de la ponte avec la production d'œufs à coquille mince ou déformée et décolorée. La BI peut provoquer des troubles rénaux avec des néphrites aiguës, une urolithiase, et une mortalité⁷.

Bien que les virus aviaires causent des dommages considérables au secteur avicole, les données sur la prévalence de la majorité de ces virus sont insuffisantes.

Les quelques travaux réalisés en Tunisie ont montré des taux d'infection très élevés aussi bien chez les poulets de chair que chez les reproductrices^{8,9}. Malgré la vaccination des élevages industriels contre cette maladie, les pathologies à syndrome respiratoire, génital et/ou rénal chez les poulets, restent courantes et sont à l'origine de pertes économiques importantes liées aux taux de mortalité, pouvant aller jusqu'à 30%, et de chutes de ponte.

Le manque de données épidémiocliniques relatives à la nature des souches virales en circulation ainsi que la protection conférée par le seul vaccin de type Massachussets utilisé, constituent un facteur limitant quant à la maîtrise de la maladie.

Le développement assez important du secteur avicole, associé aux échanges commerciaux, rend obligatoire l'instauration d'un programme de surveillance bien

adapté, permettant à la fois le diagnostic rapide et précis de la BI, le typage du virus, le suivi de son évolution sur le terrain et le choix de vaccins et de programmes de prophylaxie appropriés.

C'est dans cette optique que nous avons développé un programme de travail visant aussi bien l'étude épidémiologique de la maladie que l'isolement, l'identification et la caractérisation moléculaire des virus en circulation dans les élevages à problèmes. Ces études ont permis de caractériser trois nouveaux sérotypes variants¹⁰.

Dans ce travail, nous avons réalisé une étude séro-épidémiologique, à large échelle et sur trois années consécutives, ayant concerné une collection de sérums provenant d'élevages de poulets industriels de différentes régions de la Tunisie. Parallèlement, des essais expérimentaux sur des poulets ont été réalisés pour évaluer le degré de virulence des isolats tunisiens et le niveau de protection conférée par le virus vaccinal H120 vis-à-vis de ces isolats¹⁰. Une corrélation entre les résultats de ces deux essais est effectuée afin de discuter la nature et le choix des vaccins à utiliser.

MATERIEL ET METHODES

ETUDE SERO-EPIDEMIOLOGIQUE

• Régions et élevages

Un échantillon représentatif portant sur des élevages de poulets de chair est effectué dans sept régions écologiquement différentes de la Tunisie, incluant 3 régions du nord, 3 du centre et une du sud. Le nombre d'élevages par région est déterminé par un tirage au sort parmi les élevages recensés suite à trois programmes nationaux de vaccination (PN1, PN2 et PN3). Un total de 287 élevages, répartis sur les localités considérées et sur trois années consécutives, de 2006 à 2008, a fait l'objet de cette enquête (Tableau I).

• Prélèvements

Dans chaque élevage, nous avons fait 20 prélèvements de sang total, acheminés dans les 48 heures au laboratoire, sous régime du froid. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements concernant l'élevage, l'âge des oiseaux, les antécédents pathologiques ainsi que le programme de vaccination et les vaccins utilisés.

• Analyse sérologique

Un kit ELISA de commerce (Synbiotics ProFlock kit, FRANCE) est utilisé pour la détection des anticorps

Tableau I: Nombre d'élevages étudiés et leur distribution géographique.

Gouvernorat	Nombre d'élevages considérés par année			
	2006 (PN1)*	2007 (PN2)*	2008 (PN3)*	Total
Zaghuan	10	10	13	33
Bizerte	13	7	13	33
Nabeul	22	18	19	59
Sousse	10	10	10	30
Mahdia	13	15	17	45
Kairouan	10	9	10	29
Sfax	19	17	22	58
Total	97	86	104	287

* PN : Programme National

spécifiques dirigés contre le VBI dans les sérums prélevés, selon les recommandations du fournisseur. A partir des valeurs S/P, les titres sériques en anticorps ainsi que les coefficients de variation (CV) sont déterminés, après validation des résultats obtenus. L'interprétation des résultats est faite en tenant compte du seuil de positivité fixé à 165, selon les spécifications du kit :

- 165 < titre < 3000, élevage positif mais non protégé
- 3000 < titre ≤ 10000, élevage positif et protégé
- Titre ≥ 10000 indiquant un passage viral sauvage.

ETUDE DE PATHOGENICITE ET DE COMPATIBILITE

• Animaux et hébergement

Des poussins exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS), d'un jour d'âge, ont été utilisés pour réaliser les études de pathogénicité des isolats de terrain et de leur compatibilité vis-à-vis du vaccin H120. Les poussins sont répartis, au hasard, en groupes et hébergés dans des isolateurs (Isolator Mark I, Cis Inc., USA).

• Souches virales

Deux isolats du terrain tunisien ¹⁰ (TN20/00 et TN335/01), identifiés en tant que virus variants de la bronchite infectieuse sur le plan de leur génotype et de leur sérotype, sont utilisés, au cours des essais 1 et 2, pour étudier aussi bien leur pathogénicité sur animaux que leur compatibilité vis-à-vis de la souche vaccinale H120. Ce sont des virus isolés et identifiés à partir de poulets de chair présentant des signes respiratoires associés à une néphrite sévère. Les virus sont titrés et conservés à -70°C.

Le vaccin H120 à virus vivant atténué (Bronipra-1, HIPRA, S.A., ESPAGNE) a été utilisé selon les recommandations du fournisseur.

• Protocole expérimental

- Pathogénicité des isolats

Pour évaluer le pouvoir pathogène des deux isolats, dix poussins EOPS d'un jour d'âge, sont placés dans l'isolateur et reçoivent, par voie oculo-nasale à l'âge de 21 jours, 10³ DIE₅₀ (Dose infectieuse embryonnaire) de l'isolat considéré dans un volume de 100 µl. Un lot non inoculé est inclus comme témoin négatif.

Les oiseaux sont observés quotidiennement, pendant 7 jours, à la recherche de tout signe clinique ou d'une mortalité. Des prises de sang sont effectuées à l'âge de 1, 7, 14, 21 et 28 jours pour la mise en évidence d'anticorps spécifiques anti-VBI par le test ELISA.

A 28 jours d'âge, les animaux sont autopsiés et examinés à la recherche de lésions spécifiques.

- Etude de compatibilité vaccin- isolat

Pour étudier la protection conférée par le vaccin H120 vis-à-vis de chaque isolat, 40 poussins EOPS d'un jour d'âge sont divisés en groupes de 10 (A, B, C et D) (Tableau II). Les poussins des groupes B et C sont vaccinés à l'âge de 3 jours, par voie oculo-nasale, avec une dose de 10³ DIE₅₀ du vaccin H120; ceux des groupes A et D ne reçoivent pas de vaccin. A 21 jours d'âge, les poussins des groupes A (non vaccinés) et B (vaccinés) sont éprouvés en recevant, par voie oculo-nasale, la dose de 10³ DIE₅₀ par poussin de l'isolat considéré.

Les poussins vaccinés et non éprouvés du groupe C, sont utilisés comme témoin pour le contrôle de la vaccination, alors que ceux du groupe D servent comme contrôles négatifs en tant que non vaccinés et non éprouvés.

Les oiseaux sont mis en observation pour tout signe de maladie (abattement, anorexie, signes respiratoires) pendant toute la période de l'essai; un score

Tableau II: Protocole des épreuves virales et de compatibilité vaccin H120- isolats.

Groupe	Attribut	Début j1-3 Vaccination	j7-j14	j21 Epreuve virale	Fin j28 Autopsie
A 10 Ps	Non vacciné Eprouvé	P.S	P.S* S.C**	P.S S.C Pesée Epreuve virale***	P.S S.C Pesée Autopsie
B 10 Ps	Vacciné Eprouvé	P.S Vacciné H120	P.S S.C	P.S S.C Epreuve virale***	P.S S.C Pesée Autopsie
C 10 Ps	Vacciné Non éprouvé	P.S Vacciné H120	P.S S.C	P.S S.C Pesée	P.S S.C Pesée Autopsie
D 10 Ps	Non vacciné Non éprouvé	P.S	P.S S.C	P.S S.C Pesée	P.S S.C Pesée Autopsie

* P.S: prise de sang ; ** : S.C : suivi clinique ; *** : le virus de l'épreuve est soit TN20/00 dans l'essai 1; TN335/01 dans l'essai 2.

clinique allant de 0 à 3 est attribué pour évaluer la sévérité de la maladie. Au 7^{ème} jour post-épreuve, les poulets des 4 groupes sont sacrifiés, des autopsies sont effectuées et les lésions observées sont enregistrées.

Des prises de sang sont effectuées au 1^{er}, 7^{ème}, 14^{ème}, 21^{ème} et 28^{ème} jour d'âge sur tous les poulets ; les sérums récoltés sont centrifugés à 1500 rpm pendant 15 min à température ambiante et servent à la détection des anticorps anti-VBI par le test ELISA.

Des prélèvements de trachées, de poumons, de rates, de reins et d'amygdales caecales sont collectés dans des tubes stériles, lavés au PBS (Phosphate buffered saline solution) et transportés au laboratoire pour le ré-isolément du virus d'épreuve par inoculation aux œufs embryonnés de poules EOPS, suivi du test d'hémagglutination. Un score lésionnel allant de 0 (absence de lésions) à 3 (présence de lésions rénales) est accordé pour évaluer la protection conférée par le vaccin administré.

RESULTATS

• Séroprévalence

Le programme national de vaccination (PN) recommande une vaccination à la mise en place (1-3 jours), suivie d'un rappel trois semaines après, avec le vaccin à virus vivant atténué H120 du sérotype classique Massachussets, par nébulisation ou dans l'eau de boisson.

Au vu des fiches de commémoratifs accompagnant les prélèvements, il apparaît que le programme recommandé n'est pas suivi par la plupart des éleveurs.

Seulement 32, 60 et 50 % des éleveurs ont appliqué un tel programme, respectivement, en 2006, 2007 et 2008 (Tableau III).

Les données cliniques collectées se caractérisent, essentiellement, par l'apparition chez les jeunes de 2 à 3 semaines d'âge (i) de signes respiratoires avec toux, râles, écoulement nasal séro-muqueux et conjonctivite séreuse (ii) de signes digestifs et diarrhées (iii) et de mortalité allant de 3 à 20% dans les régions de Zaghuan, Sousse et Nabeul, en particulier. Les pourcentages d'animaux présentant des titres sériques positifs ou protecteurs sont présentés dans le tableau III. Ainsi, au cours du Programme national 1 (PN1) (2006), la séroprévalence est de 45%, alors que le pourcentage des élevages protégés n'est que de 5%. En 2007 (PN2) et en 2008 (PN3), les taux de positivité dans les élevages ont passé à environ 69% et les pourcentages d'élevages protégés ont atteint, respectivement, 15 et 9%. Seuls les élevages des régions de Zaghuan, Mahdia et Sfax présentent des titres sériques protecteurs avec des taux de séroprévalence respectifs de 62, 88 et 87% en 2008 (Tableau III, Figure 1).

De plus, les titres sériques obtenus montrent une très grande hétérogénéité avec des coefficients de variation (CV) dépassant de loin les 50%. Ainsi, on note que parmi les 83 élevages testés au cours du PN2, seulement 3 élevages ont présenté des CV < 50% traduisant une réponse immunitaire homogène.

Les élevages présentant un titre sérique supérieur à 10 000 seraient probablement infectés par un virus sauvage circulant (Figure 2).

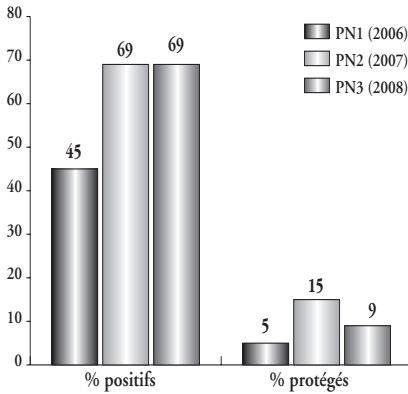


Figure 1. Evolution des taux de positivité et de protection au cours des PN1, PN2 et PN3.

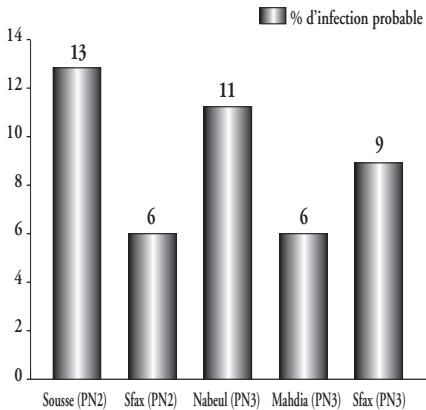


Figure 2. Taux d'exploitations éventuellement infectées.

• Etude de pathogénicité

Les résultats de la pathogénicité des isolats tunisiens TN20/00 et TN335/01 sont présentés dans le tableau IV.

Sur le plan clinique, des signes de maladie caractérisés par un abattement, une inappétence et des difficultés respiratoires avec un jetage nasal et un larmolement, apparaissent à partir du 5^{ème} jour post-inoculation. Des mortalités respectives de 10 à 50% sont enregistrées suite à l'administration des isolats TN335/01 (essai 2) et TN20/00 (essai 1) et des scores cliniques de 1 à 3 sont généralement notés.

A l'autopsie, des lésions spécifiques sont observées, essentiellement au niveau des reins et des tractus respiratoire et digestif. Elles se caractérisent par une trachéite parfois hémorragique, des poumons congestionnés et/ou hémorragiques, des intestins et des amygdales caecales congestionnés et des néphrites aiguës avec une hypertrophie des lobes rénaux accompagnée parfois de dépôts d'urates au niveau des uretères, chez certains poulets (Figure 3).

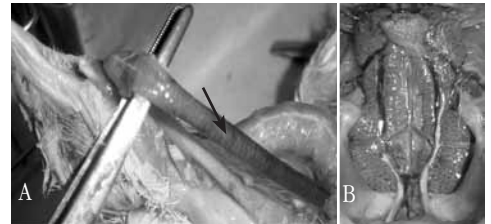


Figure 3. Lésions induites par la souche TN20/00 : (A) trachéite hémorragique; (B) néphrite aiguë avec reins pâles et accumulation d'urates au niveau des uretères.

Tableau III: Etude de la séroprévalence : Pourcentages d'élevages protégés en fonction des années.

Année		2006 (PN1)		2007 (PN2)			2008 (PN3)		
Gouvernorat	% élevages vaccinés	% positifs (titre > 165)*	% protégés (3000 < titre < 10000)*	% élevages vaccinés	% positifs*	% protégés*	% élevages vaccinés	% positifs*	% protégés*
Zaghouan	NM**	10	0	20	50	10	90	62	8
Bizerte	NM	38.5	8	100	57	14	NM	46	0
Nabeul	77	41	4.5	72	72	16.5	84	68.5	0
Sousse	34	67	11	30	75	12.5	60	90	0
Mahdia	54	84.6	0	27	80	26.5	NM	88	29.5
Kairouan	60	40	10	66	75	12.5	20	40	0
Sfax	NM	31.6	0	100	70.5	12	100	87	23
% global	32	45	5	60	69	15	50	69	9

* : Idem pour les années ; **NM : Non mentionné.

Des scores lésionnels de niveau 2 à 3 sont notés chez les oiseaux autopsiés.

Sur le plan de la réponse humorale, tous les poulets présentent des taux d'anticorps maternels anti-VBI assez bas et qui s'annulent rapidement vers la 3^{ème} semaine pour s'accroître ensuite vers la 4^{ème} semaine d'âge.

• Etude de compatibilité vaccin-isolats

Les résultats de l'essai d'évaluation de l'efficacité du vaccin H120 vis-à-vis des deux isolats de terrain, sont présentés dans le tableau IV.

L'inoculation de broyats de trachées ou de reins aux œufs embryonnés SPF, a permis le ré-isolément du virus d'épreuve à partir des organes des poulets non vaccinés et éprouvés (Tableau IV).

Les résultats des analyses sérologiques par ELISA montrent la disparition progressive des anticorps maternels anti-VBI dont les titres s'annulent vers la 2^{ème} semaine. Les anticorps post-vaccinaux apparaissent progressivement à partir du 28^{ème} jour chez les vaccinés non éprouvés; cette augmentation des titres est plus importante chez les oiseaux vaccinés et éprouvés. Les groupes des contrôles non vaccinés non éprouvés et ceux non vaccinés éprouvés ne montrent pas de réponse sérique significative.

Sur le plan clinique, on note l'absence de signes cliniques chez les poulets vaccinés et non éprouvés (lot contrôle de vaccination). Les groupes vaccinés et éprouvés montrent des signes respiratoires plus sévères (score 1-3) suite à l'administration du virus

TN20/00 que celle du virus TN335/01 (score 1) (Tableau IV).

A l'autopsie, au 10^{ème} jour post épreuve, des lésions spécifiques sévères (score 3) sont constatées chez 90% des poulets vaccinés recevant le virus d'épreuve TN20/00 et chez 80% des poulets vaccinés et éprouvés avec l'isolat TN335/01. Une mortalité de 10 à 20% est observée, respectivement, chez les poulets vaccinés et éprouvés avec les isolats TN335/01 ou TN20/00. Les oiseaux des autres groupes n'ont pas montré de signes particuliers liés à la vaccination (Tableau IV).

DISCUSSION

Séroprévalence

Les résultats de l'enquête séro-épidémiologique montrent le non respect par la plupart des éleveurs du programme de vaccination recommandé ; seuls 32% en PN1, 60% en PN2 et 50% en PN3 d'entre eux pratiquent une ou deux vaccinations. Ceci signifie que la moyenne des élevages vaccinés au cours de ces trois programmes est de 47% et les 53% qui restent ne respectent pas ce programme, voire même qu'ils ne vaccinent pas du tout.

Ainsi, les titres sériques en anticorps anti-VBI observés sont souvent assez faibles et non protecteurs ; 5 à 15% des élevages montrant des titres protecteurs.

Les coefficients de variation (CV) observés sont très élevés dénotant une grande hétérogénéité des réponses humores à la vaccination.

La réponse vaccinale observée au cours des trois

Tableau IV : Etude de compatibilité : Protocole, observations et scores cliniques lésionnels.

Protocole d'essais	Groupe ^a	Vaccination	Virus du challenge	Animaux avec signes cliniques et score clinique ^b	Mortalité	Animaux avec lésions et score lésionnel ^c	Ré-isolément viral
Essai 1	A	Non	TN20/00	1/10 (score 1) 5/10 (score 3)	5/10	2/10 (score 2) 8/10 (score 3)	+
	B	H120	TN20/00	9/10 (score 1-3)	2/10	1/10 (score 2) 9/10 (score 3)	--
	C	H120	Non	0/10	0/10	2/10 (score 2)	--
	D	Non	Non	0/10	0/10	0/10	--
Essai 2	A	Non	TN335/01	2/10 (score 1) 1/10 (score 3)	1/10	5/10 (score 2) 4/10 (score 3)	+
	B	H120	TN335/01	1/10 (score 1)	1/10	2/10 (score 2) 8/10 (score 3)	--
	C	H120	Non	0/10	0/10	3/10 (score 2)	--
	D	Non	Non	0/10	0/10	0/10	--

a: A : non vacciné-éprouvé ; B : vacciné-éprouvé, C : vacciné-non éprouvé (contrôle vaccination) ; D : non vacciné-non éprouvé (témoin négatif) ;

b: score 1 : abattement, inappétence ; score 2 : toux, jetage, éternuement ; score 3, signes respiratoires sévères, mortalité ;

c: score 1, trachéite séreuse ; score 2 : inflammation des poumons ; score 3 : lésions rénales.

campagnes PN1, PN2 et PN3, est caractérisée par : (i) Une variation importante des taux d'anticorps chez les oiseaux des régions de Kairouan, Bizerte, Nabeul et Mahdia et une évolution progressive de cette réponse en fonction des années, particulièrement dans les régions de Zaghouan, Sousse et Sfax.

(ii) Le niveau global de protection constaté reste très bas avec des taux respectifs de 5% (PN1), 15% (PN2) et 9% (PN3) (Figure 1). (iii) L'âge des poulets présentant des taux d'anticorps anti-VBI positifs est compris entre 19 et 52j. (iv) Certains élevages (n=5) des régions de Nabeul, Sousse, Mahdia et Sfax ont montré des réponses très élevées en anticorps anti VBI, indiquant peut-être des infections par des virus pathogènes (Titres > 10000). Les taux d'une éventuelle infection dans ces élevages se situeraient entre 6 et 13% chez des poulets de 24- 46j d'âge.

Ces résultats indiquent une mauvaise protection conférée par le vaccin utilisé, pouvant être liée à des échecs de vaccination et/ou à la présence éventuelle de virus pathogènes dans ces élevages.

Les échecs de vaccination peuvent être liés à plusieurs facteurs dont : (i) le non respect de la date de vaccination, de la voie et/ou de la dose vaccinale ^{11, 12}; (ii) la mauvaise gestion des vaccins lors du transport, de conservation et/ou de la préparation et de l'administration ; (iii) le choix du vaccin utilisé, en l'occurrence la souche vaccinale H120, qui ne peut être efficace vis-à-vis de tous les virus sauvages en circulation qui peuvent appartenir à un génotype et / ou un sérotype différents.

Cavanagh et al. ¹³ ont montré qu'en général 10% des poulets vaccinés ne présentent pas de réponse protectrice contre une infection par une souche virulente homologue. L'hétérogénéité des réponses est d'autant plus marquée qu'il s'agit de souches virulentes hétérologues, en particulier de virus variants.

Pathogénicité

Les études de pathogénicité des isolats de terrain et l'évaluation de l'efficacité du vaccin H120, montrent que la souche vaccinale H120, administrée seule, ne protège pas de façon adéquate contre certains variants viraux en circulation, d'où les mauvaises performances observées dans certains élevages.

En effet, l'étude du pouvoir pathogène des isolats TN20/00 et TN335/01, reconnus très différents, sur les plans de leur génotype et de leur sérotype, de la souche vaccinale H120, utilisée de façon exclusive

dans nos élevages ¹⁰, confirme le degré de virulence des deux isolats testés en se basant sur les signes cliniques, les lésions macroscopiques et les mortalités constatées ¹⁴.

La comparaison du pouvoir pathogène des deux isolats TN20/00 et TN335/01 indique que le variant TN20/00 semble plus virulent que le variant TN335/01. Les scores cliniques et lésionnels ainsi que les taux de mortalité observés sont nettement supérieurs pour TN20/00 que pour TN335/01.

En effet, à l'autopsie, le virus TN20/00 entraîne, en plus des lésions du tractus respiratoire, des lésions rénales sévères associées à des néphrites aiguës caractérisées par une hypertrophie et une accumulation d'urates au niveau des uretères. Les cas de néphrites sont enregistrés chez 70% des oiseaux infectés.

Par comparaison aux données rapportées par Abdel-Moneim. ¹⁵, Purcell et al. ¹⁶, Albassam et al. ¹⁷ et Lambrechts et al. ¹⁸, l'isolat TN20/00 s'avère avoir un effet néphro-pathogène, associé à son pouvoir pathogène respiratoire.

La présence de pétéchies et/ou de congestion au niveau du larynx, du thymus, des poumons ou du foie, totalement décoloré chez les poulets morts, suite à l'infection expérimentale avec les deux isolats TN20/00 et TN335/01, témoignent de la présence du VBI dans ces organes comme il a été décrit par Cumming ¹⁹ et Abdel-Moneim ²⁰.

Evaluation de l'efficacité du vaccin H120

L'évaluation de l'efficacité du protocole vaccinal utilisant la souche H120, suivi d'une épreuve virulente, se base sur les observations cliniques et lésionnelles, la sérologie et les résultats virologiques de ré-isolément du virus.

Sur le plan pratique, l'absence de signes cliniques de bronchite chez au moins 80% des oiseaux éprouvés et l'impossibilité de ré-isoler le virus à partir de la trachée, du rein ou de l'oviducte 4 à 5 jours après infection, indiquent une protection vaccinale efficace contre une infection avec un virus pathogène ^{21, 22, 23, 24}.

Nos résultats montrent que les scores cliniques sont plus nets au cours de l'épreuve avec l'isolat TN20/00 qu'avec l'isolat TN335/01. Ceci signifie que le groupe éprouvé par le virus TN335/01 est cliniquement protégé contre l'infection, par conséquent, la vaccination à 3 jours d'âge avec le vaccin H120 a permis de réduire l'expression clinique liée au virus TN335/01 mais pas contre l'épreuve avec le virus TN20/00.

Sur le plan lésionnel, les scores sont comparables entre les deux épreuves et sont compris entre 2 et 3 pour tous les oiseaux des deux groupes.

Ainsi, les observations cliniques et lésionnelles indiquent que l'utilisation de la souche vaccinale H120 permet de réduire l'expression clinique de la maladie mais n'empêche pas l'infection par le virus TN335/01. Par contre, le vaccin reste inefficace contre le virus TN20/00, confirmant ainsi la sévérité du pouvoir pathogène de cet isolat.

Sur le plan sérologique, les taux d'anticorps anti-VBI observés à J28, suite à l'infection par l'isolat TN335/01, sont plus élevés en comparaison avec ceux obtenus suite à l'épreuve avec l'isolat TN20/00. Ceci indique le début de la réponse immunitaire secondaire induite par le virus d'épreuve TN335/01, suggérant l'instauration d'une protection croisée entre le virus vaccinal H120 et l'isolat TN335/01.

Cependant et malgré les homologues de séquences du gène S1 entre le vaccin H120 et les isolats TN20/00 et TN335/01 (64% et 63% respectivement)¹⁰, le niveau de protection conférée par le vaccin est loin d'être comparable vis-à-vis des deux isolats. Ceci confirme que la variation de quelques acides aminés joue un rôle déterminant dans la protection croisée entre des souches hétérologues²⁵.

Par ailleurs, les résultats de l'étude de la séroprévalence de la BI en Tunisie, associés à ceux de l'étude de l'efficacité du vaccin H120, démontrent qu'en plus des échecs de vaccination liés à la conduite de l'élevage, le choix de la souche vaccinale contribue énormément à la mauvaise protection du cheptel contre les virus sauvages en circulation. L'éloignement antigénique du sérotype Massachusetts (vaccin H120) par rapport aux isolats tunisiens a eu pour conséquence une protection très insuffisante vis-à-vis des variants identifiés¹⁰.

Ainsi, la réussite d'une vaccination et l'installation d'une protection efficace contre des sérotypes hétérologues doivent toujours tenir compte des relations antigéniques entre les différents virus afin d'anticiper sur le niveau de protection croisée assurée par la vaccination contre les différents sérotypes sévissant simultanément^{26, 27, 28}.

CONCLUSION

La situation épidémiologique de la bronchite infectieuse aviaire, en Tunisie, est très complexe en raison des diversités antigénique et pathogénique des

virus en circulation, de la non adaptation parfois de la souche vaccinale utilisée, des échecs de vaccination, de la négligence manifeste de la vaccination et de l'insuffisance des mesures de biosécurité prises par les éleveurs. Une surveillance régulière des titres d'anticorps sériques chez les oiseaux vaccinés ainsi qu'une amélioration du protocole vaccinal en termes de choix des souches vaccinales antigéniquement proches des virus variants présents dans les élevages, sont nécessaires pour mieux maîtriser cette pathologie grave.

REFERENCES

- 1- **M.W. Jackwood, D.A. Hilt, L. Chang-Won, H.M. Kwon, S.A. Callison, K.M. Moore, H. Moscoso, H. Sellers and S. Thayer** (2005). Data from eleven years of molecular typing infectious bronchitis virus field isolates. *Avian Dis.*, **44**, 614-618.
- 2- **M. Ruano, J. El-Attrache and P. Villegas** (2000). A rapid plate hemagglutination assay for the detection of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **44**, 99-104.
- 3- **T. Hodgson, P. Britton and D. Cavanagh** (2006). Neither the RNA nor the Proteins of Open Reading Frames 3a and 3b of the Coronavirus Infectious Bronchitis Virus Are Essential for Replication. *J. Virol.*, **80**, 296-305.
- 4- **S. Liu, J. Chen, Jg. Chen, X. Kong, Y. Shao, Z. Han, L. Feng, X. Cai, G. Shoulin and M. Liu** (2005). Isolation of avian infectious bronchitis coronavirus from domestic peafowl (*Pavo cristatus*) and teal (*Anas*). *J. Gen. Virol.*, **86**, 719-725.
- 5- **A. Farsang, C. Ros, L. H. M. Renström, C. Baule, T. Soos and S. Belak** (2002). Molecular epizootiology of infectious bronchitis virus in Sweden indicating the involvement of vaccine strain. *Avian Pathol.*, **31**, 229-236.
- 6- **B.F. Kingham, C.L. Keeler, Jr., W.A. Nix, B. S. Ladman and J. Jr. Gelb** (2000). Identification of avian infectious bronchitis virus by direct automated cycle sequencing of the S-1 gene. *Avian Dis.*, **33**, 325-335.
- 7- **D. Cavanagh, M.M. Ellis and J.K.A. Cook** (1997). Relationship between variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection. *Avian Pathol.*, **26**, 63-74.
- 8- **M. Bouzouaia**. Les variants du virus de la bronchite infectieuse aviaire en Tunisie: inci-

- dence et typage. Thèse Doctorat Microbiologie (1986), ENMV Alfort.
- 9- **M. Gannoun.** Séroprévalence de la maladie de bronchite infectieuse aviaire dans la région du sud de la Tunisie. Thèse Vétérinaire (1996), ENMV Sidi Thabet.
 - 10- **H. Bourogaa, K. Miled, L. Gribaa, I. El Behi and A. Ghram** (2009). Characterization of new variants of infectious bronchitis virus, in Tunisia. *Avian Dis.*, **53**, 426-433.
 - 11- **S. Liu, J. Chen, Z. Han, Q. Zhang, Y. Shao, X. Kong and G. Tong** (2006). Infectious bronchitis virus: S1 gene characteristics of vaccines used in China and efficacy of vaccination against heterologous strains from China. *Avian Pathol.*, **35**, 394-399.
 - 12- **G. Bijlenga, J. K. A. Cook, J. Gelb Jr. and J. J. De Wit** (2004). Development and use of H strain of avian infectious bronchitis virus from the Netherlands as a vaccine: a review. *Avian pathol.*, **83**, 550-557.
 - 13- **D. Cavanagh** (2007). Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet. Res.*, **38**, 281-297.
 - 14- **J. J. De Wit, M.C.M. De Jong, A. Pijpers and Jh. Verheijden** (1998). Transmission of infectious bronchitis virus within vaccinated and unvaccinated groups of Chickens. *Avian Pathol.*, **27**, 464-471.
 - 15- **A.S Abdel-Moneim, M El-Kady, B.S. Ladman and J. Jr. Gelb** (2006). S1 gene sequence analysis of a nephro-pathogenic strain of avian infectious bronchitis virus in Egypt. *Viol. J.*, **3**, 78-87.
 - 16- **D.A. Purcell, V.L. Tham and P.G. Surman** (1976). The histopathology of infectious bronchitis in fowls infected with nephrotropic T strain of virus. *Aus. Vet. J.*, **52**, 85-91.
 - 17- **M.A. Albassam, R.W. Winterfield and H.L. Thacker** (1986). Comparison of the nephropathogenicity of four strains of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **30**, 468- 476.
 - 18- **C. Lambrechts, M. Pensaert and R. Ducatelle** (1993). Challenge experiments to evaluate cross-protection induced at the trachea and kidney level by vaccine strains and Belgian nephro-pathogenic isolates of avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathol.*, **22**, 577-590.
 - 19- **R.B. Cumming** (1969). The control of avian infectious / nephrosis in Australia. *Aus. Vet. J.*, **45**, 200-203.
 - 20- **A.S. Abdel-Moneim, H. M. Madbouly and M. F. El-Kady** (2005). *In vitro* characterization and pathogenesis of Egypt/Beni-Suef/01; a novel IBV genotype of infectious bronchitis virus. *Beni-Suef Vet. Med. J. Egypt.*, **15**, 127-133.
 - 21- **M.S. Hofstad** (1981). Cross-immunity in chickens using seven isolates of avian infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **25**, 650-654.
 - 22- **J. Jr. Gelb, Y. Weisman, B.S. Ladman and R. Meir** (2005). S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). *Avian Pathol.*, **34**, 194-203.
 - 23- **L. Khuan-YU, W. Hui-Chung and W.Ching-Ho** (2005). Protective effect of vaccination in chicks with local infectious bronchitis viruses against field virus challenge. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **38**, 25-30
 - 24- **S. Liu, X. Zhang, Y. Wang, C. Li, Q. Liu, Z. Han, Q. Zhang, X. Kong and G. Tong** (2009). Evaluation of the protection conferred by commercial vaccines and attenuated heterologous Isolates in China against the CK/CH/ LDL/971 strain of infectious bronchitis coronavirus. *Vet. J.*, **179**, 130-136.
 - 25- **B.S. Ladman, A.B. Loupos and J. Jr. Gelb** (2006). Infectious bronchitis virus S1 gene sequence comparison is a better predictor of challenge of immunity in chickens than serotyping by virus neutralization. *Avian Pathol.*, **35**, 127-133.
 - 26- **D. Cavanagh** (2005). Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathol.*, **34**, 439- 448.
 - 27- **J. Jr. Gelb, J.B. Wolf and C.A. Morran** (1991). Variant serotypes of infectious bronchitis virus isolated from commercial layer and broiler chickens. *Avian Dis.*, **35**, 82- 87.
 - 28- **J. Jr. Gelb, C.L. Keeler, W.A. Nix, J.K. Rosenberger and S.S. Could** (1997). Antigenic and S1 genomic characterization of the Delaware variant serotype of infectious bronchitis virus. *Avian Dis.*, **41**, 661-669.