

**Direction des bibliothèques**

**AVIS**

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

**NOTICE**

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

**Facteurs de risque associés à la prévalence  
d'aérosacculite à l'abattoir chez le poulet de chair**

par

RACHID ANKOUICHE

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

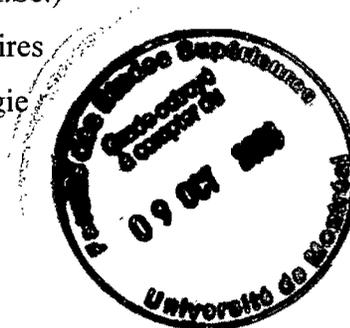
Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade

Maître ès sciences (M.Sc.)

en sciences vétérinaires

option épidémiologie



Avril 2008

© RACHID ANKOUICHE, 2008

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé

Facteurs de risque associés à la prévalence  
d'aérosacculite à l'abattoir chez le poulet de chair

présenté par  
RACHID ANKOUCHE

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Émile Bouchard, président-rapporteur  
Jean-Pierre Vaillancourt, directeur de recherche  
Martine Boulianne, codirectrice  
Laura Batista, membre du jury

## Résumé

Au cours du printemps et été 2004, de nombreux lots de poulets de chair ont présenté à l'abattage, des taux de condamnation élevés pour aérosacculite. Ce projet a été initié pour déterminer les facteurs de risque associés au taux de condamnation pour aérosacculite à l'abattoir et les profils virologiques de troupeaux provenant de fermes à problème d'aérosacculite et de troupeaux témoins. Le projet a débuté en mai 2005 et la collecte d'échantillons a pris fin en février 2006. Il s'agissait d'une étude cas-témoins comprenant 29 paires, soit 29 troupeaux ayant une prévalence élevée d'aérosacculite à l'abattoir, et auxquels furent appariés 29 troupeaux témoins, ayant une prévalence faible d'aérosacculite. Des échantillons de sang, bourses de Fabricius, amygdales caecales et poumons étaient prélevés sur des carcasses pour chaque poulailler cas et témoin. Les séras ont été testés par ELISA suivi d'un test PCR et une géotypie des virus par *restriction fragment length polymorphism* ou *sequencing analysis* sur les amygdales caecales, poumons et les bourses de Fabricius. Afin de déterminer les facteurs de risque associés au taux élevé d'aérosacculite, un modèle multivarié de régression logistique conditionnelle multiple a été appliqué aux données. Le meilleur modèle comprenait le contrôle des ténébrions (OR=0.040, 95%CI: 0.003, 0.545) et le port de bottes en caoutchouc ou jetables pour chaque poulailler (OR=0.101, 95%CI: 0.010, 0.990). Les résultats de cette étude soulignent aussi le rôle des agents infectieux primaires dans l'étiologie complexe de l'aérosacculite. Les adénovirus étaient les virus les plus répandus, Cependant, la signification des adénovirus n'a pu être démontrée. Le virus de la maladie de Gumboro a été isolé dans 25 sur 29 cases, mais avec une signification marginale ( $p = 0,06$ ). La bronchite infectieuse était la plus fréquemment isolée et associée significativement aux condamnations pour aérosacculite. Le variant Qu\_mv de la bronchite infectieuse semble jouer un rôle prépondérant. Les résultats de cette recherche suggèrent que les taux de condamnation pour aérosacculite à l'abattoir sont liés au manque d'observance de mesures de biosécurité de base dans plusieurs fermes.

**Mots-clés :** adénovirus, aérosacculite, ELISA, épidémiologie, étude cas- témoin pairé, facteur de risque, bronchite infectieuse, maladie de Gumboro, PCR, poulet, prévalence, réovirus.

## Abstract

In the Spring and Summer of 2004, an unusually high prevalence of broiler chicken carcasses condemned for airsacculitis was observed in Québec. A paired case control study was undertaken between May 2005 and February 2006, to identify risk factors as well as strains of infectious agents associated with airsacculitis among broiler chickens. A total of 29 flocks with high airsacculitis prevalence were compared to 29 flocks with low prevalence. For each case and control flocks: blood samples, lung, kidney and caecal tonsils were randomly collected. Serological testing was performed using an enzyme linked immunosorbent assay and isolated viruses were tested by PCR amplification followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) or nucleotide sequencing. The relationship between variables obtained and flock status was assessed by conditional multivariable logistic regression analysis. The final model we obtained in this study demonstrated the importance of two non-infectious risk factors: darkling beetle control (OR=0.040, 95%CI: 0.003, 0.545) and changing boots or plastic overboots between poultry barns (OR=0.101, 95%CI: 0.010, 0.990). Also, this study has shown that the infectious component of the etiologic complex associated with airsacculitis condemnations was represented by Adenoviruses were the most prevalent viruses in both case and control flocks (no significant difference) followed by infectious bursal disease virus (IBDV), detected in 25 of the 29 case flocks. A marginally significant association was found between IBDV and being a case ( $p = 0.061$ ). Infectious bronchitis virus (IBV) was isolated in 23 of the 29 case flocks with high airsacculitis prevalence, and significant association was found between IBV and being a case ( $P=0.0012$ ). The Qu\_mv IBV strain was the most prevalent in case flocks. The lack of biosecurity on several farms could explain the high airsacculitis condemnation rate observed at processing plants.

**Keywords :** adenovirus, airsacculitis, chicken, epidemiology, ELISA; infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus, PCR, paired case control study prevalence, reovirus, risk factor.

## Table des matières

INTRODUCTION .....	1
RECENSION DE LA LITTÉRATURE.....	5
1. Anatomie, physiologie et immunologie du système respiratoire chez le poulet.....	6
1.1. Anatomie du système respiratoire des poulets .....	6
1.1.1. Particularités anatomiques chez les poulets .....	6
1.1.2. Structure principale du système respiratoire des oiseaux .....	7
1.2. Les sacs aériens .....	7
1.3. Structures membranaires des sacs aérien .....	8
1.4. La respiration chez les oiseaux .....	9
2. Problématique de l'infection du système respiratoire.....	11
3. Aérosacculite.....	14
3.1 Lésions macroscopiques.....	14
3.2 Étiologie .....	15
3.3 Effets de l'interactions entre les agents pathogènes respiratoires.....	16
3.4 Effets des agents immunosuppresseurs.....	17
3.5 Réaction post-vaccinale .....	18
3.6 Rôles des facteurs de risque .....	19
3.6.1 La poussière .....	19
3.6.2 Ammoniac.....	20
3.6.3 Température et humidité relative .....	21
3.6.4 Les facteurs de risque reliés à la régie de l'élevage.....	22
ARTICLE 1: RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE PREVALENCE OF AIRSACCULITIS IN BROILERS CHICKEN IN QUEBEC, CANADA.....	25
Abstract .....	26
Introduction.....	27
Materials and methods .....	28
Results .....	31
Discussion .....	32
Bibliographie.....	35
ARTICLE 2: VIRAL INFLUENCE ON THE PREVALENCE OF AIRSACCULITIS IN CHICKEN SLAUGHTER PLANTS IN QUEBEC, CANADA.....	39
Abstract .....	40
Introduction.....	41
Materials and methods .....	42

Results.....	44
Discussion.....	45
Bibliographie.....	48
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	55
CONCLUSION.....	63
BIBLIOGRAPHIE.....	66

## Liste des tableaux

### Article 1

<b>Table 1:</b> Univariate analysis of categorical risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ....	37
<b>Table 2:</b> Univariate analysis of continuous risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ....	38
<b>Table 3:</b> Final logistic-regression model with risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ....	38

### Article 2

<b>Table 1.</b> Number and percentage of viral isolates obtained during a paired case-control study from case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.....	50
<b>Table 2.</b> Serological results for antibodies against Infectious Bronchitis Virus (IBV) and Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) from case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ELISA test kit (IDEXX Laboratories Incorporation, USA).....	51
<b>Table 3:</b> Detection of Infectious bursal disease (IBD) strains from case (n=27) and control (n=17) flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.....	51
<b>Table 4.</b> Detection of Infectious bronchitis (IB) strains from case (n=23) and control (n=9) flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ....	52

## Liste des Figures

### Recension de la littérature

<b>Figure 1:</b> Anatomie du système respiratoire du poulet. ....	8
<b>Figure 2 :</b> Diagramme des composantes du système respiratoire poumons-sacs-aériens chez les oiseaux.....	10
<b>Figure 3 :</b> Modèle de circulation de l'air lors de la respiration chez les oiseaux; durant l'inspiration.....	11

### Article 2

<b>Figure 1 :</b> Phylogenetic tree showing partial S1 gene inter-relationships between Infectious Bronchitis Virus field isolates from Quebec, selected reference strains for Massachusetts, Arkansas, Connecticut and DE072-92 .....	53
<b>Figure 2:</b> Phylogenetic tree representing evolutionary relationships among strains isolates from Quebec and selected reference based on Infectious Bursal Disease Virus VP2 amino acid sequences.....	54

## Liste des abréviations

AV	Avian adenovirus
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
IBD/IBDV	Infectious bursal disease/infectious bursal disease virus
IB/IBV	Infectious bronchitis/infectious bronchitis virus
LTI	Laryngotrachéite infectieuse
ND/NDV	Newcastle Disease/Newcastle Disease Virus
PCR	Polymerase chain reaction
REO	Reovirus
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RNA	Ribonucleic acid
RT	Reverse transcriptase

*A la mémoire de mon père,  
A ma mère, Qu'elle trouve  
ici le témoignage, de mon affection,  
mon amour et mon admiration.  
A ceux qui me sont chers, mes sœurs,  
mes frères et ma famille.*

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur Jean-Pierre Vaillancourt qui a encadré ce mémoire, mais surtout pour sa confiance et son soutien permanent. Il m'a permis par ses critiques et ses jugements d'améliorer ce travail, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je suis très reconnaissant à Madame Martine Boulianne, qui a porté un regard critique et constructif sur mon travail. En dépit même d'un emploi du temps fort chargé, son encouragement m'a permis de résoudre bon nombre de difficultés.

Mes remerciements vont également à Monsieur Guy Beauchamp pour avoir contribué à la réflexion lors de l'élaboration du protocole de recherche et son aide lors des analyses statistiques, ainsi qu'à Madame Diane Brodeur pour avoir lancé cette étude, et particulièrement pour sa gentillesse qui m'a touché énormément. Mes remerciements à Marie Hélène Lebel pour le bon déroulement de la collecte des données.

Ma reconnaissance va également envers Docteur Émile Bouchard pour avoir accepté de présider ce jury, et Docteure Laura Batista qui a bien voulu faire partie de mon comité scientifique et fait partie de mon jury.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur Carl Gagnon pour sa participation à mon comité scientifique.

J'adresse mes sincères remerciements et toute ma reconnaissance à la Fédération des éleveurs de volailles du Québec, qui a financé ce projet. Et particulièrement à tous les producteurs pour leur accueil et leur précieuse collaboration.

Bien sûr, je ne pourrais oublier de citer l'ensemble des étudiants du groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique pour les discussions constructives que l'on a partagées, particulièrement Julie Arsenault, Sébastien Simard, Étienne Poirier et Lan Tran Thi Quynh.

## **Introduction**

Au cours du printemps et de l'été 2004, plusieurs producteurs et abattoirs avicoles québécois ont constaté une hausse du nombre de carcasses de poulets présentant des lésions d'aérosacculite à l'abattoir. L'aérosacculite est une maladie du système respiratoire des oiseaux caractérisée par la présence d'exsudat fibrino-purulent principalement dans les sacs aériens, et parfois sur le foie et le cœur (3,25). Lorsqu'elle est présente au moment de l'abattage, l'aérosacculite est une préoccupation pour les transformateurs. L'efficacité des établissements peut être grandement affectée. En effet, selon la sévérité des lésions présentes, les carcasses de poulet sont soit condamnées pour aérosacculite si de l'exsudat purulent est présent dans les sacs aériens et sur d'autres organes, soit reconditionnées ou retravaillées si les lésions sont mineures et localisées uniquement aux sacs aériens et que la carcasse est en bon état de chair (9). Mais dans les deux cas, la présence de ces lésions occasionne des interventions coûteuses. Des maladies virales, telles que la bronchite infectieuse et la maladie de Gumboro, sont habituellement à l'origine de ces problèmes respiratoires qui sont souvent compliquées par une infection secondaire à *Escherichia coli* (3,15,17,41,53). Des conditions environnementales défavorables peuvent également jouer un rôle déterminant sur l'incidence de l'aérosacculite.

Suite aux problèmes notés en 2004, une analyse rétrospective a été réalisée dès la fin de l'été de la même année pour valider que les cas d'aérosacculite rapportés n'étaient pas des cas isolés au niveau de la province. Les données obtenues des principaux abattoirs québécois entre janvier et août 2004 ont été comparées aux données de la même période en 2003. L'analyse a démontré qu'une augmentation significative avait effectivement eu lieu. Le nombre de cas d'aérosacculite était plus élevé chez les mâles que chez les femelles et

était beaucoup plus élevé en mai et juin que durant les quatre premiers mois de l'année. De plus, il semblait y avoir un effet régional puisque les régions principalement affectées étaient la Montérégie, Lanaudière et la Mauricie. (J.P. Vaillancourt et M. Boulianne; communication personnelle)

Divers échantillons ont été soumis par des vétérinaires et par des compagnies pharmaceutiques au laboratoire de virologie du Dr Davor Ojkic, (Animal Health Laboratories, Ontario Ministry of Agriculture and Food). Une compilation des résultats de tests de PCR faits en 2003 et 2004 pour le virus de la bronchite infectieuse révélèrent que les souches isolées étaient de trois types : a) des virus vaccine-like, b) des souches semblables ou apparentées aux variants bronchitès rapportés aux États-Unis et c) les variants QU-MV et Q-16 qui étaient des variants spécifiques au Québec isolés au cours des cinq dernières années (Dr Davor Ojkic; communication personnelle). Les résultats du terrain et les analyses phylogénétiques soulevèrent la question de l'efficacité des vaccins commerciaux actuellement disponibles au Québec pour protéger les poulets contre la bronchite infectieuse. L'étude rétrospective et des rapports provenant de vétérinaires du terrain n'ont pu permettre de quantifier l'efficacité des protocoles de vaccination contre ce virus. Les facteurs de risques associés à cette maladie ou à l'aérosacculite n'ont pu également faire l'objet d'analyses plus poussées.

En septembre 2004, une rencontre eu lieu avec les médecins vétérinaires œuvrant en aviculture dans la province. Ceux-ci ont proposé les facteurs de risque suivants : une température plus fraîche en été 2004, alors que plusieurs bâtiments avicoles étaient demeurés en mode ventilation estivale; la forte densité d'élevage; un court vide sanitaire afin de permettre la production de 7 élevages de poulets par année; et la présence de fermes

multi-âges. Tous ces facteurs, en conjonction avec la présence de virus tels des variants de la bronchite infectieuse, auraient pu expliquer l'augmentation de l'aérosacculite à l'été 2004 (J.P. Vaillancourt et M. Boulianne; communication personnelle).

Afin de mieux cibler les causes de cette condition, le Dr Jean-Pierre Vaillancourt (communication personnelle) a procédé à une étude cas-témoins. Quarante troupeaux affectés par l'aérosacculite (cas) ont été comparés à 40 autres troupeaux n'ayant pas ce problème (témoins). Ces élevages ont été appariés par région et par type d'oiseaux. Les informations relatives à la densité de production, la durée du vide sanitaire, le nombre de bâtiments par site et la proximité d'autres élevages ont pu être recueillies et analysées. Selon cette étude, les cas provenaient de fermes possédant plus de bâtiments sur un même site et avaient d'autres élevages voisins à proximité. Toutefois, une telle étude n'a pas permis de considérer plusieurs autres facteurs environnementaux, de troupeau, et de régie.

Afin de mieux définir les facteurs de risque associés à l'aérosacculite au Québec, la présente étude a donc été réalisée pour identifier les agents infectieux primaires associés à des hauts taux d'aérosacculite à l'abattoir, ainsi que les variables de troupeau et de ferme qui pourraient être associées à ces taux.

## **Recension de la littérature**

# 1. ANATOMIE, PHYSIOLOGIE ET IMMUNOLOGIE DU SYSTÈME RESPIRATOIRE CHEZ LE POULET

## 1.1 ANATOMIE DU SYSTÈME RESPIRATOIRE DES POULETS

### 1.1.1 PARTICULARITÉS ANATOMIQUES CHEZ LES POULETS

Les poulets sont la cible d'agents pathogènes bactériens, viraux et parasitaires qui causent des problèmes de santé importants pour les élevages avicoles, parfois en dépit même d'une vaccination ou d'une antibiothérapie. La voie d'entrée des agents pathogènes se fait essentiellement aux niveaux respiratoire et digestif (57). Chez les oiseaux, la sensibilité aux agents pathogènes respiratoires proviendrait non seulement des caractéristiques structurales de leur appareil respiratoire, mais aussi de leur système immunitaire (57). Plus particulièrement, la pénurie en phagocytes résidant au niveau des muqueuses respiratoires, et la faible vascularisation des sacs aériens rendent les oiseaux très sensibles aux traumatismes causés par ces agents pathogènes (32).

L'appareil respiratoire fait partie des particularités anatomiques des oiseaux. Chez les mammifères, les poumons ont une structure en cul de sac. Le mouvement de l'air est un va et vient grâce à l'action de pompe effectué par les sacs aériens et les muscles de la cage thoracique et de l'abdomen, assurant une variation de volume nécessaire à l'inspiration et à l'expiration. Chez les oiseaux, l'air circule de façon continue et unidirectionnelle (20). L'air passe de la trachée aux sacs aériens caudaux, aux poumons, puis aux sacs aériens antérieurs, pour être finalement exhalé (49). Le diaphragme, qui joue un rôle important chez les mammifères, est absent chez les oiseaux. Les poumons, caractérisés par l'absence d'alvéoles, sont rigides. La ventilation est réalisée par l'action des sacs aériens (44, ces derniers agissant comme « des pompes à air » servant alors autant à la mise en réserve de l'air qu'à sa redistribution lors de la respiration (20).

### 1.1.2 STRUCTURES PRINCIPALES DU SYSTÈME RESPIRATOIRE DES OISEAUX

L'appareil respiratoire des oiseaux est divisé en deux. Les voies respiratoires extrapulmonaires, sont constituées des narines, des fosses nasales, du sinus infra orbitaire, du syrinx, de la trachée. Et en deuxième lieu des bronches primaires extra pulmonaires. Cette partie du système respiratoire conduit l'air vers les poumons, tout en la réchauffant, l'humidifiant et la filtrant (19). Les voies respiratoires intra pulmonaires comprennent les bronches primaires intra pulmonaires, les poumons et les sacs aériens (19).

La trachée se ramifie à l'intérieur de chaque poumon en deux bronches extrapulmonaires primaires qui se prolongent en bronches intrapulmonaires primaires (mésobronche), qui traversent chaque poumon pour aboutir dans le sac aérien abdominal. La mésobronche se divise en trois séries de bronches collatérales dans son trajet pulmonaire (Figure 1). Ce sont les bronches secondaires médioventrales (ventrobronches) et les bronches secondaires médiodorsales (dorsobronches). Ces dernières sont reliées par les parabronches du paléopulmo, et vers l'arrière un réseau de parabronches forme le néopulmo. Finalement, les bronches secondaires latéroventrales (ou latérobronches) se ramifient en forme d'éventail sur les faces latérales et ventrales du poumon. Leurs parois sont criblées de petites pores qui mènent aux capillaires aériens par les bronches respiratoires dont la fonction ressemble à celle des alvéoles pulmonaires des mammifères (19,44,49).

### 1.2 LES SACS AÉRIENS

Les sacs aériens sont des prolongements saculaires extra-pulmonaires à partir des bronches primaires ou secondaires. Ces cavités saculaires adhèrent aux organes thoraco-abdominaux en compartiments, et pénètrent entre les parois du corps, les viscères et dans les interstices musculaires. Ces sacs se présentent sous forme de membranes transparentes, fragiles et faiblement vascularisées (19,32,44).

Chez la plupart des oiseaux, incluant les poulets, les sacs aériens sont au nombre de neuf : un est impair, le sac claviculaire connecté à chaque poumon, et huit sont paires : paire

thoracique crânial, paire thoracique caudale, paire abdominale, paire cervicale (Figures 1 et 2). Chez l'embryon, seulement 6 paires de sacs sont visibles (20,32).

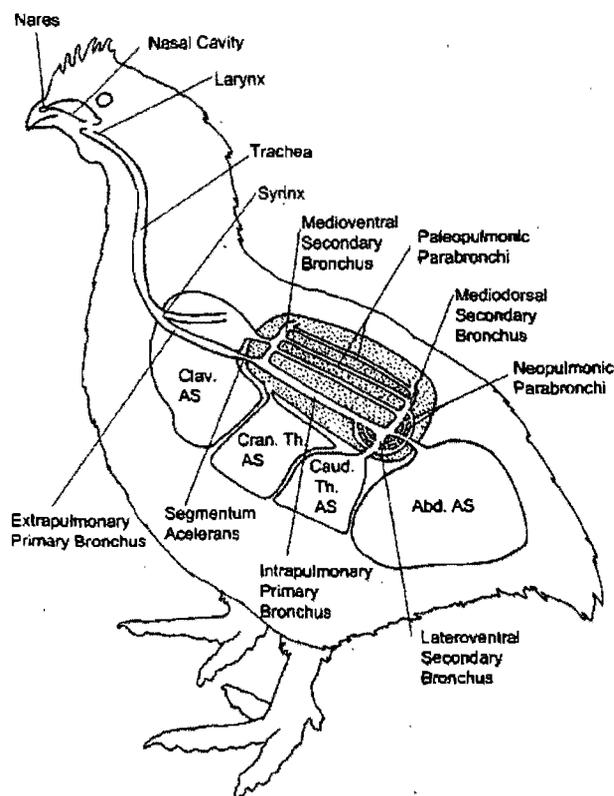


Figure 1: Anatomie du système respiratoire du poulet. Clav. AS = sac aérien claviculaire; cran. th. AS = sac aérien thoracique crânial; caud. th. AS = sac aérien thoracique caudal; Abcl. AS = sac aérien abdominal. Source: Fedde, M. Anatomy and physiology of the avian respiratory system. Symposium: Respiratory Diseases of Chicken and Turkeys. 1994.

### 1.3 STRUCTURES MEMBRANAIRES DES SACS AÉRIENS

La membrane des sacs aériens est constituée essentiellement d'un simple épithélium couvert par une fine couche de tissu conjonctif (32). Bien que l'épithélium soit formé

principalement par des cellules squameuses, près de l'ostia des sacs aériens, on y trouve aussi des groupes de cellules cuboïdales ciliées et quelques cellules ciliées et non ciliées (11).

Bezuidenhout (2005) classe les cellules qui lient le sac aérien thoracique en cinq types : les ciliées et responsables du déplacement des particules étrangères vers l'extérieur des sacs aériens, les muqueuses, les myélinoides, les squameuses et les basales qui remplaceraient les cellules mortes (5).

L'ultra structure de l'épithélium squameux révèle des cellules adjacentes qui se tiennent ensemble par une jonction complexe. Ces cellules contiennent un ribosome libre, des granules de glycogène, des mitochondries, des formes de membrane liée myline-like, des corps électron-dense lysosome-like, des corps multivésiculaires et de large vacuoles (32). La surface de ces cellules est couverte d'une couche de matériel floculant. Le tissu conjonctif qui supporte l'épithélium est peu épais et est spécialement riche en fibres élastiques, ce qui donne une forme d'élasticité au tissu (32). Au microscope optique, Bezuidenhout (2005) a pu observer sur les sacs aériens des éosinophiles, des basophiles, des monocytes et des mastocytes. Au microscope électronique, il a observé des leucocytes, des lymphocytes et des macrophages dans le stroma du tissu conjonctif. En plus d'hétérophiles, il observa du cytoplasme contenant des mitochondries et du réticulum endoplasmique. Les sacs aériens sont peu vascularisés (19). Selon Bezuidenhout (2005), il y aurait une distribution aléatoire des vaisseaux sanguins sur les sacs aériens thoraciques. L'étude au microscope optique des nervures révèle un plexus adrénergique associé aux vaisseaux sanguins, un plexus cholinergique et quelques cellules musculaires (32). On retrouve également un muscle lisse qui est une continuation des couches musculaires autour des bronches, et qui s'étend jusqu'aux parois des sacs aériens (32).

#### 1.4 LA RESPIRATION CHEZ LES OISEAUX

L'élément anatomique remarquable lors de la respiration est le « soufflet respiratoire » constitué par la cage thoracique et les sacs aériens (32). Le volume pulmonaire est constant

contrairement à celui des mammifères. Les variations de volume ne concernent que les sacs aériens qui assurent ainsi la circulation de l'air (Figure 3) (20).

- Inspiration : l'air inspiré par la trachée gagne les poumons puis les sacs aériens par une pression négative. L'air inspiré se divise en deux flux : une partie emprunte les dorsobronches et balaye les parabronches du paléopulmo et atteint les ventrobronches mais n'entrant pas dans les bronches secondaires médioventrales, alors que la plus grande partie de l'air inspiré traverse les parabronches du néopulmo puis passe dans les sacs aériens caudaux. (20).
- Expiration : l'air comprimé par l'expiration est chassé des sacs aériens. L'air est expiré des sacs aériens abdominaux et thoraciques postérieurs, et traverse en sens inverse les parabronches du néopulmo et se divise entre mésobronches puis expiré par la trachée et à travers les dorsobronches arrière en avant des parabronches du paléopulmo. La ventilation du paléopulmo est unidirectionnelle, à l'inspiration comme à l'expiration (20).

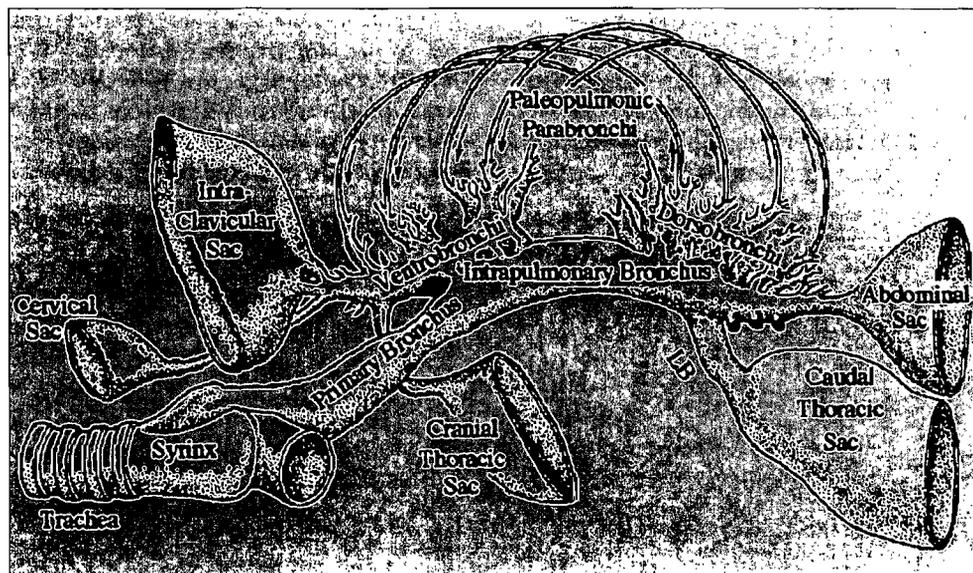


Figure 2 : Diagramme des composantes du système respiratoire poumons-sacs-aériens chez les oiseaux. Source: Brown, R. E., J. D. Brain, and N. Wang. The Avian Respiratory System: A Unique Model for Studies of Respiratory Toxicosis and for Monitoring Air Quality. Environmental Health Perspectives 105:188-200. 1997.

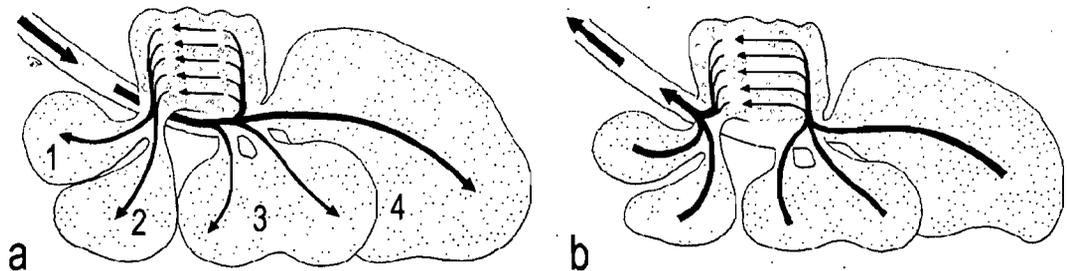


Figure 3 : modèle de circulation de l'air lors de la respiration chez les oiseaux; durant l'inspiration (a) et l'expiration (b). 1 : sac aérien claviculaire; 2 : sac aérien thoracique crânien; 3 : sac aérien thoracique caudal; 4 : sac aérien abdominal (modifié de König H.E., Liebich H.G., Anatomie und Propädeutik des Geflügels, Stuttgart, New York, 2001, p.253).  
Source : Resse, S. The avian lung-associated immune system: a review. Veterinary Research. 311-324. (2006).

## 2- PROBLÉMATIQUE DE L'INFECTION DU SYSTÈME RESPIRATOIRE

Chez les poulets de chair, les maladies respiratoires causées par les agents pathogènes bactériens, viraux et parasitaires constituent souvent des problèmes majeurs pour l'industrie. La voie d'entrée principale des agents pathogènes est le tractus respiratoire, via l'inhalation de particules de poussière contaminées (21). Suite à une infection virale primaire ou à une atteinte physique des muqueuses respiratoires, des bactéries, généralement *E. coli*, colonisent les voies respiratoires intra pulmonaires, à savoir les sacs aériens et les poumons, provoquant des lésions d'aérosacculites (3).

Cette sensibilité des poulets aux agents pathogènes respiratoires proviendrait non seulement des particularités structurales du leur système respiratoire, mais aussi des particularités de

leur système immunitaire (57). En particulier, notons la pénurie en phagocytes résidant au niveau des muqueuses respiratoires (57), et également la fragilité des parois des sacs aériens et leur faible vascularisation qui rendent les oiseaux très sensibles aux traumatismes causés par les agents pathogènes (32).

Les voies respiratoires extra pulmonaires des oiseaux sont protégées par un système de défense bien développé, le système mucociliaire ou l'escalier mucociliaire (21). En effet, les voies respiratoires sont formées d'épithéliums pourvus de cils vibratiles qui se contractent en vagues vers l'extérieur, ce qui entraîne le mucus vers la glotte, puis le tube digestif. Le mucus est constitué essentiellement de glycoprotéines (32), qui retiennent les particules et les microorganismes inhalés, les expulsent par l'éternuement, ou bien les entraînent dans le tube digestif par la déglutition (21).

La fonction physiologique de l'inspiration rend les sacs aériens potentiellement vulnérables aux infections (57). L'air inspiré chargé de poussières incluant bactéries, virus et spores fongiques se rendra d'abord aux sacs aériens caudaux lors de la première inspiration, et c'est fréquemment à ce niveau qu'on peut observer des lésions d'aérosacculite (20). La circulation continue et unidirectionnelle de l'air ne permet pas l'élimination des particules avant que ces dernières atteignent le système respiratoire (57). Ceci explique en partie pourquoi les sacs aériens sont le siège d'infections chroniques difficilement curables et souvent stérile compliquées par la présence d'amas fibrino-purulents difficiles à éliminer.

Les différents mécanismes de défense des sacs aériens sont encore mal connus (11). Cependant, les jonctions poumon-sacs aériens (ostia) sont couvertes par un épithélium cilié contenant des cellules gobelets. Chez la dinde, la distribution des cellules ciliées est prolongée jusqu'aux sacs aériens postérieurs et celles-ci seraient probablement à la base du mécanisme de défense mucociliaire dans les sacs (11).

Lors d'une étude réalisée en 1974, Hayter et Besch (1974) rapportèrent la déposition des particules de poussière dans le système respiratoire des poulets. Les grandes particules (3,7-7  $\mu\text{m}$  de diamètre) étaient retenues dans les cavités nasales et la trachée, et les particules de taille moyenne (1,1  $\mu\text{m}$ ) se retrouvaient dans les poumons et les sacs crâniens,

alors que les particules plus fines (0,091  $\mu\text{m}$ ) passaient à travers les poumons et finissaient dans les sacs aériens abdominaux (39). L'évacuation des particules étrangères peut avoir lieu entre 24 et 48 heures dans les sacs aériens, alors qu'une heure est suffisante dans les poumons (39). La fine paroi des sacs aériens est couverte de cellules épithéliales squameuses et cuboïdales (44). Celles-ci auraient un rôle dans l'activité phagocytaire des particules étrangères (11). Les cellules cuboïdales observées sur la paroi des sacs aériens sont caractérisées par la présence de corps lamellaires contenant du surfactant phospholipide, et sont morphologiquement similaires aux pneumocytes de type II retrouvés dans les poumons et dotés de propriétés phagocytaires (11).

Les hétérophiles, macrophages et lymphocytes seraient impliqués dans la défense antibactérienne des sacs aériens. Une étude de lavages des sacs aériens thoraciques de la dinde, réalisée par Crespo et *al.* (1998), révèle que les hétérophiles sont le type de cellules non-épithéliales le plus prédominant, et qu'elles serviraient comme première ligne de défense en cas d'infection, suivies des macrophages et des lymphocytes. Cependant, le nombre de lymphocytes et de macrophages dans les sacs aériens reste faible (5).

Les hétérophiles ont un grand pouvoir phagocytaire et sont dotés d'un vaste spectre d'activités bactéricides. La bêta-defensine trouvée dans les granules des hétérophiles dans la trachée et dans les sacs aériens des poulets et des dindes jouerait un rôle important lors de la neutralisation des agents pathogènes (27). Les hétérophiles aviaires manquent toutefois de myéloperoxydase, ce qui fait que leur capacité de générer une action phagocytaire par poussé oxydatif est peu importante. Par conséquent, le mécanisme microbicide non oxydatif serait le principal mécanisme bactéricide. Ainsi les peptides cationiques joueraient une action antimicrobienne importante chez le poulet (18). Une étude *in vitro* a démontré que les hétérophiles peptidiques ont une activité fongicide et bactéricide. Par contre aucun effet viricide ne fut observé, en particulier contre le virus de la bronchite infectieuse (18).

L'action phagocytaire des macrophages pulmonaires locaux est particulièrement importante dans les voies respiratoires intra pulmonaires des mammifères, où le système mucociliaire n'est pas opérationnel (21). Par contraste, les macrophages pulmonaires résidents sont peu

nombreux dans le système respiratoire des oiseaux. Toth et Siegel (1998) ont recueilli les macrophages du système respiratoire par lavage à partir des poumons et des sacs aériens de poulets, et ont constaté que ceux-ci étaient en faible nombre (59). Les macrophages suivent rapidement la première ligne de défense constituée par les hétérophiles. Par exemple, en limitant la réplication virale durant la phase précoce de l'infection avant la réponse humorale (anticorps et lymphocytes) (51). Quoique les macrophages soient peu nombreux au niveau des sacs aériens, ils peuvent être considérés comme des acteurs majeurs et à multiples facettes de l'immunité innée. Ce sont des cellules multifonctionnelles qui jouent un rôle clef dans l'orchestration des réponses immunes innées et spécifiques. Outre leur rôle important dans le processus de phagocytose, les macrophages stimulent l'activité antivirale des cellules *Natural killer* et des lymphocytes T via la sécrétion de cytokines et de chémokines, en plus de favoriser la sécrétion de médiateurs à effet microbicide, par la production de monoxyde d'azote (51).

Quoique les sacs aériens soient peu vascularisés, les vaisseaux sanguins sur la surface des sacs aériens pourraient avoir une fonction vitale lors de la première phase d'une infection (32). En effet, une demi-heure après une infection virale, une réponse inflammatoire fut notée, alors que le plasma et des leucocytes quittèrent la circulation sanguine par vasodilatation afin de pénétrer le tissu infecté et de détruire les microbes et autres particules étrangères (11,32).

### 3. AÉROSACCULITE

#### 3.1 LÉSIONS MACROSCOPIQUES

Lors d'une aérosacculite, les sacs aériens perdent leur transparence, s'épaississent et présentent un aspect congestionné (53). D'autres organes sont aussi fréquemment touchés, à savoir le foie (périhépatite), le coeur (péricardite) et également la cavité abdominale (péritonite) (3). Au niveau du coeur, le péricarde prend un aspect opaque et oedémateux rempli d'exsudat fibrineux (3). Quant aux autres organes, tels que le foie et la rate, les

lésions sont surtout localisées en périphérie, et sont caractérisées par de la congestion, un épaissement du tissu et un dépôt de fibrine (3).

### 3.2 ÉTIOLOGIE

L'étiologie est souvent très complexe (59). Parmi les causes, notons les infections à mycoplasmes (*Mycoplasma gallisepticum*) (28), les infections virales à tropisme respiratoire (bronchite infectieuse) ou immunosuppressives (maladie de Gumboro) (60), les réactions post-vaccinales (55) et les agents irritants présents dans l'air (poussière et ammoniac) (13). L'aérosacculite est désignée par l'agence canadienne d'inspection des aliments sous la terminologie de SMRC : Syndrome de maladie respiratoire chronique ou CRD en anglais « Chronic Respiratory Disease ».

Selon Glisson (1998), les principales maladies respiratoires aviaires d'origine bactérienne comprennent la pasteurellose (*Pasteurella multocida*), le coryza infectieux (*Haemophilus paragallinarum*), la colibacillose (*Escherichia coli*), la bordetellose (*Bordetella avium*) et l'infection à *Ornitobacterium rhinotracheale*. De plus, une douzaine de mycoplasmes ont été rapportées par Kleven (1998). Les plus importantes sont *Mycoplasma gallisepticum* et *synoviae* pour les poulets et les dindes, et *Mycoplasma iowae* et *meleagridis* pour les dindes seulement. D'après Villegas (1998), les maladies virales à tropisme respiratoire les plus prévalentes sont la bronchite infectieuse, la maladie de Newcastle, l'influenza aviaire, et la laryngotrachéite infectieuse. Bien que chacun des agents associés à ces maladies puisse causer des problèmes respiratoires, il est rare que seulement un d'eux soit impliqué à la fois dans les élevages industriels intensifs (29). L'action synergique observée lorsqu'au moins deux agents pathogènes sont impliqués peut causer une expression clinique plus sévère (46). Certains *Escherichia coli* relativement non pathogéniques, mais isolés dans des lésions des sacs aériens, contribuent au prolongement du processus inflammatoire après une infection virale (29). En effet, les virus sont particulièrement reconnus comme agents prédisposant aux infections bactériennes (57).

Les *Escherichia coli* sont des résidents naturels du tractus digestif de la volaille, quoique la plupart des souches ne soient pas pathogènes. Certains sérotypes (O1:K1, O2:K1, et O78) sont plus souvent associés à la colibacillose (15). Cette infection bactérienne provoque des lésions d'aérosacculite souvent accompagnées de péricardite, de périhépatite, et de colisepticémie (3,33). Les *E. coli* du tractus digestif sont excrétés dans la litière, et pénètrent les voies respiratoires via l'inhalation de particules de poussières fécales contaminées. Après une multiplication au niveau du tractus respiratoire extra pulmonaire, ils colonisent les voies respiratoires intra pulmonaires et atteignent ainsi les sacs aériens et les poumons.

La bronchite infectieuse (IB), causée par un coronavirus (IBV), est une des maladies respiratoires fortement contagieuse chez le poulet de chair (8). Bien que les signes d'IB puissent être peu sévères, IBV prédispos la volaille à des maladies bactériennes comme la colibacillose (3). De fait, la vaccination des poulets contre IB est largement appliquée afin d'éviter ces complications secondaires (31). Par contre, même s'il y a une certaine protection croisée entre les différents sérotypes de la bronchite infectieuse, l'apparition fréquente de nouveaux sérotypes déjoue parfois l'immunité conférée par les vaccins. Il est donc important de vacciner selon une connaissance des sérotypes présents localement. En raison de sa tendance à changer ses propriétés antigéniques, l'IB est une des maladies virales les plus importantes en production avicole (60). Le changement antigénique se fait par recombinaison inter-sérotypes. Ces changements se produisent fréquemment dans la région "hypervariable" du gène de protéine S1 (spike (S) protein gene) (7). Au Québec, suite à une épidémie de bronchite infectieuse qui atteint alors des élevages de poulets de chair dans la région de Joliette entre 1996 et 1997, deux isolats viraux (Qu16 et Qu-mv) ont été identifiés comme prédominants (52).

### 3.3 EFFETS DE L'INTERACTIONS ENTRE LES AGENTS PATHOGENÈS RESPIRATOIRES

Au niveau mondial, les mycoplasmoses aviaires figurent parmi les maladies infectieuses les plus fréquentes dans les troupeaux de production de poulets ou de dindes (28). Ainsi

*Mycoplasma synoviae* (MS) entraîne des pertes économiques en raison de baisses de production d'œufs, de retards de croissance souvent accompagnés de synovites, et de saisies de carcasses pour aérosacculite. Tout comme *Mycoplasma gallisepticum*, cette bactérie agit souvent de concert avec d'autres agents, tel *Escherichia coli*, ce qui est représentatif des changements dans la formule sanguine observés lors d'infection chez d'autres espèces animales. Une infection simple à *M. gallisepticum* ou à *M. synoviae* ne cause fréquemment que peu de signes cliniques (28). Les dindes et les poules pondeuses commerciales démontrent une incidence plus élevée, cependant, en Amérique du nord, les reproducteurs de poulets de chair sont certifiés comme exempts de MG et MS (M. Boulianne, communication personnelle).

La maladie de Newcastle (NDV) et le virus de la bronchite infectieuse (IBV) joueraient un rôle synergique avec *M. gallisepticum*. L'étude de Gross (1989) sur les facteurs affectant le développement des maladies respiratoires complexes a révélé que les poulets étaient plus susceptibles à *E. coli* après 8 jours d'une infection mixte à *M. gallisepticum* et Newcastle. D'autres agents sont aussi connus pour interagir de la même façon. Ainsi, *M. gallisepticum* a été rapporté avec *Haemophilus paragallinarum*, avec le virus de laryngotrachéite, et avec des adénovirus et des réovirus (28). D'après Springer (1974), une infection au virus de la bronchite infectieuse, combinée à *M. synoviae*, augmente l'infiltration des hétérophiles, des lymphoïdes folliculaires, ainsi que la mortalité. Enfin, les concentrations de fibrinogène, de globuline gamma, et de protéines totales du plasma sont significativement plus élevées lors d'infections mixtes entre IBV, *M. synoviae* et *E. coli* (55).

### 3.4 EFFETS DES AGENTS IMMUNOSUPPRESSEURS

Les agents immunosuppresseurs, spécialement la maladie de la bursite infectieuse chez le poulet (maladie de Gumboro) et le virus de l'entérite hémorragique chez la dinde augmentent de façon importante la susceptibilité des oiseaux aux infections respiratoires (29). Une infection au virus de la maladie de Gumboro a un impact défavorable sur la production d'anticorps et sur la résistance de poulets à diverses maladies, dont la maladie

de Newcastle, la bronchite infectieuse, la mycoplasmosse (*M. synoviae*), et l'aspergillose (*Aspergillus flavus*) (29).

La maladie de Gumboro est une maladie virale du poulet due à un Birnavirus de sérotype 2 (44). Le virus se transmet par voie orale et se multiplie dans les organes lymphoïdes du poulet, notamment la bourse de Fabricius, source des lymphocytes B chez l'oiseau. Les lymphocytes B sont les cellules souches à l'origine de l'immunité humorale (45).

Cette maladie se manifeste par une immunosuppression si les oiseaux sont atteints durant les deux premières semaines d'âge. Une forme clinique classique est souvent observée lorsque les oiseaux sont infectés entre 3 et 6 semaines (22,35). L'immunodépression est due à une atteinte sélective de la lignée lymphocytaire B. L'immunodépression accroît ainsi la sensibilité des oiseaux à d'autres agents pathogènes. Une inflammation aiguë est observée dans la bourse de Fabricius dans les 3 jours suivant la multiplication virale (45).

Des poulets SPF (« specific-pathogen free » ou exempt d'agents pathogènes spécifiques) infectés avec le virus de la maladie de Gumboro, *E. coli* et un adénovirus, ont développé des signes et des lésions respiratoires, alors que ceux infectés seulement avec le virus de la maladie de Gumboro et *E. coli* n'ont pas exprimé de signes respiratoires (29).

Selon Hagood (2000), le virus de l'anémie infectieuse du poulet est également un agent immunosuppresseur pouvant résulter en une plus grande incidence de cas de coccidiose, de dermatite, et de maladies respiratoires.

### 3.5 RÉACTION POST-VACCINALE

La maladie respiratoire post-vaccinale la plus commune est la colibacillose (29). C'est la conséquence de l'interaction entre des vaccins à virus vivants atténués de la maladie de Newcastle, de la bronchite infectieuse ou de la laryngotrachéite infectieuse et *E. coli*. (29). L'administration d'un vaccin vivant composé de souches atténuées en contact avec la muqueuse respiratoire peut causer des signes cliniques des voies respiratoires supérieures. Grâce à leur composition antigénique (4) et du fait qu'une multiplication virale a lieu chez

l'hôte, ils peuvent induire une réponse immunitaire similaire à celle causée par une infection naturelle sans toutefois causer des lésions et signes cliniques sévères (4,29).

### 3.6 RÔLES DES FACTEURS DE RISQUE

Il est bien connu que les infections respiratoires sont sensiblement influencées par des facteurs environnementaux, tels la température, la ventilation, l'humidité, le taux d'ammoniac, et la poussière qui interagissent avec les agents infectieux afin de souvent produire des maladies respiratoires plus sévères, particulièrement durant l'hiver (65).

#### 3.6.1 LA POUSSIÈRE

Les fortes densités dans les élevages intensifs modernes génèrent beaucoup de poussière. Elle est composée de particules d'aliments, de fientes, de litières et de fragments de plumes et de peau (26). Gupta et ses collaborateurs (1988) ont étudié la concentration et la taille des particules de poussière dans les poulaillers de poulets. Ils concluent que de 10 à 50 % des particules de poussière seraient plus petites que  $0,8 \mu\text{m}$  alors que la majorité serait autour de  $3,2 \mu\text{m}$ . La taille de ces particules joue sur leur capacité de pénétrer le tractus respiratoire. Alors que les grandes particules ( $3,7-7 \mu\text{m}$  de diamètre) sont attrapées par le système mucociliaire, les particules de taille moyenne ( $1,1 \mu\text{m}$ ) passent dans les poumons et les sacs crâniens alors que les particules plus fines ( $0,091 \mu\text{m}$ ) passent à travers les poumons et peuvent se déposer dans les sacs aériens abdominaux (39). Des taux élevés d'incidence de maladies respiratoires sembleraient être corrélés avec la qualité de l'air dans les bâtiments d'élevage, entre autre selon la teneur en poussière (10).

Oyetunde et al. (1978) indiquent que l'exposition à la poussière et à l'ammoniac créerait des changements macroscopiques et microscopiques variables dans la trachée, les poumons, et les sacs aériens. L'exposition d'oiseaux à *E. coli* en l'absence de poussière et d'ammoniac résulte en peu de changements pathogéniques (34). Les *Escherichia coli* véhiculés par la poussière constitueraient une source importante de contamination en élevage. Il a été démontré que les bâtiments d'élevages pouvaient contenir jusqu'à  $10^5 - 10^6$

*E.coli* par gramme de poussière. Ces bactéries persistaient dans les bâtisses pour de longues périodes, particulièrement sous conditions environnementales sèches (3). Il a aussi été rapporté que la poussière contribue au développement des infections respiratoires chez la dinde. La poussière a augmenté de manière significative la sévérité et l'incidence des lésions d'aérosacculite chez les dindes infectées par de faibles ou fortes doses de *M. meleagridis*. De plus, une corrélation linéaire entre le niveau de poussière et l'aérosacculite a été rapportée chez la dinde. L'incidence d'aérosacculite doublait quand les niveaux de poussières passaient de 0,1 à 0,6-1,0 mg/pi<sup>3</sup> (47). En effet, les microorganismes peuvent s'attacher aux particules inertes, atteignant une concentration de  $4 \times 10^5$  particules viables/0,03 m<sup>3</sup>. Le niveau de bactéries et de champignons sont autour de  $1,5 \times 10^5$  et  $1,0 \times 10^4$  UFC/m<sup>3</sup> respectivement (47). Communément, les bactéries mesurent entre 1 à 2 µm de diamètre, et sont généralement associées aux particules inertes de 10 à 20 µm de diamètre. Dans les poulaillers, 40% des bactéries gram négatif sont retrouvées sur les particules respirables inférieures à 5 µm (47). Le virus de Newcastle a également été détectée sur environ 40% des particules de plus de 3 µm (47).

### 3.6.2 AMMONIAC

L'ammoniac résulte de la dégradation de l'acide urique dans les fientes des volailles sous l'action de nombreux microorganismes uricolytiques, notamment les bactéries et les champignons dont le développement est favorisé par l'excès d'humidité et un pH supérieur à 8. L'ammoniac est un gaz incolore avec une odeur piquante. Il est considéré comme le gaz le plus nocif présent dans les poulaillers en raison de son caractère toxique et irritant. Anderson et coll. (1964) ont démontré qu'une exposition des poulets à 20 ppm pendant 72 heures, ou 50 ppm pendant 48 heures augmentait de manière significative la susceptibilité du tractus respiratoire au virus de la maladie de Newcastle. En outre, des poulets exposés à de fortes concentrations d'ammoniac (100 ppm) durant quatre semaines présentaient une déciliation de l'épithélium de la partie supérieure de la trachée, ce qui réduisait grandement l'efficacité mucociliaire. Au niveau des poumons, l'ammoniac peut stimuler une réponse inflammatoire aiguë, caractérisée par une congestion vasculaire, de l'oedème, et des infiltrations de cellules mononucléaires et d'hétérophiles (1).

La volaille peut commencer à montrer des désordres liés à un seuil d'exposition aussi bas que 20 ppm (13). L'exposition prolongée à l'ammoniac peut causer de l'aérosacculite et une kérato-conjonctivite. L'ammoniac est également incriminé dans la diminution des performances zootechniques, soit une diminution du poids corporel, une réduction de la conversion alimentaire et une baisse de la ponte chez les poules pondeuses (13). Nagaraja et coll. (1983) ont montré dans une étude similaire chez des dindes que l'effet de l'exposition à l'ammoniac se traduit dès la première semaine à 10 ppm par une atteinte du système mucociliaire de la trachée. Ces lésions sont encore beaucoup plus importantes après 7 semaines dans une atmosphère contenant 40 ppm d'ammoniac. Elles témoignent d'une diminution du mécanisme de défense de l'appareil respiratoire, permettant ainsi la pénétration et l'accumulation des agents pathogènes (36).

### 3.6.3 TEMPÉRATURE ET HUMIDITÉ RELATIVE

Il est bien connu que les infections respiratoires les plus sévères se produisent particulièrement durant l'hiver (28). Durant les temps froids de cette saison, la réduction de la ventilation pour conserver la chaleur dans les bâtisses peut augmenter sensiblement les taux d'ammoniac (13). Toutefois, il semblerait que la température n'aurait pas d'effet sur la concentration de particules de poussières (10). Des études démontrent que lorsque l'humidité est relativement basse, *E. coli* peut survivre pour des périodes excédant 32 semaines dans des échantillons de poussière obtenus à des températures allant de -22 °C à 22 °C (10). Yoder et al. (1977) ont étudié l'influence de l'humidité relative et de la température de l'air chez le poulet infecté à *Mycoplasma synoviae* et à la bronchite infectieuse. L'aérosacculite était plus importante à des températures faibles (7-10 °C), sans égard au niveau d'humidité. Toutefois, l'incidence de l'aérosacculite était plus grande à faible humidité (23-26%) qu'à forte humidité (75-90%) quand la température de l'air était tempérée (19-24°C). À température élevée, la tendance était pour une augmentation de l'aérosacculite si l'humidité était aussi élevée. Cependant, l'effet de la température sur le taux d'aérosacculite était plus dominant que celui de l'humidité (65).

#### 3.6.4 LES FACTEURS DE RISQUE RELIÉS À LA RÉGIE DE L'ÉLEVAGE

La biosécurité se définit comme étant les mesures ou plans de santé conçus afin de protéger une population contre les agents infectieux et transmissibles (59). Les agents infectieux sont introduits et transmis dans les élevages avicoles soit par contact direct, notamment par les sécrétions respiratoires et les matières fécales des oiseaux malades, soit de façon indirecte par l'exposition à des matières contaminées. De nombreux objets souillés peuvent alors jouer le rôle de vecteur (ex : bottes, vêtements, équipements, véhicules, eau ou aliments (4).

De nombreux facteurs de risque ont été incriminés dans l'apparition des maladies respiratoires. Une forte densité d'élevage peut favoriser la propagation d'agents pathogènes (17). Les reproducteurs peuvent être source de contamination (55). Une période de vide sanitaire trop courte (inférieure à 15 jours) a également été associée à une augmentation de la prévalence de problèmes respiratoires (56). Les mesures d'hygiène sur les fermes semblent primordiales. Il a été rapporté que le plus grand risque associé à l'influenza aviaire hautement pathogène H5N2 durant les épidémies de 1983 et 1984 en Pennsylvanie, Virginie et au New Jersey auraient été dans les exploitations qui n'avaient pas adopté de bonnes mesures de biosécurité (employés, véhicules et équipements de travail) (56).

Des épidémies sporadiques de laryngotrachéite infectieuse (LTI) dans la région de la péninsule du Delmarva entre 1999 et 2000 ont permis de constater le manque d'observance relatif à plusieurs mesures de biosécurité. Trois fermes sur quatre qui avaient éprouvé des problèmes de LTI ne disposaient pas de façon adéquate des oiseaux morts. Ainsi, les animaux domestiques et/ou sauvages avaient directement accès à ces oiseaux. Le fait de ne pas porter de bottes et de vêtements propre semblait également contribuer à la propagation du virus de la LTI (56).

Les producteurs et le personnel avicole ainsi que le matériel et les équipements constituent des sources potentielles de contamination des élevages, particulièrement lorsqu'ils se déplacent d'une ferme à une autre sans changer leurs vêtements et bottes de travail. En effet, lors d'une épidémie de mycoplasmosse (*Mycoplasma gallisepticum*) en Caroline du

Nord, Vaillancourt *et al.* (2000) ont établi un lien direct entre plusieurs fermes où la maladie a été confirmée. Par exemple, dans un cas, un producteur en a aidé un autre à nettoyer sa ferme suite à la confirmation de la maladie, pour ensuite aller voir ses oiseaux sans prendre la peine de changer de vêtements ni de bottes. Selon la même étude, on a trouvé une différence significative entre les fermes qui ont exigé le port de salopettes pour visiteurs (7%) et les fermes qui n'ont pas exigé cette protection (38%). Pareillement, le quart des éleveurs dont les élevages étaient infectés à la mycoplasmosse n'exigeait pas le port de bottes propres (ou spécifiques d'élevage) contrairement à tous les éleveurs de troupeaux qui sont restés indemnes de la maladie.

Les rongeurs ainsi que les insectes peuvent servir de réservoir potentiel de plusieurs agents pathogènes. Le ténébrion (*A. diaperinus*) est un réservoir et un vecteur potentiel de transmission de nombreux microorganismes (virus, bactéries, champignons) responsables de maladies, entre autres les maladies de Gumboro, de Newcastle, et de Marek (58, 63, 65).

Les animaux domestiques, chiens ou chats, peuvent constituer un réservoir et servir de porteurs mécaniques d'agents infectieux. Quand ces animaux ne sont pas confinés et errent continuellement dans les élevages, ceux-ci peuvent constituer un risque de transmission d'agents pathogènes. Dans une étude rétrospective, Tablante *et al.* (2002) montrent que la présence des oiseaux sauvages dans les poulaillers ( $p=0.063$ ) serait un facteur de risque associé à la laryngotrachéite infectieuse. Selon la même étude, la fréquence du nettoyage des lignes d'eau de boisson des poulets constitue un autre facteur de risque de la maladie. En effet, ceux qui désinfectaient les lignes d'eau de boisson à une fréquence moyenne d'environ neuf jours, sembleraient éprouver une meilleure performance des lots et une réduction d'agents pathogènes dans les lignes d'eau (56).

La persistance de certains agents pathogènes dans les élevages avicoles démontre l'importance de l'hygiène et de la désinfection entre chaque lot de poulets. Par exemple, un bon nettoyage suivi d'une désinfection adéquate permet de diminuer la prévalence de microbes comme le virus de la maladie de Gumboro dans les bâtiments d'élevage (57).

La présence d'animaux autre que la volaille sur la ferme représente aussi un facteur de risque. Il a été rapporté que la présence d'animaux tels que vaches, ovins et porcs a été

associée à un risque élevé de contamination des troupeaux de poulets (61). Van De Giessen *et al.* (1998) confirment par un typage d'ADN que la présence d'animaux de ferme (bovin) dans l'environnement des fermes avicoles est associée à un risque élevé de contamination par *Campylobacter* spp.

# **ARTICLE 1**

## **RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE PREVALENCE OF AIRSACCULITIS IN BROILERS CHICKEN IN QUEBEC, CANADA**

(Submitted to Avian Diseases)

# Risk Factors Associated With the Prevalence of Airsacculitis in Broilers. Chicken in Quebec, Canada

Rachid Ankouche<sup>1</sup>, Diane Brodeur<sup>2</sup>, Guy Beauchamp<sup>3</sup>, Martine Boulianne<sup>1</sup>,  
Jean-Pierre Vaillancourt<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>Département de Sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire, Université de  
Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada J2S 4B6

<sup>2</sup>Elanco Animal Health, Poultry Technical Service Associate, Guelph, Ontario

<sup>3</sup>Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de  
Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada J2S 4B6

\* *Corresponding author.* Tel: [information retirée / information withdrawn] FAX: [information retirée /  
e-mail: [information retirée / information withdrawn] (J.P. Vaillancourt)

## Abstract

A paired case-control study was conducted between May 2005 and February 2006 to identify environmental and management risk factors as well as strains of infectious agents associated with airsacculitis among broiler chickens in the province of Quebec, Canada. Only risk factor results are presented in this publication. Twenty-nine cases and controls flocks were selected and information from industry sources and personal interviews was retrieved for every flock. The relationship between variables obtained and flock status was assessed by conditional multivariable logistic regression analysis. The final model demonstrated the importance of two non-infectious risk factors: darkling beetle control (OR=0.040, 95%CI: 0.003, 0.545) and changing boots or plastic overboots between poultry barns (OR=0.101, 95%CI: 0.010, 0.990). Therefore, the lack of biosecurity on farms partly explained the high airsacculitis condemnation rates observed at processing plants.

**Keywords:** airsacculitis; biosecurity; broilers; microbiology; epidemiology; prevalence; risk factor; paired case control study

**Abbreviations:** ELISA =enzyme-linked immunosorbent assay; IBV = infectious bronchitis virus; IBDV = infectious bursal disease virus; ND = Newcastle disease; PCR = polymerase chain reaction; REO = reovirus

## INTRODUCTION

Airsacculitis or chronic respiratory disease (CRD) at slaughter is characterized by fibrinous pericarditis, perihepatitis and thickening of air sacs in chickens and turkeys (12). This condition is a common cause of carcass condemnation and downgrading at processing in Canadian slaughter plants (5). It is considered primarily a disease of meat birds (17). Birds that develop airsacculitis may present clinical signs such as sneezing, respiratory distress, depression, and loss of appetite (17). The etiology of airsacculitis is highly complex (12,17), and the pathogen most frequently isolated from lesions is *Escherichia coli* (10). However, the primary cause of this condition is often another infectious pathogen. Indeed, respiratory pathogens such as infectious bronchitis virus (IBV), Newcastle (NDV), *Mycoplasma*, or immunosuppressing viruses like Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) are often identified as primary agents. Environmental factors, such as ammonia or dust, may also act as primary agents (3,9,10,15,21). Multiple agents acting synergistically are fast becoming serious impediments to the modern poultry industry (25). Previous investigations of outbreaks of complex respiratory diseases have identified several risk factors: the lack of basic biosecurity measures such as the use of coveralls and boots (26), short down time (23), the presence of wild birds inside poultry houses (24), overcrowding (10,23), insects and pests (4), the hatchery of origin (22), and the distance between poultry farms (27).

In the spring and summer of 2004, an unusually high prevalence of broiler chickens condemned for airsacculitis was observed in Quebec slaughter plants. A statistical analysis of data from participating slaughter plants revealed that airsacculitis condemnation rates were higher in May and June, when compared to the previous year. Three different poultry regions were mostly affected. Males were also at greater risk of developing airsacculitis

than females (M. Boulianne; personal communication). An examination of laboratory results provided by Quebec poultry veterinarians revealed the presence of Infectious Bronchitis and Infectious Bursal disease in several affected flocks (Davor Ojkić, personal communication).

The objective of the present study was to identify environmental and management risk factors as well as strains of infectious agents associated with airsacculitis among broiler chickens at slaughter in Quebec. Because data on infectious agents could not be statistically analyzed in conjunction with non infectious risk factor data, this article focuses on the latter. Results on infectious agents are presented in a separate publication.

## **MATERIALS AND METHODS**

**Study design.** A paired case-control study was conducted between May 2005 and February 2006. The study population was limited to male broiler flocks from three regions in Quebec experiencing a high prevalence of the disease since 2004. Data was obtained by using condemnation records from two federally inspected slaughter plants. A total of 30 flocks with high prevalence of airsacculitis were selected for comparison with 30 other flocks considered to have a low prevalence of the disease at slaughter. The farm of origin for each selected flock was the unit of concern and analysis.

**Definition and selection of cases and controls.** Carcasses were condemned based on criteria established by the Canadian Food Inspection Agency (CFIA). Carcasses were condemned for airsacculitis if extensive lesions were identified, or were reconditioned if the lesions were considered sufficiently minor to be trimmed. The prevalence of airsacculitis was expressed as the number of birds condemned and reconditioned for this condition divided by the total number of birds slaughtered. Flock was defined as a group of broilers placed on a farm and processed together. A case flock was defined as one with a prevalence of airsacculitis exceeding 1.7%. This threshold was chosen because it represented ten times the average provincial condemnation rate for this condition in 2004 (1). Each case was matched with a control flock. A control flock was one judged by abattoir

personnel as having much less than 1.7% condemned for airsacculitis. This assessment was done as the flocks were being processed. In other words, the plant technician could not wait until the final condemnation results were in before making a decision, since blood and tissue samples also had to be collected during slaughtering. The prevalence for a matched control flock had to be at least less than half the prevalence for the case flock previously identified. Hence, the average case/control ratio for airsacculitis prevalence was 130.2, with a range of 2.2 to 2241.7. The final parameter used by the technician in charge to select control flocks was the slaughter line speed. In contrast with case flock, line speed was not slowed down due to airsacculitis condemnments during processing of control flocks. It also had to be selected among flocks processed on the same day as the matching case flock and it had to originate from the same region, based on the postal code.

**Data collection.** Data collected at the abattoir included name and address of the farm for each flock, as well as the identification number of the poultry barn where the birds were raised. This identification number is used by the Quebec poultry producers association (Les Éleveurs de Volailles du Québec) to identify the exact location of each production site. Other flock data included the total number of birds, total condemnments, average bird weight, and number of carcasses condemned for cellulitis, cyanosis, emaciation, and airsacculitis. The grower was then contacted to request his participation. All growers contacted for this study agreed to participate. Their participation included answering a questionnaire during a farm visit conducted on average two weeks after processing of the selected flock.

**Questionnaire.** The questionnaire was developed to collect data on factors that were considered to have a plausible biological association with airsacculitis. Questions were asked about the physical characteristics of the farm and its surrounding environment. Management factors included biosecurity measures such as sanitary practices, people movement control, pest control, and dead bird disposal. Data on vaccination, breed and age of breeder flocks were obtained from the hatchery (the questionnaire, written in French, is available upon request to the corresponding author). The variables included in this questionnaire are defined in Table 1.

**Statistical analyses.** Data gathered from the survey were entered into a spreadsheet (Excel<sup>®</sup>, Microsoft Inc.). Simple descriptive statistics (frequency distribution, mean, median, standard deviation, minimum and maximum) were first obtained for each continuous variable. This was followed by univariate and multivariate analyses. (Statistical Analysis Systems for windows, version 9.0. SAS Institute, Cary, NC. USA. 2005).

**Univariate analysis.** Categorical independent variables with two responses (yes/no) were coded as a binary outcome. The odds ratio was used to screen independent categorical variables. A paired Student t-test was used for continuous and ordinal variables. Only variables with  $P$ -value  $\leq 0.15$  were retained and then introduced into a multivariable logistic model. The variables retained after this initial step are presented in Tables 1 and 2.

**Multicollinearity and interaction.** Correlation between independent variables could increase the risk of multicollinearity. Therefore, continuous variables were compared by Pearson's correlation and a  $\chi^2$ -test was used for categorical variables. Variables showing multicollinearity were grouped to form a single variable, or were excluded from the model. The  $\chi^2$ -test showed a very strong correlation between the presence of domestic animals, washing and disinfection variables. One variable in each group was selected to decrease multicollinearity. For example, a high correlation existed between the following variables: disinfection of walls, disinfection of fans and disinfection of entry room. In this case, we only retained disinfection of the walls. When conditional logistic regression was attempted with infectious disease variables, extremely high values for parameter estimates were obtained, indicating that the sample size was likely too small to obtain valid estimates. Hence, these variables were analyzed separately. As stated in the introduction, results are reported in another article.

**Multivariate analysis.** Conditional logistic regression analyses were done for the variables identified as significant in the univariate analysis. These variables were then entered into the main effects logistic regression model. Variables with  $P$  value  $\leq 0.05$  were retained in the model and considered significantly associated with the outcome.

## RESULTS

Of the 60 flocks initially included in the study, one pair of flocks was excluded because of an error in the case selection process. Consequently, the matching control was also rejected. The total number of flocks was therefore 58 (29 cases with a high prevalence of airsacculitis condemnations and 29 controls with a low prevalence).

**The prevalence of airsacculitis.** The prevalence of airsacculitis condemned carcasses from case flocks ranged from 1.75 to 47.06% with a mean and median of 8.01 and 5.34% respectively. The prevalence in control flocks varied between 0.017 and 2.35% with a mean and median of 0.682 and 0.610% respectively

**Descriptive statistics of flock variables.** Tables 1 and 2 show the descriptive statistics of the categorical and continuous variables that were used to build the risk factor model.

**Multivariate analysis.** The final logistic regression analysis was constructed with ten variables, including six categorical variables (washdown of feeders, disinfection of walls, darkling beetles control, pet access to dead birds, farmer change boots or plastic overboots house to house, restrictions visitors for prior poultry visit) and three continuous variables (frequency of water line sanitation, variable number of other poultry farms owner by the same producer, number of poultry houses in the farm owned by the same owner, frequency of visiting the poultry house technician and exterminator) with a  $P$ -value  $\leq 0.15$  for the univariate analysis.

The variable "darkling beetles control" ( $p= 0.01$ ) and "farmer changes boots or plastic overboots between barns" ( $p= 0.04$ ) were significantly associated with being a case flock. Control farms were 3.5 times more likely to have a control program for darkling beetles than case farms. Changing footwear between poultry houses was also more prevalent on control farms (see Table 3).

## DISCUSSION

The prevalence of airsacculitis condemnations in the province of Quebec in 2004 was 0.17% (1). This is far less than what was observed in this study. However, contrary to other published condemnation data, this current study also included in its numerator carcasses that were trimmed and not completely condemned for airsacculitis. A similar investigation in Ontario from 1991-1997 showed that airsacculitis was responsible for 1.2% condemnations (19). In the mid 90's in Pennsylvania, Davison et al. (2001) observed condemnation rates due to airsacculitis ranging between 0.17% to 20%. These high condemnation rates were associated with infectious bronchitis.

The results of this investigation revealed the importance of two factors associated with airsacculitis: the presence of a darkling beetle control program and changing boots or plastic overboots between barns. In previous studies, several factors have been identified with a reduction in respiratory disease outbreaks, including barn sanitation, basic biosecurity measures and pest control (3,9,10,15,21). In the univariate analysis, pet access to dead birds and washing and disinfection variables were found to be associated with being a case flock. However, in the final regression model, these associations did not hold. This is in contrast with previous studies, where barn sanitation has been identified with a reduction in respiratory disease outbreaks (4). Washing and disinfection have been shown to be essential procedures for the prevention of contamination introduced by multiple sources (18). The relatively low number of farms included in this investigation is an inherent limitation of this study. It may have prevented us from identifying sanitation factors as associated with airsacculitis condemnations. Also, the retrospective nature of this study prevented us from assessing variables such as daily temperature variation, ammonia and dust levels and ventilation characteristics that have also been associated with airsacculitis (19). The large number of variables included in this investigation may have also favored significant associations simply due to chance. However, it is reassuring that the variables retained in the final multivariate model were biologically plausible.

**Darkling beetle control.** Several researchers have implicated this insect in various infectious poultry diseases. Crippen (2006) recently reported that litter beetles have become serious pests for the commercial poultry industry. Darkling beetles, also called litter beetles or black bugs are the adult stage of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (8,11). They live in poultry litter of chicken and turkey barns, where they feed on spilled feed, manure, and dead or moribund birds (2). Because of their mobility, feeding habits, and prey potential, larval and adult darkling beetles have been shown to be mechanical vectors and even carriers of several bacterial, fungal, and viral organisms (7). Watson and al. (1998) reported that *Alphitobius diaperinus* may be involved in the transmission as mechanical vectors of turkey coronavirus and of other agents responsible for Poult Enteritis Mortality Syndrome in turkeys. A similar finding has been documented in a French study (14), where the presence of insects in a poultry barn was associated with an increased risk of flock colonization by *Campylobacter spp.*. Additional studies have shown that this insect can harbor pathogens such as *Aspergillus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Campylobacter*, Newcastle disease virus, avian influenza virus, infectious bursal disease virus, Marek's disease virus, fowl pox and protozoal pathogens (*Eimeria spp.*) (2,7,8,11,20,28). These beetles may serve as an alternative source of food for chicks and poults, increasing the possibility of disease transmission in birds as well as decreasing growth performances (2). According to Barnes et al (2003), larvae and adults darkling beetles were positive for *Escherichia coli* both externally and internally for up to 12 days, and chicks became colonized with *E. coli* after eating them (13). These beetles can contribute to the persistence and transmission of pathogens among birds within a poultry facility by moving into the walls and floors of the barn between flocks. Their infected larvae return to the building after cleaning and disinfection is done (3,16). Stockpiling of beetle infested litter close to barns may also allow the insects to migrate back into the building (16). Manure removal management was investigated in this study and was not found to be significant.

**Changing boots or plastic overboots.** The practice of changing boots or using plastic overboots between barns was an important risk factor in this study. This is in accordance with other studies, where it is believed that infectious agents can be transmitted to poultry flocks by indirect contact such as exposure to virus-contaminated boots. These studies have

shown that basic biosecurity measures such as the use of coveralls and boots are protective factors for horizontal transmission of diseases. This assessment is supported by the work of Vaillancourt *et al.* (2000), who demonstrated a significant difference in the percentage of growers from *Mycoplasma gallisepticum*-positive farms in North Carolina that required boots (7%) versus growers from *Mycoplasma gallisepticum*-negative farms (38%). Investigations of poultry barns and of the on-farm environment has also shown that *Clostridium perfringens* could be routinely detected in wall swabs (53%), dirt outside the entrance (43%) and on workers boots (29%) (6). Keener *et al.* (2004) have reported that horizontal transmission of *Campylobacter* is achieved mainly through contaminated water, litter, insects, rodents, and wild birds and by farm workers via their boots.

In conclusion, the final model in this study demonstrated the importance of two non-infectious protective factors associated with the high prevalence of airsacculitis: darkling beetle control and changing boots or plastic overboots between barns. These factors should be considered by growers facing high airsacculitis condemnation rates. Considering their potential protective role against other infectious disease agents, it is recommended to include them in any basic poultry biosecurity program.

**Acknowledgments:**

The authors would like to thank Dr. Davor Ojkic for analysing the viral isolates and for his excellent suggestions. This work was supported by Les Éleveurs de Volailles du Québec, The Association des abattoirs avicoles du Québec, The Association des couvoiriers du Québec and the Ministère de l'agriculture, des pêches et de l'alimentation du Québec.

## REFERENCES

1. AAC. Bulletin d'information sur les condamnations au Canada, et Tendances du marché de la volaille- Condamnations des poulets : Rapport Annuel 2004. Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC). 2004.
2. Arends, J.J. 1997. External Parasites and Poultry Pests. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp. 785-813. 2003.
3. Barnes, H. J., J.-P. Vaillancourt, and W. B. Gross. Colibacillosis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 631-652. 2003.
4. Bermudez, A.J., and Stewart-Brown B. 2003. Disease prevention and diagnosis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 17-55. 2003.
5. CFIA. directive de l'hygiene des viandes. Agence canadienne d'inspection des aliments, ACIA/CFIA. Division des aliments d'origine animale. Programmes sur l'inspection de la volaille. 2005.
6. Craven, S.E., Stern, N.J., Barley, J.S., Cox, N.A.: Incidence of *Clostridium perfringens* in broiler chickens and their environment during production and processing. *Avian Dis.* 45: 887-896. 2001.
7. Crippen, T.L., Sheffield, C.L: External surface disinfection of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Med. Entomol.*, 43:916-923. 2006.
8. Despins, J.L., R.C. Axtell, D.V. Rives, J.S. Guy and M.D. Ficken. Transmission of enteric pathogens of turkeys by darkling beetle larva (*Alphitobius diaperinus*). *J. Appl. Poultry Res.* 3:61-65. 1994.
9. Dho-Moulin M and Fairbrother JM. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.* 30: 299-316. 1999.
10. Droual R, Shivaprasad HL, Meteyer CU, Shapiro DP, Walker RL. Severe mortality in broiler chickens associated with *Mycoplasma synoviae* and *Pasteurella gallinarum*. *Avian Dis.*, 36: 803-807. 1992.
11. Goodwin, M. A., and W. D. Waltman. Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. *J. Appl. Poultry Res.* 5:51-55. 1996.
12. Gross, W. B. 1961. The development of "air sac disease". *Avian Dis.*: 5:431-439. 1961.

13. McAllister J C, Steelman C D, Skeeles J K, Newberry L A, Gbur E E. Reservoir competence of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Escherichia coli* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). *J Med Entomol.*33:983–987. 1996.
14. Newell, D.G. and C, Fearnley. Minireview – sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* , 69(8); 4343-4351. 2003.
15. Peighambari, S. M., Julian, R. J., and Gyles, C. L. Experimental *Escherichia coli* respiratory infection in broilers. *Avian Dis.* 44:759-769. 2000.
16. Poss, P. E. Turkey industry strategies for control of respiratory and enteric diseases. *Poult. Sci.* 77: 1181-1185. 1998.
17. Roland, K., Karaca, K. Sizemore, D. Expression of *Escherichia coli* antigens in *Salmonella typhimurium* as a vaccine to prevent airsacculitis in chickens. *Avian Dis.* 48:595-605, 2004.
18. Rose, N., Beaudeau, F., Drouin, P., Toux, JY., Rose, V., Colin, P. Risk factors for *Salmonella*. persistence after cleansing and disinfection in French broiler-chicken houses. *Prev Vet Med.* 44, 9-20. 2000.
19. Sanei B. Investigation of environmental factors and their effects on turkey health. MSc Thesis, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. P 18-125. 2000.
20. Skov, M. N., A. G. Spencer, B. Hald, L. Petersen, B. Nauerby, B. Carstensen, and M. Madsen. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Dis.* 48:9–18. 2004.
21. Springer WT, Luskus C, Pourciau SS. Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens. I. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. *Infect Immun.*10:578–589. 1974.
22. Stebbins, M. E., H. A. Berkoff, and W. T. Corbet. Epidemiological studies of congo red *Escherichia coli* in broiler chickens. *Can. J. Vet. Res.* 56(3): 220–225. 1992.
23. Tablante, N.L., Brunet, P.Y., Odor, E.M., Salem, M., Harter-Dennis, J.M., and Hueston, W.D. Risk factors associated with early respiratory disease complex in broiler chickens. *Avian Dis.* 43(3): 424-428. 1999.
24. Tablante, N.L., M.S. Myint, Y.J. Johnson, K. Rhodes, M. Colby and G. Hohenhaus. A survey of biosecurity practices as risk factors affecting broiler performance on the Delmarva Peninsula. *Avian Dis.*, 46: 730-734. 2002
25. Toth, T.E. Nonspecific cellular defense of the avian respiratory system: a review. *Dev. Comp. Immunol.* 24(2-3): 121-139. 2000.

26. Vaillancourt, J.-P., A. Martinez, C. Smith, and D. Ley. The epidemiology of *Mycoplasma gallisepticum* in North Carolina. In: Proc. 35th National Meeting on Poultry Health and Processing, Ocean City, MD: 34–36. 2000.

27. Vandekerchove D, De Herdt P, Laevens H and Pasmans F. Risk factors associated with colibacillosis outbreaks in caged layer flocks. *Avian Pathol.* 33: 337-342. 2004.

28. Watson, D.W., P.E. Kaufman, D.A. Rutz, and C.S. Glenister. Impact of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus* Panzer on the establishment of the predaceous beetle, *Carcinops pumilio* Erichson for *Musca domestica* control in caged-layer poultry houses. *Biological Control* 20: 8-15. 2001.

**Table 1:** Univariate analysis of categorical risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Variables	Description	Control flocks	Case flocks	Odds Ratio	Confidence Interval CI 90%
Washdown of feeders	yes	17	8	0.30	0.12-0.78
	no	12	21		
Washdown of fans	yes	17	10	0.36	0.13-0.95
	no	12	19		
Disinfection of walls	yes	19	11	0.33	0.11-0.99
	no	10	18		
Disinfection of fans	yes	17	11	0.33	0.11-0.99
	no	12	18		
Disinfection of entry room	yes	18	13	0.30	0.10-0.88
	no	11	16		
Darkling beetles control	yes	14	4	0.09	0.01-0.50
	no	15	25		
Pets in the poultry farms	yes	7	17	4.33	1.51- 12.43
	no	22	12		
Pets access area around poultry barns	yes	5	15	6	1.70- 21.07
	no	24	14		
Pet access to dead birds	yes	1	10	9	1.51-50.96
	no	28	19		
Farmer changing boots or plastic overboots between barns	yes	20	14	0.25	0.06-0.91
	no	9	15		
Restrictions visitors for prior poultry visit	yes	8	3	0.16	0.02-0.98
	no	21	26		

**Table 2:** Univariate analysis of continuous risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Risk factors category	Control flocks (n)				Affected flocks (n)				P- value
	Mean	Standard Deviation	Min <sup>1</sup>	Max <sup>1</sup>	Mean	Standard Deviation	Min <sup>1</sup>	Max <sup>1</sup>	
Number of other poultry farms owned by the same producer	0.82	1.19	0	5	1.55	2.42	0	8	0.14
Number of poultry houses in the farm owned by the same producer	1.82	1.19	1	6	2.55	2.42	1	9	0.13
Frequency of water line sanitation (per week)	2.99	3.25	0	7	1.88	3.01	0	7	0.043
Frequency of farm visits during rearing (technician and exterminator)	2.74	1.91	0	7	3.48	2.93	0	11	0.14

<sup>1</sup>Min.: Minimum, Max.: Maximum

**Table 3:** Final logistic-regression model with risk factors associated with the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Variables	P-value	Odds Ratio	95% Odds Ratio Confidence Limits
Darkling beetles control	0.01	0.040	0.003 - 0.545
Farmer changing boots or plastic overboots between barns	0.04	0.101	0.010 - 0.990

**ARTICLE 2**

**VIRAL INFLUENCE ON THE PREVALENCE OF  
AIRSACCULITIS IN CHICKEN SLAUGHTER PLANTS IN  
QUEBEC, CANADA**

(Submitted to Avian Diseases)

## **Viral Influence on the Prevalence of Airsacculitis in Chicken slaughter plants in Quebec, Canada**

**Rachid Ankouche<sup>1</sup>, Diane Brodeur<sup>2</sup>, Guy Beauchamp<sup>3</sup>, Martine Boulianne<sup>1</sup>,  
Jean-Pierre Vaillancourt<sup>1, \*</sup>**

<sup>1</sup> Département de Sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal,  
C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada J2S 4B6

<sup>2</sup> Elanco Animal Healths, Poultry Technical Service Associate

<sup>3</sup> Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de  
Montréal, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada J2S 4B6

\* *Corresponding author.* Tel: [information retirée / information withdrawn] FAX: [information retirée /  
e-mail: [information retirée / information withdrawn] (J.P. Vaillancourt)

### **Abstract**

In the Spring and Summer of 2004, an unusually high prevalence of broiler chicken carcasses condemned for airsacculitis was observed in Québec slaughter plants. A paired case control study was undertaken to identify viral strains associated with the presence of high airsacculitis condemnation rates in broiler chicken flocks. A total of 29 flocks with high airsacculitis prevalence (cases) were compared to 29 flocks with low prevalence (controls). For each case and control flock, blood samples, lungs, kidneys and caecal tonsils were randomly collected from ten carcasses. Serological testing was performed using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and isolated viruses were tested by PCR

amplification followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) or nucleotide sequencing.

Adenoviruses were the most prevalent viruses in both case and control flocks (no significant difference) followed by Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), detected in 25 of the 29 case flocks. A marginal association was found between IBDV and being a case ( $p = 0.061$ ). Infectious Bronchitis Virus (IBV) was isolated in 23 of the 29 case flocks, and a significant association was found between IBV and being a case ( $P=0.0012$ ). The Qu\_mv IBV strain was the most prevalent in case flocks ( $n=20$ ) while Conn-CU510 ( $n=2$ ), Conn. ( $n=2$ ) and CU82792 ( $n=1$ ) were also isolated. The Qu\_mv IBV is a newly reported strain and was the virus most significantly associated with airsacculitis condemnations in broiler chickens. Reoviruses and Newcastle virus were also isolated from some flocks, but there was no difference in the prevalence of these viruses between cases and controls.

Key words: adenovirus, airsacculitis, chicken, ELISA; infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus, PCR; prevalence, reovirus, Newcastle

Abbreviations: Adenovirus = AV; arithmetic mean = AMn; ELISA = enzyme linked immunosorbent assay; infectious bronchitis virus = IBV; infectious bursal diseases virus = IBDV; PCR = polymerase chain reaction; reovirus =REO

## INTRODUCTION

Airsacculitis or chronic respiratory disease (CRD) is a common cause of carcass condemnation and downgrading at processing plants in Canada (1). The etiology of airsacculitis is highly complex (11). Viruses play a role as primary agents of bacterial and mycoplasmal pneumonias and airsacculitis (24). Air sacs are vulnerable to disease because of a lack of resident inflammatory cells, including heterophils and macrophages (6,24), and their epithelium is nearly devoided of a mucociliary escalator system (18). The main primary agents associated with airsacculitis include field and vaccine strains of Infectious Bronchitis Virus (IBV) and Newcastle (ND). *Mycoplasma*, and immunosuppressors such as infectious bursal disease virus (IBDV) have also been identified as primary agents.

Environmental elements, such as ammonia or dust, may also play this role or may exacerbate the actions of the infectious agents listed above (3,8,10,22).

In the Spring and Summer of 2004, an unusually high prevalence of broiler chicken carcasses condemned for airsacculitis was observed in Quebec slaughter plants. An examination of laboratory results provided by Quebec poultry veterinarians revealed the presence of infectious bronchitis virus (IBV) and infectious bursal disease virus (IBDV) in affected flocks. A preliminary assessment of IBV viruses, showed that the strains of bronchitis were of three types: a) vaccine-like, b) wild strains reported in North America and c) Qu\_mv and Q-16 IBV (Davor Ojkic, personal communication), novel strains isolated in Quebec from commercial broiler flocks and reported in 2002 (21). However, the relative importance of these strains, and of other viruses, in the development of airsacculitis lesions at slaughter in Quebec was not known. Therefore, this study was undertaken to identify viral strains associated with the presence of high airsacculitis condemnations in broiler flocks in this province.

## **MATERIALS AND METHODS**

**Study Design and Collection of Samples at the Slaughter Plant.** A paired case-control study was conducted from May 2005 to February 2006. The study population was limited to male broiler chicken flocks from three affected regions. Thirty flocks with high airsacculitis prevalence were compared to 30 flocks with low prevalence. The flock was the unit of concern and analysis. Carcasses condemned for airsacculitis based on criteria established by the Canadian Food Inspection Agency (5) and carcasses reconditioned for minor airsacculitis lesions were included in the study. The prevalence was expressed as the number of carcasses condemned and reconditioned divided by the total number of broilers sent to slaughter. Flock was defined as a group of broilers placed on a farm and processed together. Flocks with high airsacculitis prevalence at slaughter were considered cases. The threshold was set at 1.7% (2). Each case was matched with a low prevalence airsacculitis flock slaughtered on the same day and coming from the same region as the case. Further

details about the selection process are available in another publication on non-infectious risk factors also assessed as part of this study (2).

**Data collection.** Data collected from the slaughter plants included, for each flock, name and address of the grower, total number of birds in the flock, and condemnation data including number of carcasses condemned and reconditioned for airsacculitis. A questionnaire regarding vaccination, management and biosecurity measures was filled out during a visit to the farms, and is the object of a separate publication.

**Serological identification and Collection of Samples at the Slaughter Plant.** Blood samples from ten (10) birds from case and control flocks were randomly collected during bleeding at the plant. Sera were tested using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies against IBV and IBDV. Testing was done at the laboratory of the National Animal Health Institute in St-Hyacinthe, Quebec. The ELISA tests were performed on the sera by using a commercially available kit according to the guidelines of the manufacturer (IDEXX Laboratories Incorporation, One IDEXX Drive, Westbrook, Maine, 04092, USA). Data for each flock were summarized using the arithmetic and geometric means, the coefficient of variation and the standard deviation.

**Isolation and virus characterization.** For each case and control flock, lungs, kidneys and caecal tonsils were randomly collected from ten (10) carcasses. All samples were identified and stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until processed for isolation of IBV, IBDV, ND, adenovirus (AV) and reovirus (REO). Identification was done by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and characterization was achieved by restriction fragment length polymorphism (RFLP) or nucleotide sequencing. All viral analyses were performed in Dr. Davor Ojkic's laboratory at the Animal Health Laboratories, University of Guelph, Ontario, Canada, as described elsewhere (15,16,17).

**Statistical analysis.** A McNemar test was performed to determine the relationship between viral isolation and the probability of being a case. A paired *t*-test was used to characterize

differences in the arithmetic mean of IBDV and IBV titers between case and control flocks. A value of  $P \leq 0.05$  was considered statistically significant.

## RESULTS

Of the 60 flocks initially included in the study, one case was not properly selected. Since the airsacculitis prevalence for this case was below the pre-established threshold, it was removed from the study as well as the matched control flock. The revised total was 58 sampled flocks (29 cases with high and 29 controls with low prevalence of airsacculitis lesions at slaughter).

Adenoviruses were the most prevalent viruses in both case and control flocks followed by IBDV. Infectious bronchitis virus and IBDV were more likely to be isolated from case flocks than control flocks (see Table 1). The remaining viruses detected from carcasses condemned for airsacculitis included Reovirus in seven cases and nine controls and Newcastle virus in two cases and one control. There was no difference in the prevalence of these viruses between cases and controls.

Serological result indicated a high IBV seroprevalence (28 /29) in case flocks which was significantly associated with being a case ( $P=0.0001$ ) when compared with control flocks (16/29). The mean titer in the IBV case flocks was significantly higher than the titer obtained in control flocks ( $P=0.002$ ). Almost all sera (96.6%) collected from case flocks had elevated antibody titers against this virus. Infectious Bronchitis Virus was isolated in 23 of the 29 case flocks and a highly significant association was found between IBV and being a case ( $P=0.0012$ ). A phylogenetic tree was produced by using the available S1 part of S-protein sequences. This tree showed that the IBV strains isolated in this study were grouped into four clusters (Qu\_mv, Conn-CU510, Conn, and CU82792) (see figure 1). Viral strain identification revealed that an IBV strain first isolated in Quebec, Qu\_mv, was much more prevalent in case and in control flocks, while three other strains could also occasionally be isolated in both groups (see Table 3).

The proportion of case flocks with high antibodies titers against IBDV at slaughter was 86.2 percent (25/29). By contrast, only 58.8 percent (17/29) of the control flocks tested positive against this virus (see Table 2). The difference between these two prevalences was only marginally significant ( $P = 0.061$ ). A phylogenetic tree, based on the IBDV mature structural capsid protein VP2 amino acid sequences, is shown in Figure 2. Viral strain identification revealed that NC171 ( $n=36$ ) was the most prevalent IBDV strain in this investigation. Some Del-E IBD ( $n=5$ ) and 586 IBD strains ( $n=3$ ) were also identified.

## DISCUSSION

This study was carried out to identify viral strains associated with a high prevalence of airsacculitis condemnations in chickens at slaughter. Results indicate that many viruses are present in Quebec broiler flocks. Adenoviruses were the most prevalent in both case and control flocks. However, the significance of adenoviruses could not be determined. A previous study also reported a high prevalence of adenoviruses in western Canada (Manitoba, Saskatchewan, Alberta and British Columbia) (23). Adenovirus are ubiquitous in poultry and have worldwide distribution (7). During this investigation, it was not possible to analyze adenovirus sequences for all samples, due to financial limitations. At the very least, we can state that this virus was not more prevalent in cases than in controls (16).

The serological data on IBV antibodies indicated a high seroprevalence levels for IBV in case flocks. Almost all sera collected from case flocks were positive for antibodies against IBV and produced elevated antibodies titers against this virus. We have confirmed the presence of IBV and characterized the virus by RT-PCR with the Qu-mv strain being the most prevalent in cases. Previous studies have shown that IBV is frequently identified as the primary agent in cases of airsacculitis (22). Infectious bronchitis virus predisposes broilers to severe bacterial infections, commonly *Escherichia coli* infections (3). In an experimental study, chickens inoculated with IBV alone showed increased numbers of *E. coli* in the trachea and had tracheitis, airsacculitis and bronchiolitis (14). The IBV targets

the trachea and other respiratory tissues (4), which increases the susceptibility of birds to *E. coli* by deciliation of the epithelial cells of the upper respiratory tract (8). Moreover, Gough et al. (1992) reported that some of the field isolates of IBV recovered in the United States and United Kingdom in the early 1990s were unusually pathogenic and produced severe facial swelling and airsacculitis in chickens.

The Qu\_mv IBV strain was the virus most significantly associated with such condemnations in this study. This strain was first characterized by Smati et al. in 2002 from commercial broiler flocks tested between 1996 and 1999 and remains the most prevalent IBV strain recovered from samples collected in the province of Quebec (Dr. Ojkic, AHL, OMAFRA, Personal communication). In the field, IBV readily undergoes mutation in chickens resulting in the emergence of new variant serotypes and genotypes. Mutations occur frequently in hypervariable regions of the S1 subunit of the envelope spike (S) glycoprotein gene (9). Diversity in the genome of IBV is generated by insertions, deletions, point mutations, and RNA recombination (13). Comparison of the sequence analyses of the Qu\_mv published by Smati (2002) showed that the genetic background of Qu\_mv IBV isolates is different from all other previously described strains. Therefore, the Qu\_mv, as novel variant of IBV, represents a new phylogenetic cluster and may not be affected by vaccine induced immunity.

This study also highlighted the likely role of IBDV, an immunosuppressive agent (19). The relationship between this virus and airsacculitis was marginal in this study ( $P = 0.061$ ). The role of this virus in airsacculitis may be indirect as a result of its ability to cause immunosuppression in chickens. Immunosuppressed flocks tend to experience an increased incidence of secondary infections, poor feed conversion, and reduced protective response to commonly used vaccines (20). IBDV primarily infects the lymphoid tissue in the bursa of Fabricius, causing a prolonged B lymphocyte immunodeficiency which may increase the overall susceptibility of poultry to other agents (19,20). Several authors have demonstrated the role of IBDV in facilitating or aggravating lesions caused by IBV (12, 25, 26).

This study has shown that the infectious component of the etiologic complex associated with airsacculitis condemnations was mainly represented by the Qu\_mv strain of IBV, a strain that appears to be well established in Quebec. In addition, immunosuppressive infections with IBDV in combination with IBV could affect immune clearance and increased IBV persistence (12). Since, Qu\_mv IBV strain is considered a new phylogenetic cluster (21), available commercial vaccines may not clinically protect flocks.

**Acknowledgments:**

The authors would like to thank Dr. Davor Ojkic for analysing the viral isolates and for his excellent suggestions. This work was supported by Les Éleveurs de Volailles du Québec, The Association des abattoirs avicoles du Québec, The Association des couvoiriers du Québec and the Ministère de l'agriculture, des pêches et de l'alimentation du Québec.

## REFERENCES

1. AAC. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Bulletin d'information sur les condamnations au Canada, et Tendances du marché de la volaille- Condamnations des poulets : Rapport Annuel 2004.
2. Ankouche, R., Brodeur D., Boulianne M., and Vaillancourt J.-P. Risk Factors Associated With the Prevalence of Airsacculitis in Broilers Chicken in Quebec, Canada. Submitted to Avian Diseases. July 2008.
3. Barnes, H. J., J.-P. Vaillancourt, and W. B. Gross. 2003. Colibacillosis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 631-652. 2003.
4. Cavanagh D, Naqi SA. Infectious bronchitis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 101-119. 2003.
5. CFIA. Directive De L'hygiène Des Viandes Agence canadienne d'inspection des aliments, ACIA/CFIA. Division des aliments d'origine animale. Programmes sur l'inspection de la volaille. ([www.inspection.gc.ca/english/anima/meavia/mmopmmhv/direct/2006/pdf/direct2016.pdf](http://www.inspection.gc.ca/english/anima/meavia/mmopmmhv/direct/2006/pdf/direct2016.pdf)). 2006.
6. Crespo R, Yamashiro S, Hunter DB. Development of the thoracic air sacs of turkeys with age and rearing conditions. Avian Dis. 42 (1):35-44. 1998.
7. Davor, O., B. Binnington, and E. Martin. Phylogenetic analysis of fowl adenoviruses isolated from chickens with inclusion body hepatitis in Canada. 77th Northeastern conference on avian diseases. pp19. 2005.
8. Dho-Moulin M and Fairbrother J. M. Avian pathogenic Escherichia coli (APEC). Vet. Res. 30: 299-316. 1999.
9. Gelb Jr, J., Weisman, Y., Ladman, B. S., Meir, R. 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 (3):194-203. 2005.
10. Glisson, J. R. Bacterial respiratory disease of poultry. Poult. Sci. 77:1139-1142. 1998.
11. Gross, W. B. 1961. The development of "air sac disease." Avian Dis. 5:431-439. 1961.
- 12 Gelb, J., Jr. and B. S. Ladman. IBV vaccination. can we keep up with variants? 77th northeastern conference on Avian Diseases. In: Proceedings of the 77th Northeastern Conference on Avian Diseases, June 15-17, Cornell, NY, pp. 4-6. 2005.

13. Lee, C.-W., and M. W. Jackwood. Spike gene analysis of the DE072 strain of infectious bronchitis virus: origin and evolution. *Virus Genes*. 22:85-91. 2001.
14. Nakamura K, Cook JKA, Frazier JA & Narita M. Escherichia coli multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or Escherichia coli. *Avian Dis*. 36: 881-890. 1992.
15. Ojkic, D., J. Swinton and B. Binnington. Phylogenetic analysis of Ontario infectious bronchitis virus isolates. 51st Western Poultry Disease Conference, Puerto Vallarta, Mexico, April 30-May 4. 2002.
16. Ojkic, D., J. Swinton, J.P. Vaillancourt, M. Boulianne and S. Gomis. Genotyping of Canadian isolates of fowl. *Avian Pathol*. 37 (1):95-100. 2008.
17. Ojkic, D., J. Swinton, B. Binnington, E. Martin, and M. Brash. Genotyping of Canadian field strains of infectious bursal disease virus. *Avian Pathol*. 36:427- 433. 2007.
18. Reese, S., G. Dalamani, and B. Kaspers. The avian lung-associated immune system: a review. *Vet. Res*. 37: 311-324. 2006.
19. Saif, Y.M. Infectious bursal disease and hemorrhagic enteritis. *Poul. Sc*. 77:1186-1189, 1998.
20. Sharma JM, Kim IJ, Rautenschlein S, Yeh HY: Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Dev Comp Immunol* 24:223-235. 2000.
21. Smati, R., A. Silim, C. Guertin, M. Henrichon, M. Marandi, M. Arella, and A. Merzouki. Molecular characterization of three new avian infectious bronchitis virus (IBV) strains isolated in Quebec. *Virus Genes*. 25(1): 85-93. 2002.
22. Springer WT, Luskus C, Pourciau SS. Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens. I. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. *Infect Immun*.10: 578-589. 1974.
23. Gomis S, Goodhope AR, Ojkic AD, Wilson P. Inclusion body hepatitis as a primary disease in broilers in Saskatchewan, Canada. *Avian Dis*.50:550-555. 2006.
24. Toth, T.E., Siegel, P. and Veit, H., 1987. Cellular defense of the avian respiratory system. Influx of phagocytes: Elicitation versus Activation. *Avian Dis*. 31:861-867. 1987.
25. Toro, H., V. L. van Santen, L. Li, S.B. Lockaby, E. van Santen, F. J. Hoerr. Epidemiological and Experimental Evidence for Immunodeficiency Affecting Avian Infectious Bronchitis. *Avian Pathol*. 35:1-10. 2006.

26. Winterfield, R. W., F. J. Hoerr, and A. M. Fadly. Vaccination against infectious bronchitis and the immunosuppressive effects of infectious bursal disease. *Poultry Sci.* 57:386-391. 1978.

Table 1. Number and percentage of viral isolates obtained during a paired case-control study from case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Virus	Cases n (%) <sup>a</sup>	Controls n (%)	P-value
Infectious Bronchitis Virus	23 (79.3)	9 (31.0)	0.0012
Infectious Bursal Virus	25 (86.2)	17 (58.6)	0.061
Adenovirus	23 (79.3)	26 (89.6)	0.50
Newcastle Disease Virus	2 (6.9)	1 (3.4)	0.56
Reovirus	7 (24.1)	9 (31.3)	0.78

<sup>a</sup>n = number of viral isolates; % = percentage relative to the number of cases or controls

Table 2. Serological results for antibodies against Infectious Bronchitis Virus (IBV) and Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) from case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006. ELISA test kit (IDEXX Laboratories Incorporation, USA)

	IBV n (%) <sup>a</sup>	P- value	IBDV n (%) <sup>a</sup>	P- value
Cases (n=29)	28 (96.6%)	<i>0.0001</i>	25 (86.2%)	<i>0.061</i>
Controls (n=29)	16 (55.2%)		17 (58.6%)	

<sup>a</sup>n = number of viral isolates; % = percentage relative to the number of cases or controls

Table 3. Detection of Infectious bronchitis (IB) strains from case (n=23) and control (n=9) flocks collected in two Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

	Number and % of isolates for each IBV strain*			
	Qu_mv	Conn-cu510	CU82792	Conn
Cases (n=23)	20 (86.9%)	2 (8.7%)	1 (4.3%)	2 (8.7%)
Controls (n=9)	3 (33.3%)	3 (33.3%)	1 (11.1%)	2 (22.2%)

\* More than one isolate can be found in a flock (23 case flocks and 9 control flocks).

Table 4: Detection of Infectious bursal disease (IBD) strains from case (n=27) and control (n=17) flocks collected in two Québec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

	Number and % of isolates for each IBDV strain*		
	<i>NC171</i>	<i>586</i>	Del-E
Cases (n=27)	21 (77.7%)	2 (7.4%)	3 (11.1%)
Controls (n=17)	15 (88.2%)	1 (5.8%)	2 (7.4%)

\* More than one isolate can be found in a flock (27 case flocks and 17 control flocks).

FIGURE 1: Phylogenetic tree showing partial S1 gene inter-relationships between infectious bronchitis virus field isolates from Quebec, selected reference strains for Massachusetts, Arkansas, Connecticut and DE072-92.

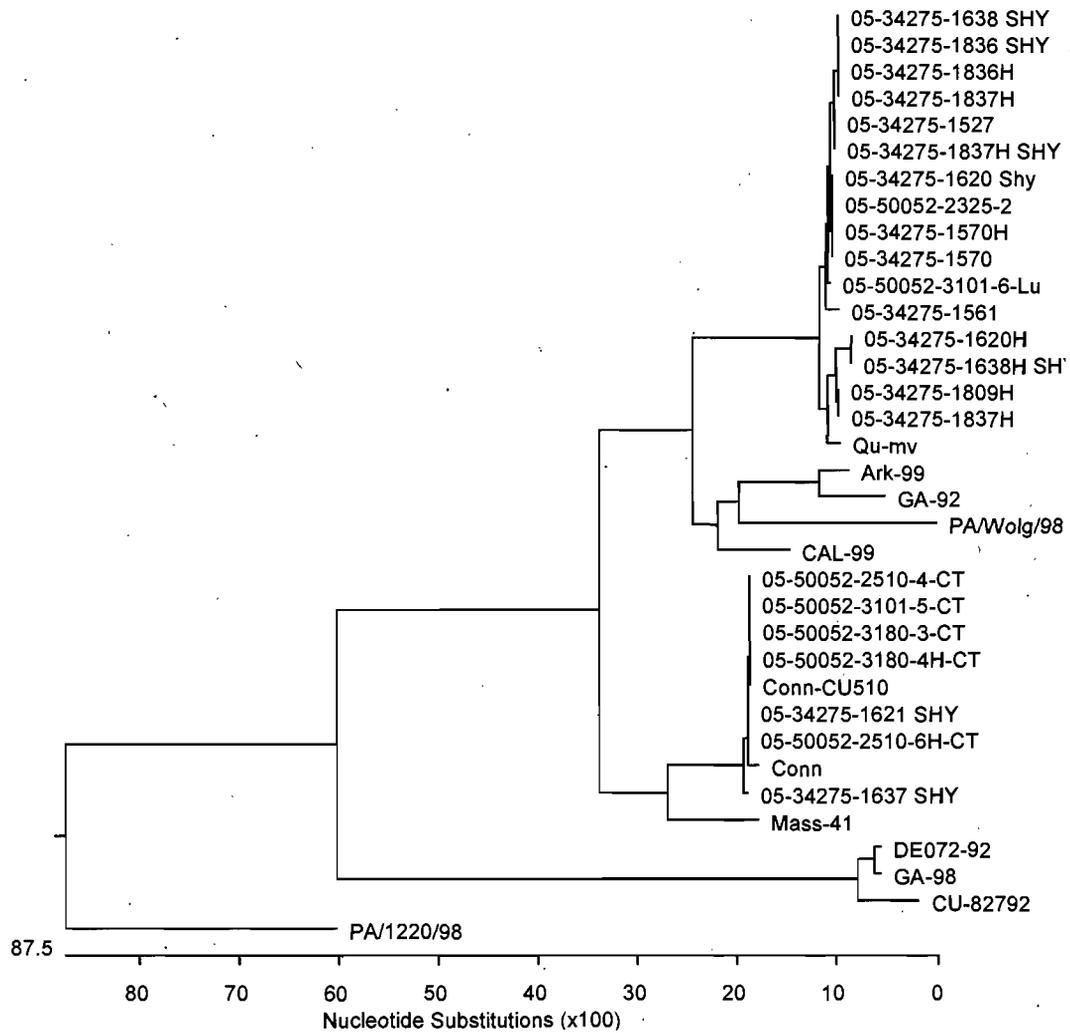
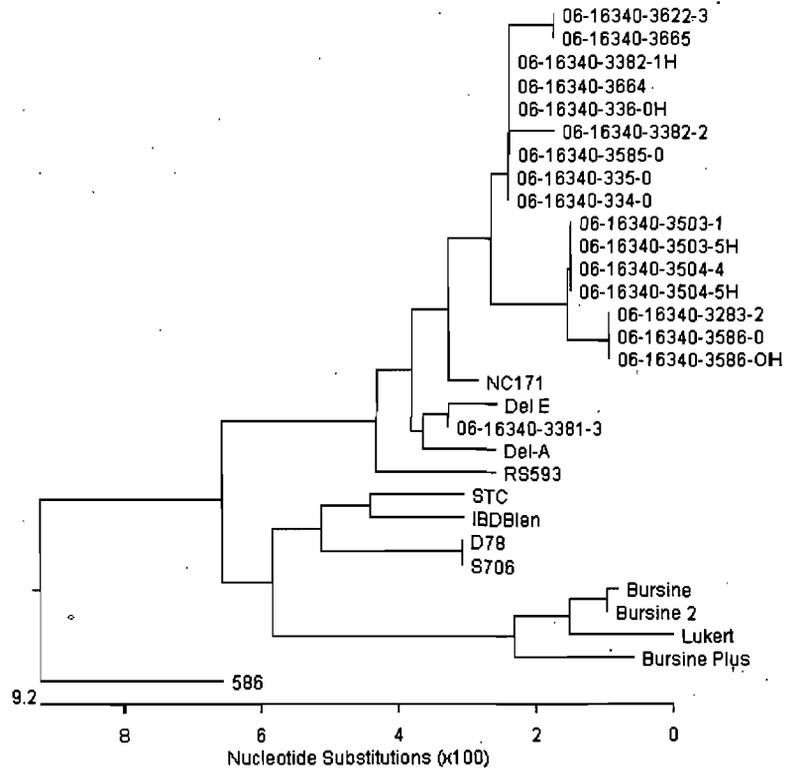


FIGURE 2: Phylogenetic tree representing evolutionary relationships among strains isolates from Quebec and selected reference based on Infectious Bursal Disease Virus VP2 amino acid sequences.



## **DISCUSSION GÉNÉRALE**

L'objectif de cette recherche était de déterminer les facteurs de risque associés au taux de condamnation pour aérosacculite dans les abattoirs de poulets au Québec. Le projet a débuté en Mai 2005 et la collecte d'échantillons a pris fin en février 2006. Il s'agissait d'une étude cas-témoins comprenant 29 pairs, soit 29 troupeaux ayant une prévalence élevée d'aérosacculite à l'abattoir, et auxquels furent appariés 29 troupeaux témoins, c'est-à-dire ayant une prévalence faible d'aérosacculite. La région d'origine des troupeaux et la date d'abattage furent les deux critères d'appariement.

En moyenne, environ 8% des oiseaux des troupeaux cas ont été condamnés ou reconditionnés pour aérosacculite, comparativement à environ 0,7% chez les troupeaux témoins. Ces données sont supérieures à celles observées pour le Canada (8 condamnés par 10 000 poulets abattus; soit 0,08%) et le Québec (17 condamnés par 10 000 poulets abattus; soit 0,17%) en 2004 (6). Cependant, cette différence peut s'expliquer par le nombre d'oiseaux reconditionnés inclus dans la présente étude. Par ailleurs, dans une étude de prévalence en Ontario, les condamnations pour aérosacculite durant les années 1991 à 1997 étaient de 1,2% en moyenne chez les poulets de chair (48). Lors d'une épidémie de bronchite infectieuse en Pennsylvanie au milieu des années 90, Davison et coll. (2001) ont observé des prévalences assez élevées de condamnation pour aérosacculite, variant entre 0,17 et 20%. Dans notre étude, nous avons également des troupeaux présentant des taux de condamnation aussi élevés. D'ailleurs, un taux de condamnation de 40% a été noté. Mais encore une fois, il faut tenir compte du fait que ceci incluait également le taux de carcasses reconditionnées. En général, ce taux est présenté séparément de celui du taux de condamnation de carcasses entières. Mais puisque l'objectif était de différencier les troupeaux atteints d'aérosacculite des autres, il est apparu important de jumeler ces deux taux afin de ne pas exclure des cas où la vaste majorité des carcasses ont pu être reconditionnées, et afin de ne pas inclure de tels troupeaux parmi les témoins.

#### 1- FACTEURS DE RISQUE ASSOCIÉS A LA PRÉVALENCE D'AÉROSACCULITE :

Cette étude a permis d'identifier certains facteurs de risque associés à la forte condamnation pour aérosacculite observée à cette époque dans deux abattoirs du Québec.

Les analyses univariées, qui donnent des pistes exploratoires quant au rôle d'un facteur explicatif sur la maladie, suggèrent l'importance du lavage et de la désinfection. En effet, un lot avait trois fois moins de chance d'avoir une forte condamnation pour aérosacculite quand le système d'alimentation était lavé et 5 fois moins si les murs étaient désinfectés. Fait intéressant, le port de bottes spécifiques au poulailler, qu'elles soient en caoutchouc ou jetables, était significativement associé à une diminution du risque de condamnation pour l'aérosacculite. La présence d'un programme de contrôle des ténébrions semblait aussi avoir un effet protecteur. Des vérifications du niveau de chlore pour l'eau d'abreuvement semblaient aussi associées à une réduction de la prévalence d'aérosacculite. Enfin, la présence d'animaux domestiques ayant accès aux carcasses d'oiseaux morts à la ferme paraissait également être un facteur de risque. Même si tous ces facteurs n'ont pas été retenus lors de l'analyse multivariée, il est intéressant de noter que pour chacune de ces variables, une relation biologiquement plausible avec l'aérosacculite était possible. Par exemple, le lavage et la désinfection permettraient de réduire la pression d'infection, c'est-à-dire la quantité d'agents pathogènes en contact direct avec l'hôte. Une vérification du niveau de chlore dans l'eau peut aussi être interprétée comme évidence d'une régie permettant de réduire la concentration d'agents pathogènes dans l'environnement des oiseaux.

Afin d'évaluer plusieurs facteurs de risque à la fois, nous avons eu recours à la régression logistique conditionnelle multiple avec sélection ascendante des variables. Le type d'étude cas-témoins appariés était nécessaire car une étude prospective aurait exigé le suivi d'un trop grand nombre de troupeaux. Notre meilleur modèle comprenait le contrôle des ténébrions et le port des bottes.

1- Effet du contrôle des ténébrions. Le risque d'avoir de nombreuses condamnations pour aérosacculite est significativement plus élevé pour les fermes ne pratiquant aucun contrôle des ténébrions. Ces résultats sont similaires à ceux d'autres études, où plusieurs chercheurs ont démontré le rôle de cet insecte dans la transmission d'agents pathogènes chez les volailles. Crippen et coll. (2006) rapportent que les ténébrions, particulièrement leurs larves, sont devenus de sérieux parasites dans l'industrie avicole. Ces coléoptères, nommés

*Alphitobius diaperinus*, ou plus communément vers de farine, sont des insectes répandus dans les bâtiments d'élevage de poulets et de dindes (14,58,24,58). Ils résident dans la litière et s'alimentent à partir de la moulée et des organes internes de poussins morts ou moribonds (2,63). En raison de leurs habitudes alimentaires, leur mobilité, et leur comportement prédateur, ces coléoptères constituent des réservoirs, autant comme porteurs que comme vecteurs mécaniques, pour un bon nombre de bactéries, de virus, et de champignons (12,65). Selon Watson et coll. (1998) l'*Alphitobius diaperinus* est impliqué comme vecteur mécanique dans la transmission du coronavirus de la dinde, ainsi que pour d'autres agents responsables du syndrome entéritique mortel du dindonneau. Une étude a également montré que ces insectes sont associés à un plus grand risque de colonisation des troupeaux de poulets de chair par des *campylobactères* (38). Parmi les autres agents pathogènes associés aux ténébrions, notons : *Aspergillus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Streptococcus* et des virus responsables de la maladie de Newcastle, de l'influenza aviaire, de la maladie de Gumboro, de la maladie de Marek, et finalement, des protozoaires (*Eimeria spp.*) (2,12,14,24,52,64). Ces coléoptères serviraient également de source alternative de nourriture pour les poulets de tous âges, augmentant ainsi l'exposition de la volaille aux agents infectieux (2,63). Lors du vide sanitaire, les ténébrions peuvent se mettre à l'abri dans les crevasses des planchers et les murs du bâtiment durant la période du nettoyage et de la désinfection (41,64). Ils peuvent ainsi permettre le maintien d'agents pathogènes entre deux lots d'oiseaux. D'où l'importance d'une gestion adéquate de la vieille litière lorsqu'elle est retirée du site de production. Les facteurs liés à la gestion de la litière souillée ont été analysés dans cette étude et n'ont pas été trouvés significatifs.

2- Effet du port de bottes en caoutchouc ou jetables. Le risque d'avoir de nombreuses condamnations pour aérosacculite était significativement élevé pour les fermes n'exigeant pas de bottes en caoutchouc ou jetables pour chaque poulailler. Ces résultats sont en accord avec d'autres études, en particulier lors d'investigations de troubles respiratoires. Des épidémies sporadiques de laryngotrachéite infectieuse ont été analysées par Tablante (2002) entre 1999 et 2000. Il a conclu que le fait de ne pas porter de bottes et de vêtements propres avait contribué à la propagation du virus. Des données recueillies lors d'épidémies de mycoplasmoses causées par *Mycoplasma gallisepticum* (MG) en Caroline du Nord, ont

démontré un lien direct entre le fait de ne pas exiger le port de couvre-tout et de bottes pour les visiteurs et l'incidence de cette maladie (Vaillancourt *et coll.* (1999). Dans une autre étude, Davies *et coll.* (1997) ont constaté que la contamination des véhicules et des bottes du personnel seraient des risques pour la persistance de salmonelles dans les bâtiments de volaille en Grande-Bretagne.

On peut donc conclure que, malgré les connaissances scientifiques ayant démontré l'importance de mesures de biosécurité de base, celles-ci ne sont souvent pas mis en pratique encore aujourd'hui. Le manque d'observance de ces mesures devrait ainsi faire l'objet d'études plus approfondies. En d'autres mots, il faut chercher à mieux comprendre pourquoi un bon nombre d'éleveurs ne mettent pas en pratique des mesures de biosécurité pourtant reconnues comme étant efficaces.

Plusieurs autres facteurs ont sûrement contribué à l'émergence de l'aérosacculite autant à la ferme qu'à l'abattoir. La revue de la littérature a mis en évidence l'importance des conditions environnementales, en particulier les taux de poussière et d'ammoniac. Malheureusement, la maîtrise du microenvironnement des oiseaux par l'éleveur n'a pu être quantifiée dans le cadre de cette étude. En effet, cette investigation comportait des limites dues à sa nature rétrospective. De ce fait, certains biais inhérents aux études cas-témoins ne peuvent être écartés (choix des témoins, biais de mémoire, biais d'entrevue). La puissance statistique de l'étude est aussi limitée par le nombre de pairs sélectionnés (16). L'aspect saisonnier du problème et la taille relativement petite de l'industrie avicole au Québec font en sorte qu'il aurait fallu beaucoup plus de temps afin d'obtenir un plus grand nombre de pairs. À cela, il faut aussi considérer que le grand nombre de variables incluses dans cette étude augmente sensiblement la probabilité de trouver des associations dues au hasard, tout en augmentant le risque de colinéarité (16).

Plusieurs aspects de cette étude militent cependant en faveur de la validité des résultats statistiquement significatifs. La définition des cas et des témoins a établi un large contraste au sein de chaque pair. Tous les éleveurs contactés pour cette étude ont accepté de participer. L'entrevue avec les éleveurs s'est faite rapidement après l'abattage de leur

troupeau. Finalement, plusieurs variables ont pu être observées directement par les personnes responsables de la collecte des données.

## 2. ANALYSES DES PROFILS SÉROLOGIQUES ET VIROLOGIQUES DE TROUPEAUX AYANT UNE PRÉVALENCE D'AÉROSACCULITE ÉLEVÉE ET DE TROUPEAUX TÉMOINS

Le deuxième volet de cette étude portait sur les résultats des analyses sérologiques et virologiques des troupeaux inclus dans cette étude. Les adénovirus étaient les virus les plus répandus, infectant assez également les troupeaux cas et les troupeaux témoins. Cependant, le rôle des adénovirus par rapport à l'aérosacculite n'a pu être examiné. En effet, il n'a pas été possible de caractériser tous les isolats d'adénovirus compte tenu des limites financières du projet. Une étude précédente avait montré que les adénovirus étaient aussi répandus dans les élevages de poulets de l'Ouest Canadien (Manitoba, Saskatchewan, Alberta et Colombie britannique) (40). Les adénovirus sont en fait omniprésents chez la volaille et leur distribution est mondiale (40).

Cette étude a permis de constater que les réovirus et le virus de la maladie de Newcastle ne semblent pas jouer un rôle déterminant par rapport à l'augmentation de l'aérosacculite dans les troupeaux de poulets au Québec. Ces agents pathogènes ne sont pas à négliger car ils pourraient contribuer à l'apparition de problèmes cliniques. En particulier, les réovirus ont été associés à l'arthrite virale, à la ténosynovite, à l'entérite, et au syndrome de malabsorption. Mais ils sont aussi fréquemment isolés à partir de tissus d'oiseaux sains (43).

Le virus de la bronchite infectieuse (IBV) a été isolé plus fréquemment dans les troupeaux cas que dans les troupeaux témoins. Presque tous les sérums recueillis des troupeaux cas (96,6%) étaient positifs au test ELISA pour la bronchite infectieuse. Par ailleurs, nous avons pu confirmer la présence d'IBV par RT-PCR et les sérotypes ont été caractérisés. L'IBV est considéré dans cette étude comme facteur de risque associé à la probabilité d'être un troupeau ayant une prévalence élevée d'aérosacculite. Des études précédentes ont

rapporté que l'IBV est fréquemment isolé comme agent primaire permettant l'infection des sacs aériens, et contribuant ainsi à l'expression d'infections secondaires (54,34), généralement dues à *E. coli*, une bactérie souvent isolée dans les lésions d'aérosacculite, de périhépatite et de péricardite (3,39). Dans une étude expérimentale, des poulets inoculés uniquement au virus de la bronchite infectieuse avaient un nombre grandissant d'*E. coli* dans la trachée, et ces oiseaux développaient une trachéite, une bronchiolite et une aérosacculite (15,37). D'autres études ont aussi démontré que l'IBV endommage la trachée et d'autres tissus respiratoires (8,15), ce qui augmente la susceptibilité des oiseaux à *E. coli* suite à une déciliation des cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur (15). Gough et coll. (1992) rapportent que certains des isolats de champ d'IBV recueillis aux États-Unis et au Royaume-Uni au début des années 90 étaient exceptionnellement pathogènes, causant de graves lésions d'aérosacculite chez les poulets.

Dans la présente étude, la souche Qu\_mv IBV était la plus fréquemment isolée et associée significativement aux condamnations pour aérosacculite. Cette souche est d'ailleurs celle qui est isolée le plus fréquemment lors de soumissions au laboratoire où s'effectuent les analyses de caractérisation virale (Dr. Ojkic, AHL, OMAFRA, communication personnelle). Ce variant antigénique a été caractérisé par Smati et coll. en 2002, suite à un épisode de bronchite infectieuse qui a atteint des élevages de poulets de chair dans la région de Joliette au Québec entre 1996 et 1997. Lorsque présent dans des troupeaux commerciaux, le virus de la bronchite subit fréquemment des mutations, causant l'apparition de nouveaux sérotypes et génotypes. Ces mutations se produisent dans la région hypervariable de la sous-unité S1 de l'enveloppe Spike (S) du gène glycoprotéine (23). La diversité dans le génome d'IBV est générée par des insertions, suppressions, mutations ponctuelles, et des recombinaisons d'ARN (30). L'arbre phylogénétique basé sur la comparaison des séquences en acides aminés du gène S1 des souches IBV isolées dans notre étude avec des souches IBV isolées en Amérique du Nord et en Europe, révèle la nécessité d'une nouvelle branche phylogénétique pour la souche Qu\_mv. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par Smati (2002) qui a montré la présence, chez la souche Qu\_mv isolée au Québec, de nouveaux sites antigéniques au niveau de la région S1 du génome virale avec, simultanément, des caractéristiques génétiques des souches

Massachusetts (Mass) et Arkansas (Ark). Selon le même auteur, la souche Qu\_mv serait probablement le résultat d'une recombinaison inter-sérotype entre la souche vaccinale (h120) qui appartient au sérotype de Mass et une autre souche vaccinale appartenant au sérotype d'Ark. Par conséquent, l'émergence de Qu\_mv comme nouveau variant d'IBV peut échapper à l'immunité induite par les vaccins conventionnels, et ainsi causer des maladies respiratoires.

Il faut aussi considérer le rôle du virus de la maladie de Gumboro comme agent immunosuppresseur primaire, bien que l'association statistique entre l'isolement du virus et le fait d'être un cas soit marginale ( $p = 0,06$ ). Il a été rapporté en effet que ce virus permet l'expression d'agents secondaires causant des signes cliniques variés, tout en affectant la conversion alimentaire, et en diminuant l'efficacité du programme de vaccination des troupeaux infectés (50). Le virus de la maladie de Gumboro infecte principalement les organes lymphoïdes des oiseaux, en outre la bourse de Fabricius, causant un déficit immunitaire prolongé de lymphocytes B (45). Ces derniers sont les cellules effectrices de l'immunité à médiation humorale et sont les cellules souches des plasmocytes producteurs d'anticorps (45). Winterfield et coll. (1978) rapportent que des poussins exposés à ce virus étaient plus susceptibles à divers virus incluant l'IBV. Dans une étude plus récente, Toro *et coll.* (2006) ont démontré que les signes cliniques et les lésions histologiques de la bronchite infectieuse persistent plus longtemps chez les poulets immunosuppressés, et que cette immunodéficiencia virale jouerait vraisemblablement un rôle important dans l'épidémiologie de cette maladie. Cela pourrait d'ailleurs être le cas au Québec. Malheureusement, le nombre limité de pairs cas-témoins dans notre étude n'a pas permis de vérifier cette possibilité.

## **CONCLUSION**

L'aérosacculite entraîne une augmentation de condamnations et du parage des carcasses de poulets dans les abattoirs. Ainsi, durant le printemps et l'été 2004, les condamnations pour cause d'aérosacculite au Québec étaient nettement supérieures que la normale, ce qui a évidemment entraîné des pertes économique importantes pour l'industrie de la volaille.

Les résultats de cette recherche suggèrent que les taux de condamnation pour aérosacculite à l'abattoir sont liés aux manques d'observance de mesures de biosécurité de base dans plusieurs fermes. En particulier, citons l'absence d'un programme de contrôle des ténébrions et la négligence du port de bottes propres pour chaque élevage. Donc, la mise en place de «barrières sanitaires» telles le port de bottes spécifiques d'élevage, et le lavage, la désinfection, et la désinfestation avant l'entrée des oiseaux dans les bâtiments permettraient d'améliorer ces conditions sanitaires. Étant donné que ces mesures ne sont pas nouvelles et qu'elles ont déjà fait leur preuve en production avicole, il est clair qu'il sera nécessaire d'étudier les facteurs liés au manque d'observance, tout en faisant un effort immédiatement afin de les mettre en application. Cela impliquerait certes un programme de formation pour les éleveurs et leurs employés, ainsi qu'un programme d'audits pour vérifier l'observance de ces mesures.

Les résultats de cette étude soulignent bien également le rôle des agents infectieux primaires dans l'étiologie complexe de l'aérosacculite. Au Québec, le variant Qu\_mv de la bronchite infectieuse semble jouer un rôle prépondérant. Mais il faut aussi considérer le virus de la maladie de Gumboro, agent immunosuppresseur primaire, qui a fréquemment été isolé dans les troupeaux affectés. Dans les deux cas, il faudra porter attention à la stratégie de vaccination. Dans le cas du virus de la maladie de Gumboro, il faut en particulier s'attarder à l'âge au moment de la vaccination. En effet, l'immunité maternelle peut jouer un rôle néfaste lors d'une vaccination trop hâtive, alors qu'une vaccination trop tardive ou mal faite offre également une opportunité à cet agent pathogène. Pour ce qui est de la souche Qu\_mv de la bronchite infectieuse, l'efficacité des vaccins commercialement disponibles à l'heure actuelle est remise en question. Il faudra donc s'attarder à mieux comprendre la pathogénicité de ce variant, à déterminer la valeur des vaccins disponibles et, le cas échéant, à développer un nouveau vaccin afin de mieux contrôler ce virus. Dans l'éventualité que les vaccins disponibles actuellement soient suffisamment efficaces, ou

qu'un autre vaccin reconnu efficace contre le Qu\_mv soit disponible, il serait judicieux que les médecins vétérinaires spécialisés dans le domaine avicole considèrent une approche régionale à leur stratégie de vaccination. En d'autres mots, ils devraient établir un plan de vaccination selon la souche de bronchite infectieuse identifiée au niveau régional.

## Bibliographie

1. Anderson D.P., Beard C.W., Hanson R.P. The adverse effects of ammonia on chickens including resistance to infection with Newcastle disease virus. *Avian Dis.* 8:369-379. 1964.
2. Arends J.J. 1997. External Parasites and Poultry Pests. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 905-930. 2003.
3. Barnes H. J., Vaillancourt J.-P., and Gross W.B. Colibacillosis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 631-652. 2003.
4. Bermudez A.J., and Stewart-Brown B. 2003. Disease prevention and diagnosis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp 17-55. 2003.
5. Bezuidenhout A. J. Light and electron microscopic study of the thoracic respiratory air sacs of the fowl. *Anat. Histo. Embryol.* 34:185-191. 2005.
6. Canada. Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC.). Bulletin d'information sur les condamnations au Canada, et Tendances du marché de la volaille- Condamnations des poulets : Rapport annuel. 2004.
7. Cavanagh D. Biology and Epidemiology of Infectious Bronchitis. Symposium: Respiratory Diseases of Chicken and Turkeys: 15-17. 1994.
8. Cavanagh D., and Naqi S.. Infectious bronchitis. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. p101-119. 2003.
9. CFIA. Directive De L'hygiène Des Viandes. Agence canadienne d'inspection des aliments, ACIA/CFIA. Division des aliments d'origine animale. Programmes sur l'inspection de la volaille ([www.inspection.gc.ca/english/anima/meavia/mmopmmhv/direct/2006/pdf/direct2016.pdf](http://www.inspection.gc.ca/english/anima/meavia/mmopmmhv/direct/2006/pdf/direct2016.pdf)). 2006.
10. Collins M., and Algers B.. Effects of stable dust on farm animals - A review. *Vet. Res. Commun.* 12. 415-428. 1986.

11. Crespo R.; Yamashiro, S., Hunter D. B. Development of the thoracic air sacs of turkeys with age and rearing conditions. *Avian Dis.* 42(1):35-44. 1998.
12. Crippen T. L. and Sheffield, C.L. 2006. External surface disinfection of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Med. Entomol.* 43:916-923. 2006.
13. Davis M. and Morishita T. Y. Relative Ammonia Concentrations, Dust Concentrations, and Presence of Salmonella Species and Escherichia coli Inside and Outside Commercial Layer Facilities. *Avian Dis.* 49:30-35. 2005.
14. Despins J.L., Axtell R.C., Rives D.V., Guy J.S. and Ficken M.D.. Transmission of enteric pathogens of turkeys by darkling beetle larva (*Alphitobius diaperinus*). *J. Appl. Poultry Res.* 3:61-65. 1994.
15. Dho-Moulin M. and Fairbrother J. M. Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.* 30: 299-316. 1999.
16. Dohoo I. R., Ducrot C., Fourichon C., Donald A., and Humik D. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine* 29 22 1-239. 1996.
17. Droual R., Shivaprasad H. L., Meteyer C. U., Shapiro D. P., and Walker R. L.. Severe Mortality in Broiler Chickens Associated with *Mycoplasma synoviae* and *Pasteurella gallinarum* *Avian Diseases* 36:803-807. 1992.
18. Evans E.W., Beach F.G., Moore K.M., Jackwood M.W., Glisson J.R. and Harmon B.G. Antimicrobial activity of chicken and turkey heterophil peptides CHP1, CHP2, THP1, and THP3. *Vet. Microbiology* 47: 295-303. 1995.
19. Fedde M. R. Anatomy and physiology of the avian respiratory system. In: *Symp. Respiratory Diseases of Chickens and Turkeys, American Association of Avian Pathologists.* pp. 1-5. 1994.
20. Fedde M. Relationship of Structure and Function of the Avian Respiratory system to Disease Susceptibility. *Poultry Science.* *Poult. Sci.* 77 (1998) 1130-1138. 1998.
21. Ficken M. D. Avian respiratory defense mechanisms, Injury, and Repair. In: *Symp. Respiratory Diseases of Chickens and Turkeys, American Association of Avian Pathologists.* pp. 6-10. 1994.
22. Fussell L. W. Poultry Industry Strategies for Control of Immunosuppressive Diseases. *Poultry Science* 77:1193-1196. 1998
23. Gelb Jr, J., Weisman, Y., Ladman, B. S., Meir, R. 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 (3):194-203. 2005.

24. Goodwin M. A., and Waltman W. D. Transmission of Eimeria, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. *J. Appl. Poultry Res.* 5:51-55. 1996.
25. Gross W. B. The development of "air sac disease" *Avian Diseases* 5:431-439. 1961.
26. Gupta G. G., Sandhu R., Harter-Dennis J., and Khan A. Concentration and size distribution of airborne particles in a broiler house. *Water, Air, and Soil Pollution.* 38: 325-332. 1988.
27. Harmon B.G. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poult. Sc.* 77, 972-977. 1998.
28. Kleven S. H. Mycoplasmas in the Etiology of Multifactorial Respiratory Disease. *Poultry Science* 77:1146-1149. 1998.
29. Kleven S.H. Emerging diseases and diseases of complex or unknown etiology. "Multicausal respiratory diseases". In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. pp1163-1168. 2003.
30. Lee C.-W., and M. W. Jackwood. Spike gene analysis of the DE072 strain of infectious bronchitis virus: origin and evolution. *Virus Genes.* 22:85-91. 2001.
31. Matthijs M. G. R., Van Eck J. H. H., De Wit J. J., Bouma A., Stegeman J. A.. Effect of IBV-H120 Vaccination in Broilers on Colibacillosis Susceptibility After Infection with a Virulent Massachusetts-Type IBV Strain. *Avian Dis.* 49:540-545. 2005.
32. McLelland J. Anatomy of the lung and air sacs. In: King, A.S. & McLelland, J. (eds.): *Form and Function in Birds*, Vol. 4: 221-279. 1989.
33. Mellata M., Dho-Moulin M., Dozois, Curtiss C.M., Lehoux, B., and Fair-brother, J.M. Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic *Escherichia coli* to serum and in pathogenicity *Infect. Immun.* 71: 536-540. 2003.
34. Miles D.M., Miller W.W., Branton S.L., Maslin W.R., Lott B.D. 2006. Ocular responses of ammonia in broiler chickens. *Avian Dis.*, 50: 45-49. 2006.
35. Müller, M.R. Islam and R. Raue. Research on infectious bursal disease—the past, the present and the future. Review. *Vet. Microbiol.* 97:153-165. 2003.
36. Nagaraja K. V., Emery D. A., Jordan K. A., Newman J. A., and Pomeroy B. S. Scanning electron microscope studies of adverse effects of ammonia on tracheal tissues of turkeys. *Am J Vet Res.* 44:1530-1536.1983.

37. Nakamura K., Cook J. K. A., Frazier J. A., and Narita M. *Escherichia coli* multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or E. coli. *Avian Dis.* 36:881-890. 1992.
38. Newell D.G. and Fearnley C. Sources of campylobacter colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:4343-4351. 2003.
39. Nganpiep L. N. and Maina J. N. Composite cellular defence stratagem in the avian respiratory system: functional morphology of the free (surface) macrophages and specialized pulmonary epithelia. *J. Anat.* 200: 499-516. 2002.
40. Ojkic D., Swinton J., Vaillancourt J.P., Boulianne M., and Gomis S.. Genotyping of Canadian isolates of fowl. *Avian Pathol.* 37 (1):95-100. 2008.
41. Peighambari S. M., Julian R. J., Vaillancourt J. P., and Gyles C. L. 1995. *Escherichia coli* cellulitis: experimental infections in broiler chickens. *Avian Dis.* 44 759 -769. 2000.
42. Poss P. E. 1998. Turkey industry strategies for control of respiratory and enteric diseases. *Poult. Sci. J.* 77: 1181-1185. 1998.
43. Rekić M.R., and Silim A. Les réoviroses. In : Manuel de pathologie. aviaire. Édité par la Chaire de pathologie médical du bétail et. des animaux de basse cour. Brugère-Picoux J., et Silim, A. 1992. Maisons-Alfort, France. pp 145-150. 1992.
44. Reese S., Dalamani G., and Kaspers B.. 2006. The avian lung-associated immune system: a review. *Vet. Res.* 311-324 2006.
45. Saif Y. M. Infectious Bursal Disease and Hemorrhagic Enteritis<sup>1</sup>. *Poultry Science* 77:1186–1189. 1998.
46. Saif Y. M. Multicausal Respiratory Diseases. Emerging Diseases and Diseases of Complex or Unknown Etiology. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. *Diseases of poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. Pp 1163-1168. 2003.
47. Sander J.E.. Environmental respiratory pathogens: Poultry house gases. and dust. In *Respiratory Diseases of Chickens and Turkeys*, San Francisco. P 42-46. 1994.
48. Sanei B. Investigation of environmental factors and their effects on turkey health. MSc Thesis, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. P 18-125. 2000.
49. Scheid P, Piiper J. 1989. Respiratory mechanics and air flow in birds. In: King, A.S. & McLelland, J. (eds.): *Form and Function in Birds*, Vol. 4: 369–388. 1989.

50. Sharma J.M., Kim I.-J., Rautenschlein S., and Yeh H.-Y.. Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression..Dev Comp Immunology. 24: 223-235. 2000.
51. Sharma J. M. The Avian Immune System. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, and D. E. Swayne, eds. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA. Pp 5-16. 2003.
52. Skov M.N., Spencer A.G., Hald B., Petersen L., Nauerb Y B., Carstensen B., MADSEN M. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. Between broiler flocks. Avian Dis. 48, 9-18. 2004.
53. Smati R., Silim A., Guertin C., Henrichon M., Marandi M., Arella M., and Merzouki A.. Molecular characterization of three new avian infectious bronchitis virus (IBV) strains isolated in Quebec. Virus Genes. 25(1): 85-93. 2002.
54. Springer WT, Luskus C, Pourciau SS. Infectious bronchitis and mixed infections of *Mycoplasma synoviae* and *Escherichia coli* in gnotobiotic chickens. I. Synergistic role in the airsacculitis syndrome. Infect Immun.10: 578-589. 1974.
55. Stebbins M. E., Berkoff H. A., and Corbet W. T. Epidemiological studies of congo red *Escherichia coli* in broiler chickens. Can. J. Vet. Res. 56(3): 220-225. 1992.
56. Tablante N.L., Brunet P.Y., Odor E.M., Salem M., Harter-Dennis J.M., and Hueston W.D. Risk factors associated with early respiratory disease complex in broiler chickens. Avian Dis. 43(3): 424-428. 1999.
57. Tablante N.L., Myint M.S., Johnson Y.J., Rhodes K., Colby M. and Hohenhaus G.. A survey of biosecurity practices as risk factors affecting broiler performance on the Delmarva Peninsula. Avian Dis., 46: 730-734. 2002
58. Toth T.E., Siegel P. and Veit H., 1987. Cellular defense of the avian respiratory system. Influx of phagocytes: Elicitation versus Activation. Avian Dis. 31:861-867. 1987.
59. Toma B., Vaillancourt J.P., Dufour B., Eloit M., Moutou F., Marsh W., Bénet J., Sanaa M. and Michel P., Dictionary of Veterinary Epidemiology, Iowa State University Press, Ames, Iowa (1999).
60. Toth T.E., Pyle R.H., Caceci T., Siegel P.B., Ochs D. Cellular defense of the avian respi-ratory system: influx and nonopsonic phagocytosis by respiratory phagocytes activated by *Pasteurella multocida*, Infect. Immun. 56: 171-1179. 1988.
61. Vaillancourt J.-P., Martinez A., Smith C. and Ley D. The epidemiology of *Mycoplasma Gallisepticum* In North Carolina. In: Proc. 35th National Meeting on Poultry Health and Processing, Ocean City, MD:34-36. 2000.

62. Van der Giessen A., Tilburg J., Ritmeester W. and van der Plas J. Reduction of campylobacter infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiol. Infect.* 121:57-66. 1998.
63. Villegas P. Viral diseases of the respiratory system. *Poult Sci* 77, 1143-1145. 1988.
64. Watson D.W., Kaufman P.E., Rutz D.A., and Glenister C.S.. Impact of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus* Panzer on the establishment of the predaceous beetle, *Carcinops pumilio* Erichson for *Musca domestica* control in caged-layer poultry houses. *Biological Control* 20: 8-15. 2001.
65. Yoder H. W., Drury L. N. and Hopkins S. R. Influence of Environment on Airsacculitis: Effects of Relative Humidity and Air Temperature on Broilers Infected with *Mycoplasma synoviae* and Infectious Bronchitis. *Avian Dis.* 21:195-208. 1977.

## **ANNEXE 1**

**Table 1:** Descriptive statistics of categorical variables used in paired case-control study on the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Risk factors category	Risk factors		Control flocks (n)	Affected flocks (n)
<b>Hatchery</b>	Hatchery of origin	A	13	10
		B	6	5
		C	5	7
		others	5	7
	Breed Strain	A	15	9
		B	3	3
		mixture	7	11
<b>Feed mill</b>	Feed mill of origin	1	6	5
		2	0	5
		3	3	3
		4	5	1
		others	9	8
	Feed type	animal	9	14
		Vegetal	20	15
<b>Farm</b>	Other poultry farm	yes	13	15
<b>Environment and Biosecurity</b>	Other livestock on the farm (cattle, sheep and/or pigs)	no	16	14
		yes	6	11
<b>Management</b>	Restrictions for prior poultry visitors	no	23	18
		yes	8	3
	Barn-to-barn farmer practices	no	21	26
	Change boots or plastic overboots	yes	20	14
		no	9	15
	Change coveralls	yes	2	3
		no	21	17
	Using a footbath	yes	1	0
		no	28	29
	Hand wash or use a hand sanitizer	yes	8	6
		no	21	23
	Visitor practices			
	Change boots or plastic overboot:	yes	28	29
		no	1	0
	Change coveralls	yes	16	15
		no	13	14
	Using a foot bath	yes	1	0
		no	28	29
	Hand wash or use a hand sanitizer	yes	11	6
		no	18	23
	Type of drinkers nipple drinkers	with cups	7	13
		without cups	18	12
	Water source for the birds on this farm	aqueduct	9	10

		deep well	16	17
		surface well	4	2
	Medications administered during rearing period	yes	4	6
		no	25	23
	Mortality during rearing period	yes	7	13
		no	22	17
	Dead birds stored	freezer	20	18
		bin inside barn	1	2
		outside barn	4	1
		refrigerated	2	5
	Dispose of freezer or refrigerated container	inside the barn	2	2
		close to barn	8	10
		certain distance		
		to the barn	13	12
		out of the site	6	4
	Dispose of dead birds	rendering plant	18	17
		burying	1	1
		incineration	1	1
		composting	7	7
		fed to other animals	2	3
	Disposal method for used litter stockpiled	< 50 m from barn	5	8
		between 50 to 150m	5	1
		> more than 50 m	3	1
		immediate removal	16	19
	Farm-specific equipments for litter	yes	25	23
		no	4	6
		farmer	22	22
	Person responsible for used litter removal	contractor/integrator	7	7
	Farm production	single age farm	15	13
		multi-age farm	13	15
	Presence of other animals on the poultry farm	yes	7	17
		no	22	12
	Presence of pets on the poultry farm	yes	1	5
		no	28	24
	Pets have access to entry room of the poultry barn	yes	4	5
		no	25	24
	Pets have access to poultry barns during down time	yes	5	15
		no	24	14
	Pets have access to area around poultry barns	yes	5	15
		no	24	14
	Pets have access to dead birds	yes	1	10
		no	28	19
<b>Pest control</b>	Control program for rodents	yes	17	18
		no	12	11
	Control program for darkling beetles	yes	14	4
		no	15	25
	Responsible for pest control	farmer	12	8
		pest control Company	17	18

<b>Sanitation</b>	Remove all feed from pans	yes	29	27
		no	0	2
	Blowdown of dust from walls and ceiling	yes	29	28
		no	2	1
	Blowdown of dust from ventilators	yes	25	26
		no	4	3
	Washdown of floors	yes	15	12
		no	14	17
	Washdown of feeders	yes	17	8
		no	12	21
	Washdown of drinkers	yes	16	13
		no	13	17
	Washdown of walls	yes	13	8
		no	16	21
	Washdown of fans	yes	17	10
		no	12	19
	Disinfection of floor	yes	18	13
		no	11	16
	Disinfection of feeders	yes	14	11
		no	15	18
	Disinfection of drinkers	yes	17	12
		no	12	17
	Disinfection of walls	yes	19	11
		no	10	18
	Disinfection of fans	yes	17	11
		no	12	18
	Disinfection of entry room	yes	18	13
		no	11	16
	At least one disinfection in the poultry barn	yes	19	13
		no	10	16
	Fumigation of poultry barn	yes	6	2
		no	23	27
	Water line system sanitized	yes	15	17
	no	14	12	
Persons performing cleaning of the poultry barn	Farmer	24	25	
	contractor	5	4	
Persons performing disinfection of the poultry barn	Farmer	14	13	
	contractor	8	5	

**Table 2:** Descriptive statistics of continuous variables used in a paired case-control study on the prevalence of airsacculitis in case (n=29) and control (n=29) broiler chicken flocks collected in Quebec slaughter plants between May 2005 and February 2006.

Risk factors category	Control flocks (n)					Affected flocks (n)				
	Mean	Standard Deviation	Min <sup>1</sup> .	Max <sup>1</sup> .	Range	Mean	Standard Deviation	Min.	Max.	Range
Average birds weight for the flock (Kg)	2.34	1.65	2.17	2.45	0.28	2.30	0.13	2.04	2.54	0.5
cellulitis-condemned carcasses per flock (%)	1.49	1.45	0.17	7.28	7.11	1.81	1.46	0.10	5.55	5.45
age of parent flocks (weeks)	41.08	9.61	25.73	57.85	32.11	40.85	7.62	28.46	53.60	25.14
number of birds in the flock	21328	8049.98	6400	48000	41600	19003	7164.50	8300	34100	25800
number of birds on the farm	49400	36367.11	2600	123500	120900	65730	66460.27	12000	250000	238000
number of poultry houses on the farm owned by same producer	1.82	1.19	1	6	5	2.55	2.42	1	9	8
Number of other poultry farms owned by the same producer	0.82	1.19	0	5	5	1.55	2.42	0	8	8
Number of birds in other poultry farm owned by the same owner	21210	41120	0	186500	186500	49879	108115	0	500000	500000
Density (birds/m <sup>2</sup> )	12.47	1.60	7.1	15	7.9	12.21	1.47	10.4	17.1	6.7
Number of years since the construction or last major renovation of poultry barn	6.81	7.01	0	25	25	6.51	8.83	0	37	37

Distance to the nearest poultry farm (Km)	1.88	2.39	0.06	8	7.94	1.47	2.17	0.09	10	9.91
Frequency of water line sanitation (per week)	2.99	3.25	0	7	7	1.88	3.01	0	7	7
Downtime(from disinfection of the poultry house to flock placement, in days)	11.28	3.90	3	19	16	12.85	5.64	4	27	23
Frequency of farm visits during rearing (technician and exterminator)	2.74	1.91	0	7	7	3.48	2.93	0	11	11

<sup>1</sup>Min.: Minimum, Max.: Maximum

## ANNEXE 2

# Questionnaire

## Facteurs de risque et causals associés à l'incidence d'aérosacculite chez le poulet de chair au Québec.

Numéro de poulailler de la Fédération : \_\_\_\_\_

Nom de la ferme : \_\_\_\_\_

Nom du producteur ou intégrateur : \_\_\_\_\_ # de téléphone : \_\_\_\_\_

# de Fax : \_\_\_\_\_ Adresse courriel : \_\_\_\_\_

Nom du gérant de ferme : \_\_\_\_\_ # de téléphone : \_\_\_\_\_

# de Fax : \_\_\_\_\_ Adresse courriel : \_\_\_\_\_

Adresse civique de la ferme : \_\_\_\_\_

No

Rue

\_\_\_\_\_ Ville / Village

\_\_\_\_\_ code postal

Nom de l'abattoir : \_\_\_\_\_

Date de l'abattage : \_\_\_\_\_

AA / MM / JJ

### **Autorisation de divulgation de l'information**

J'autorise le personnel de la Faculté de Médecine Vétérinaire à contacter mon couvoir, mon abattoir et la Fédération des producteurs de volaille du Québec, afin d'obtenir, pour le poulailler cité ci-haut, les données pertinentes au projet, sans toutefois inclure aucune donnée économique. Je reconnais que les analyses telles que stipulées au protocole seront effectuées sur les tissus prélevés à l'abattoir pour ce même poulailler et ce sans aucun frais de ma part.

\_\_\_\_\_  
Signature du producteur ou gérant de ferme

\_\_\_\_\_  
Date AA / MM / JJ

Nous nous engageons à respecter rigoureusement l'anonymat de chaque producteur. Chaque donnée sera considérée confidentielle. Aucune information permettant de retracer l'origine des données ne sera dévoilée.

\_\_\_\_\_  
Signature d'un membre l'équipe de recherche

\_\_\_\_\_  
Date AA / MM / JJ

**Couvoir d'origine de l'élevage**

Bon de réception (oui/non)

Nom(s) du/des couvoir(s) : \_\_\_\_\_

Date d'entrée des oiseaux : \_\_\_\_\_

AA / MM / JJ

Nombre d'oiseaux entrés (excluant le 2%): \_\_\_\_\_

**Information sur le producteur**

Autres poulaillers sur ce site (même propriétaire, même adresse civique ou immédiatement voisine), veuillez préciser :

Bâtisse(s) : \_\_\_ # FVPQ : \_\_\_\_\_ # poulets mâles (été) : \_\_\_\_\_

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Autres espèces animales élevées à cette adresse:

- Bovins laitiers                       Poules commerciales
- Porcs                                       Dindons
- Bovins de boucherie               Poules reproductrices
- Chevaux                                   Aucune
- Autres : \_\_\_\_\_

Autre(s) site(s) appartenant à cette entreprise :

Site : \_\_\_\_\_ # des bâtisses : \_\_\_\_\_ # poulets de mâles (durant la même période que le lot test): \_\_\_\_\_

_____	_____	_____
_____	_____	_____

Description du poulailler no : \_\_\_\_\_

Nombre d'étages : \_\_\_\_\_ Nombre de parquets par étage : \_\_\_\_\_

Des dindons sont-ils élevés dans cette bâtisse (oui/non) : \_\_\_\_\_

Vaccin(s)
_____
_____
Antibiotique (oui/non)
_____
Nombre de source(s) de reproducteur :
_____
Âge des reproducteurs :

Es-ce qu'il y a eu un détassement, si oui # d'oiseaux restants : \_\_\_\_\_

Superficie (enregistrée à la FPVQ) accessible aux oiseaux testés : \_\_\_\_\_

Dimension intérieure de la bâtisse accessible aux oiseaux (L X l, pieds) : \_\_\_\_\_

Année de construction ou de rénovation majeure : \_\_\_\_\_

Type de rénovation :

- alimentation
- abreuvement
- ventilation
- bâtisse
- chauffage

Distance du poulailler voisin le plus proche (km) : \_\_\_\_\_

#### **Nettoyage et désinfection avant l'entrée des oiseaux**

Date de sortie de l'élevage précédent : \_\_\_\_\_

AA / MM / JJ

Qui fait le nettoyage: \_\_\_\_\_

Qui fait le lavage/désinfection : \_\_\_\_\_

#### Procédures de nettoyage avant l'entrée du lot par ordre chronologique :

\_\_ Enlèvement complet de la litière

\_\_ Grattage

\_\_ Retrait de la moulée des plats

\_\_ Dépoussiérage :    murs et plafond      
                                   équipement d'alimentation et d'abreuvement   
                                   entrée d'air et ventilateurs

\_\_ Lavage :            plancher   
                           système d'alimentation   
                           système d'abreuvement   
                           murs   
                           entrée d'air   
                           ventilateurs

produit : \_\_\_\_\_

\_\_ Désinfection      plancher   
                           système d'alimentation   
                           système d'abreuvement   
                           murs   
                           entrée d'air   
                           ventilateurs   
                           protecteurs d'hiver des ventilateurs (capuchon)   
                           de l'entrée

Produit : \_\_\_\_\_

Date : \_\_\_\_\_

\_\_ Sanitation de la ligne d'eau

Produit : \_\_\_\_\_

\_\_ Fumigation : Formaldéhyde et permanganate

Autres : \_\_\_\_\_

Entrepreneur : \_\_\_\_\_

Date de la fumigation : \_\_\_\_\_

Procédure de nettoyage décrite précédemment pour ce poulailler avant le lot test :

Usuelle

Situation exceptionnelle

Faites-vous une évaluation de la procédure de lavage?

Oui

Non

Si oui, comment :

Visuelle

Swabs

Le lot d'avant avait-il eu des problèmes de santé nécessitant un traitement

(oui/non) : \_\_\_\_\_

Dans le cas où il y a eu un certain nettoyage, combien de jours après la fin des procédures les oiseaux

sont-ils entrés : \_\_\_\_\_ jours

**Statut de l'élevage étudié**

### 1. Contrôle des insectes et de la vermine

Aviez-vous un programme de contrôle des insectes pour ce lot :

Mouches : produit : \_\_\_\_\_

Ténébrions : produit : \_\_\_\_\_

Comment qualifiez-vous le contrôle des mouches durant cet élevage?

excellent

moyen

insuffisant

Es-ce qu'il y a un programme de contrôle de la vermine :

Utilisation de services professionnels

Contrôle par le producteur ou le gérant

Contrôle par l'intégrateur

Aucun contrôle

### 2. Mortalité

Mortalité anormale?

Oui

Non

Quand? \_\_\_\_\_ Durant combien de jours? \_\_\_\_\_

### 3. Litière

Y a-t-il eu un dégât d'eau durant l'élevage (oui/non) : \_\_\_\_\_

---

### **Biosécurité**

À quelle fréquence ramassez-vous les oiseaux morts sur les parquets :

- une fois au deux jours
- une fois par jour
- plus qu'une fois par jour

Où amassez-vous les oiseaux morts :

- poubelle à l'intérieur
- poubelle à l'extérieur
- congélateur
- cabane ou conteneur réfrigéré

Où se situe le congélateur ou la cabane réfrigérée :

- Sur le site près de la bâtisse
- Sur le site à une certaine distance de la bâtisse
- Dans la bâtisse
- Hors du site

Comment détruisez-vous les oiseaux morts :

- Enfouissement à la ferme sur le site
- Enfouissement à la ferme hors du site
- Compostage sur le site
- Compostage hors du site
- Équarisseur (compagnie indépendante)
- Intégrateur servant d'équarisseur
- Incinération
- Nourriture animale

Qui est responsable de sortir la litière souillée :

- le producteur ou un employé
- l'intégrateur
- un contracteur

Où est emmagasiné la litière souillée :

- moins de 50 mètres
- 50 à 150 mètres
- plus de 150 mètres
- acheminement immédiat sur un autre site

L'équipement servant à sortir la litière appartient-il à la ferme

- oui
- non

Si la litière sert comme fertilisant, où est-elle épandue?

- Sur vos terres à l'intérieur d'un kilomètre
- Sur vos terres à l'extérieur d'un km
- Sur des terres ne vous appartenant pas à l'intérieur d'un km
- Sur des terres ne vous appartenant pas à l'extérieur d'un km
- Vous ne savez pas

Est-ce que les gens qui travaillent à votre ferme (régulier ou occasionnel) ont accès à des oiseaux de d'autres fermes?

- oui
- non

Est-ce que d'autres membres de votre famille ou amis proches sont en contact avec des volailles autres que celle de votre ferme?

- oui
- non

Si oui, savez-vous si la ferme de \_\_\_\_\_ éprouve des problèmes d'aérosacculite?

- oui
- non
- ne sait pas

Fréquence de la visite du personnel de soutien au cours du lot testé :

Technicien \_\_\_\_\_

Vétérinaire \_\_\_\_\_

Noms : \_\_\_\_\_

Exterminateur \_\_\_\_\_

Autres \_\_\_\_\_

Y a-t-il eu des visites inhabituelles durant ce lot :

oui \_\_\_\_\_  non

Régie des sorties et des entrées d'élevage sur le site :

- multiâge
- regroupement des sorties d'oiseaux sans vider le site
- tout plein tout vide du site

Animaux domestiques ont accès :

- aux oiseaux
- à l'entrée des bâtiments
- au bâtiment durant le vide
- autour des bâtiments
- aux oiseaux morts

Étang  ou rivière  ≤900pds du poulailler testé

PASAF (programme d'assurance de la salubrité des aliments à la ferme) :

Formation?  oui  non

Certification?  oui  non

Dans le cas où vous utilisez un bain de pied, quel est votre produit : \_\_\_\_\_

Fréquence de changement de la solution du bain de pieds :

- quotidiennement
- aux quelques jours
- au besoin

	Visiteurs	Responsable de la bâtisse	Responsable entre les bâtisses	Responsable entre ce site et d'autres sites
Non applicable				
Porter des bottes de caoutchouc pour chacun des poulaillers				
Porter un survêtement propre				
Porter des couvre-bottes à usage unique (jetable)				
Utiliser un bain de pied avec désinfectant à l'entrée				
Laver leurs bottes ou chaussures avec brosse et savon				
Se laver les mains ou produit désinfectant sans eau				
Visiter les élevages des oiseaux les plus jeunes aux plus vieux				
N'avoir visité aucun poulailler dans les jours précédant la visite				
Exiger le port du filet à cheveux				

### Alimentation

Fabrication de la moulée pour le lot

- Maison (mix-mill)
- Commerciale    Nom de la meunerie : \_\_\_\_\_  
    Localisation : \_\_\_\_\_
- Meunerie mobile

Composition de la moulée

- Végétale
- Traditionnelle

Texture de la moulée

- cubée
- farine

Type de soigneurs pour le poulailler

- À plats
- Nombre total de lignes par parquet : \_\_\_\_\_
- Nombre de plats par ligne : \_\_\_\_\_
- Diamètre d'un plat : \_\_\_\_\_
- À chaîne
- Longueur totale des soigneurs pour le parquet: \_\_\_\_\_

**Abreuvement**

Quelle est la source d'eau du poulailler?

- Puits de surface
- Puits en profondeur
- Aqueduc

Quel type d'abreuvoirs est utilisé?

- Auges
  - Nombre par parquet: \_\_\_\_\_
  - Longueur moyenne d'une auge: \_\_\_\_\_
- Cloches
  - Nombre par parquet: \_\_\_\_\_
  - Diamètre moyen d'une cloche: \_\_\_\_\_
- Abreuvoirs à tétines sans assiettes
  - Nombre total de lignes dans un parquet: \_\_\_\_\_
  - Nombre moyen de tétines par ligne dans un parquet: \_\_\_\_\_
- Abreuvoirs à tétines avec assiettes
  - Nombre total de lignes dans un parquet: \_\_\_\_\_
  - Nombre moyen de tétines par ligne dans un parquet: \_\_\_\_\_
- Abreuvoirs à *Swish cup*
  - Nombre total de lignes dans un parquet: \_\_\_\_\_
  - Nombre moyen de tétines par ligne dans un parquet: \_\_\_\_\_

Date de la dernière analyse d'eau du poulailler

- bactériologique : \_\_\_\_\_
- physicochimique : \_\_\_\_\_
- analyse indéterminée : \_\_\_\_\_
- ne se souvient pas : \_\_\_\_\_

Y a-t-il eu traitement de l'eau (ex. chlore, iode, acide acétique, etc.) durant l'élevage étudié:

- Oui

<i>Nom commercial du produit</i>	<i>PPM ou pH visé</i>

Non

Fréquence des vérifications des niveaux de chlore ou autre produit à l'abreuvement en bout de ligne : \_\_\_\_\_

Si cloche ou auge, fréquence de lavage des abreuvoirs : \_\_\_\_\_

### Vaccination

Y a-t-il eu administration de vaccins (ex. bronchite, gumboro, coccidiose) au cours de chacune de ces périodes, en excluant les vaccins administrés au couvoir?

Date : \_\_\_\_\_ Vaccin : \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

### Traitements curatifs

Y a-t-il eu utilisation de médicaments pour traiter des maladies durant l'élevage?

Oui       Non



<i>Nom commercial</i>	<i>Dose</i>	<i>Voie d'administration</i>	<i>Début</i>	<i>Fin</i>	<i>Raison</i>	<i>Efficacité (mortalité/signes cliniques)</i>
		<input type="checkbox"/> Moulée <input type="checkbox"/> Eau	_____ / _____ jours / mois	_____ / _____ jours / mois	<input type="checkbox"/> Problèmes respiratoires <input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Problèmes aux pattes <input type="checkbox"/> Déshydratation <input type="checkbox"/> Omphalite <input type="checkbox"/> Autres: _____	
		<input type="checkbox"/> Moulée <input type="checkbox"/> Eau	_____ / _____ jours / mois	_____ / _____ jours / mois	<input type="checkbox"/> Problèmes respiratoires <input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Problèmes aux pattes <input type="checkbox"/> Déshydratation <input type="checkbox"/> Omphalite	

					<input type="checkbox"/> Autres : _____	
		<input type="checkbox"/> Moulée <input type="checkbox"/> Eau	_____ jours / mois	_____ jours / mois	<input type="checkbox"/> Problèmes respiratoires <input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> Problèmes aux pattes <input type="checkbox"/> Déshydratation <input type="checkbox"/> Omphalite <input type="checkbox"/> Autres : _____	

**Ventilation**

Les vents dominants arrivent sur :

- entrée d'air  
 ventilateurs  
 au bout de la bâtisse

À pression :

Négative  Positive

Y'a-t-il des brumisateurs :

Oui  non

1. Entrée d'air ouvrant :

Du plafond vers le sol

Du sol vers le plafond

Manuelle

Automatique avec contrôle géré par la température

Tunnel

Fenêtres utilisées comme entrée d'air

Dimension de l'entrée d'air (L X l) incluant l'équivalence de l'ouverture des fenêtres : \_\_\_\_\_

Dimension abri vent extérieur : \_\_\_\_\_

Y'a-t-il pose en hiver d'une toile géotextile en hiver sur les entrées d'air?

Oui  non

A-t-elle été mise(enlevée) avant le lot?

Oui  non

2. Chauffage**Extérieur**

Contrôle de la vermine?

- gazon coupé  
 gravier autour  
 trappe extérieur  
 absence de trou  $\geq$  1 pouce

Y a-t-il une zone d'accès contrôlée autour de la bâtisse (oui/non)

Écriteaux visiteur (oui/non)

Stationnement visiteur (oui/non)

Grillage a/n des entrées d'air (oui/non)

Silo  intérieur  
 extérieur

Silo extérieur près de la porte (oui/non)

Nourriture sous les silos (oui/non)

Observé poubelle avec oiseaux morts?

Plumes près du lieu d'entreposage des carcasses (oui/non)

Éleveuses	Nombre	BTU
<input type="checkbox"/> Propane	_____	_____
<input type="checkbox"/> Gaz radiant	_____	_____
<input type="checkbox"/> Gaz naturel	_____	_____
<input type="checkbox"/> Électrique	_____	_____

Autre	Type	BTU
<input type="checkbox"/> Central	_____	_____

Si prise de lecture T min/max, quel est l'outil utilisé :

- Contrôle digital  
 Thermomètre minimum/maximum

### 3. Ventilateurs

Diamètre en pouces (2 vitesses, 1 vitesse, variable)

12 : \_\_\_\_\_ 18 : \_\_\_\_\_ 24 : \_\_\_\_\_ 52 : \_\_\_\_\_  
 14 : \_\_\_\_\_ 20 : \_\_\_\_\_ 36 : \_\_\_\_\_  
 16 : \_\_\_\_\_ 22 : \_\_\_\_\_ 48 : \_\_\_\_\_

Est-ce que les protections d'hiver pour les ventilateurs ont été mis (enlevés)?

Oui  non

Si oui, quand? \_\_\_\_\_

Contrôle

Type du contrôle	Ce qui y est relié
1 : _____	_____
2 : _____	_____
3 : _____	_____
4 : _____	_____
5 : _____	_____

### Entrée

Y a-t-il une entrée (oui/non)

Y a-t-il une barrure intérieure (oui/non)

Y a-t-il un évier dans l'entrée (oui/non)

Ont-il un registre des visiteurs (oui/non)

- trappe intérieur  
 sac de Warfarin ou autre produit  
 absence de trou  $\geq$  1 pouce

### Mortalité

1. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_  
 2. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_  
 3. \_\_\_\_\_ 6. \_\_\_\_\_

### Intérieur

Y a-t-il eu un parquet plus affecté;

Des oiseaux morts observés sur le parquet? (oui/non)

# ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE

## IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

<b>Nom de l'étudiant</b> Etienne Poirier		<b>Code permanent</b> [REDACTED]
<b>Sigle du programme</b> M.Sc.	<b>Titre du programme</b> Sciences vétérinaires	<b>Option</b> Épidémiologie

## DESCRIPTION DE L'ARTICLE

<b>Auteurs</b> Etienne Poirier, Emile Bouchard, David Léger, Serge Messier, Marielle Saint-Laurent, Daniel Scholl	
<b>Titre</b> Number of <i>Escherichia coli</i> colonies required to provide a representative sample for determination of the MIC in dairy cow fecal samples	
<b>Revue</b> Preventive veterinary medicine	<b>Date de publication</b> En préparation
<b>Auteurs</b> Etienne Poirier, Emile Bouchard,, Dave Léger, Serge Messier, Marie Archambault, Jérôme Del Castillo, Marielle Saint-Laurent, Valérie Côté, Päivi Rajala-Schultz, Daniel Scholl	
<b>Titre</b> The effect of dry cow treatment on antibiotic resistance of fecal <i>Escherichia coli</i> and <i>Enterococcus</i> spp	
<b>Revue</b> Preventive veterinary medicine	<b>Date de publication</b> En préparation

## DÉCLARATION DES COAUTEURS

<b>Déclaration</b> À titre de coauteurs des articles identifiés ci-dessus, nous autorisons le microfilmage du mémoire et nous sommes d'accord qu'Etienne Poirier inclut ces articles dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre : L'antibiorésistance acquise des bactéries de la glande mammaire et des intestins en fonctions des traitements intra-mammaire de tarissement chez les bovins laitiers.		
<b>Coauteur</b> Marie Archambault	<b>Signature</b> [REDACTED] <small>(information retirée / information withdrawn)</small>	<b>Date</b> 2007.10.22
<b>Coauteur</b> Emile Bouchard	<b>Signature</b> [REDACTED] <small>(information retirée / information withdrawn)</small>	<b>Date</b> 2007/10/22
<b>Coauteur</b> Valérie Côté	<b>Signature</b> [REDACTED]	<b>Date</b> 2007/11/06
<b>Coauteur</b> Jérôme Del Castillo	<b>Signature</b> [REDACTED]	<b>Date</b> [REDACTED]
<b>Coauteur</b> Serge Messier	<b>Signature</b> [REDACTED] <small>(information retirée / information withdrawn)</small>	<b>Date</b> 2007.10.19
<b>Coauteur</b> Marielle Saint-Laurent	<b>Signature</b> [REDACTED] <small>(information retirée / information withdrawn)</small>	<b>Date</b> 2007-10-24
<b>Coauteur</b> Daniel Scholl	<b>Signature</b> [REDACTED] <small>(information retirée / information withdrawn)</small>	<b>Date</b> 2007.10.22

**DÉCLARATION DES COAUTEURS**

<b>Déclaration</b>		
<p>À titre de coauteurs des articles identifiés ci-dessus, nous autorisons le microfilmage du mémoire et nous sommes d'accord qu'Etienne Poirier inclut ces articles dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre : <b>L'antibiorésistance acquise des bactéries de la glande mammaire et des intestins en fonctions des traitements intra-mammaire de tarissement chez les bovins laitiers.</b></p>		
Coauteur	Signature	Date
Jérôme Del Castillo	<small>(information retirée / information withdrawn)</small>	5/11/07
Coauteur	Signature	Date



