



Etude de la séroconversion induite par le vaccin Ita-New® contre la maladie de Newcastle dans un élevage de poulets villageois du Sud-Bénin

S.C. DOSSA¹, S.E.P. MENSAH¹✉, N. ALI EMMANUEL² et M. FANDY³

¹ Institut National de Recherches Agricoles du Bénin, Laboratoire des Recherches Zootechnique Vétérinaire et Halieutique 01 BP 884 Recette Principale Cotonou, Bénin.

² Laboratoire de Recherche en Chimie et Biologie Appliquée, Université d'Abomey-Calavi, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, B.P. 2009 Cotonou, Bénin

✉ Correspondance et tirés à part, e-mail : egidemensah@yahoo.fr

Résumé

Dans le but d'étudier la dynamique de la séroconversion induite par le vaccin Ita-New® contre la maladie de Newcastle dans un élevage de poulets traditionnels, des poulets locaux ont été vaccinés à l'aide de ce vaccin. Six lots de 14 oiseaux chacun ont été constitués. Les lots 1 à 4 ont reçu une seule dose vaccinale, et leurs sérums collectés respectivement à 3, 6, 10 et 12 mois après en fonction des traitements ou lots. Le lot 5 a reçu après la primo-vaccination, une deuxième épreuve vaccinale suivie d'un prélèvement de sérum à 14 mois ; le lot 6 a reçu 2 rappels et a été prélevé 24 mois après le 2^{ème} rappel. Les sérums collectés ont été soumis au test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) afin de mesurer la quantité d'immunoglobulines spécifiques induite par le vaccin. Par comparaison des titres en anticorps, on note qu'il n'y a pas de différence significative entre les titres calculés pour les lots 1, 2, 3 et 5. Cependant, on note une différence hautement significative entre les lots 4 et 6 à $p = 0,0001$. En conclusion, au Sud-Bénin une épreuve vaccinale permet d'assurer la protection des poulets traditionnels sur une durée de plus d'un an contre la maladie de Newcastle avec le vaccin Ita-New. (RASPA, 3 (1) : 33 - 36).

Mots-clés : Maladie de Newcastle - Poulets traditionnels - Dynamique de la séroconversion - Vaccination.

Abstract

Study of the seroconversion induced by the Ita-New® vaccine against the disease of Newcastle in a village chicken in Southern Benin

In order to study the dynamic of the seroconversion induced by the Ita-New® vaccine against the Newcastle disease in a traditional chicken breeding, local chickens were vaccinated using this vaccine. Six batches of 14 birds each were made up. Batches 1 to 4 received only one dose of vaccine, and their serums collected respectively after 3, 6, 10 and 12 months according to the treatments or batches. The batch 5 after receiving the first vaccination, a second vaccine was administrated and serum collected after 14 months; the last batch received 2 recalls and the serum was taken after 24 months. The overall collected serums were subjected to test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) in order to measure the quantity of specific immunoglobulins induced by the vaccine. The result showed that was no significant difference between the antibody titres calculated for batches 1, 2, 3 and 5. However, highly significant difference between batches 4 and 6 was found ($p = 0.0001$). In conclusion, in Southern Benin, one vaccination with Ita-New, vaccine permit to protect village chickens against Newcastle disease for over year.

Key - Words : Newcastle diseases - Village chicken - Seroconversion dynamic - Vaccination.

Introduction

La maladie de Newcastle est une maladie virale et létale qui affecte généralement les oiseaux de différents âges. C'est l'une des principales maladies à la base des fortes mortalités enregistrées dans les élevages avicoles à travers le monde. En Afrique et plus précisément au Bénin, elle constitue l'une des contraintes majeures au développement de l'aviculture traditionnelle.

La seule méthode de lutte avérée contre ce virus est la vaccination. Généralement, bien étudié pour les poulets améliorés, aucun plan de prophylaxie rigoureuse contre ce virus n'est préconisé pour les poulets traditionnels à partir de bases scientifiques bien élaborées. En vue de préconiser une prophylaxie vaccinale plus économique pour les éleveurs de poulets traditionnels, il importe d'en déterminer les modalités d'utilisation, en particulier le nombre de vaccinations, dans le système actuel de production de poulets traditionnels.

L'objectif de la présente expérimentation est d'étudier la séroconversion induite par le vaccin Ita-New® contre la maladie de Newcastle dans un élevage de poulets traditionnels afin de proposer aux éleveurs un programme de vaccination adéquat.

Matériel et Méthodes

1. ZONE D'ETUDE

L'étude s'est déroulée dans le département du Mono, sud-ouest du Bénin à Kpinnou située à 100 Km de Cotonou. Les coordonnées géographiques sont 15°40' et 1°45' de latitude Nord, 6°30' et 6°40' de longitude Est. La température moyenne annuelle est de 27,9°C. Le climat est de type subéquatorial avec deux saisons pluvieuses qui s'établissent de mars à juillet et de septembre à novembre. La hauteur moyenne des précipitations varie de 1.000 à 1.400 mm par an.

L'aviculture occupe une place prépondérante dans l'économie des populations du Bénin en général et de celle du département du Mono au Sud-Bénin en particulier. L'aviculture villageoise est souvent pratiquée par les femmes, et la volaille est utilisée à des fins diverses : fêtes, cérémonies coutumières, restauration collective. Quelques têtes sont vendues au marché de volailles ou aux restaurateurs pour résoudre des problèmes ponctuels. Les revenus issus de la vente des poulets servent notamment à payer les frais de scolarité et les fournitures scolaires des enfants, à régler les problèmes de santé et de nourriture de la famille en période de soudure, puis à servir de financement pour les travaux agricoles DOSSA *et al.* [6].

Au moment des investigations, l'effectif des poulets locaux de la ferme de Kpinnou s'élevait à 1.300 contre 42.067 têtes pour le Mono et contre un effectif national de plus de 10 millions de têtes, [4].

2. LE VACCIN

Le vaccin utilisé est un vaccin inactivé en adjuvant huileux. Il est préconisé contre la maladie de Newcastle, et constitué de la souche Brescia inactivée titrant avant inactivation au minimum 10⁸ dle 50 par dose et du monoliate de sorbitol de 0,001 ml par dose avec 0,5 ml d'excipient huileux q.s.p.

L'organisme vacciné développe une immunité dès le 8^{ème} jour suivant l'injection et atteint son maximum entre la 3^{ème} et la 4^{ème} semaine. Le conditionnement de 100 ml a été acquis près d'un dépositaire local et conservée au réfrigérateur entre +4°C et +8°C. L'administration a été faite par voie intramusculaire à la dose de 0,5 ml par sujet.

3. PROTOCOLE VACCINAL

L'expérience a porté sur des poulets villageois âgés d'environ 8 semaines au moment de la primo-vaccination avec Ita-New®. Le cheptel d'oiseaux expérimental est constitué d'un noyau de poulets issus tous des mêmes parents élevés en liberté sur la ferme depuis 4 ans dans un enclos de 50 m x 50 m. Les lots d'oiseaux sont abrités le soir dans de petits enclos de 4 m x 5 m. Ils disposent de mangeoires et d'abreuvoirs pour une alimentation à la provende le matin. La procédure vaccinale suivie est celle décrite par d'Almeida *et al.* [1].

Les oiseaux ont été répartis en 6 lots de 14 poulets chacun en fonction de la période de prélèvements de sang et du nombre de vaccinations contre la maladie de Newcastle. Chaque lot correspondant à un type de traitement (tableau I).

Tableau I : Résumé du dispositif vaccinal et du contrôle de la séroconversion chez les poulets

Traitement (lot des poulets)	Nombre de vaccinations appliquées			Période de contrôle de la séroconversion	Nombre d'oiseaux prélevés
	Primo vaccination à 8 semaines d'âge	1 ^{er} rappel à 12 mois	2 ^{ème} rappel à 24 mois		
1	1	-	-	3 mois	14
2	1	-	-	6 mois	14
3	1	-	-	10 mois	14
4	1	-	-	12 mois	14
5	1	1	-	14 mois	14
6	1	1	1	24 mois	14
Total					84

L'injection vaccinale a eu lieu dans tous les lots de poulets, le même jour pour les lots 1 à 4. Les rappels vaccinaux ont eu lieu dans les mêmes conditions que celles de la primo vaccination aux périodes précitées avec un premier rappel à 12 mois pour les lots 5 et 6 et un deuxième rappel à 24 mois pour le lot 6. L'étude a duré de septembre 2001 à octobre 2003.

4. PRÉLÈVEMENTS DE SANG ET COLLECTE DE SÉRUM

Les prélèvements de sang ont été effectués avant la primo-vaccination chez les oiseaux de chaque lot afin de connaître leur état sérologique et, à différentes périodes après la primo vaccination en fonction des lots (tableau I).

La collecte de sang a été effectuée à partir de la veine alaire de chaque oiseau. Une quantité d'environ 5 ml de sang a été prélevée dans des tubes Venoject® et laissée coaguler entre 15 minutes et 1 heure à la température ambiante. Le sérum de chaque animal obtenu après coagulation a été récupéré à l'aide d'une pipette pasteur à usage unique dans un tube de 2 ml et conservé à -20°C pour les analyses sérologiques.

5. DÉTECTION ET TITRAGE DU TAUX D'ANTICORPS

Le matériel d'identification utilisé est constitué de plaques pré sensibilisées à l'antigène du virus de Newcastle commercialisé par le Laboratoire Service International (France) sous le nom déposé de KPL NDV PROFLOCK®.

La technique utilisée pour la détection des anticorps dans les sérums avant la primo vaccination et leur titrage dans les sérums post-vaccinaux est celle de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) telle que décrite par le fabricant du kit et confirmé par Synder *et al.* [14].

Les sérums à tester ont été dilués dans une solution tampon puis répartis sur une plaque de microtitration vierge à raison de 50 µl par cupule. La rangée de cupules réservée aux contrôles ne reçoit pas de sérum. Après équilibration des solutions contenues dans les plaques de dilution ainsi réalisées, 50 µl du sérum ont été prélevés et distribués dans chaque cupule de la plaque pré sensibilisée provenant du laboratoire LSI, hormis les cupules servant de contrôles qui ont reçu suivant le cas, la solution de contrôle positif (CP) et contrôle négatif (CN) diluées aussi au 1/100 suivant les instructions du fabricant. Les traitements ultérieurs des plaques ainsi réalisées ont obéi aux instructions du laboratoire. La lecture de l'intensité des réactions a été faite à 405 nm à l'aide d'un lecteur de plaques ELISA Labsystems Multiskan EX®, USA.

6. ANALYSES STATISTIQUES

Les titres calculés suivant les formules du laboratoire Proflock® Plus, ont été enregistrés avec le logiciel Excel. L'analyse de variance à l'aide du logiciel Statistical Analysis System (SAS), a concerné la comparaison des moyennes des titres d'anticorps détectés dans les sérums collectés avant et après vaccination aux différentes périodes de l'expérience. La structuration des moyennes a été faite à l'aide du test de Newman et Keuls.

Résultats

Les titres moyens en anticorps des différents lots (1,2,3,4,5,6) avant vaccinations varient de 64,946 à 69,705. On observe après analyse statistique que la moyenne des titres des différents lots n'est pas significativement différente entre eux avant vaccinations (tableau II). Le tableau III résume le statut sérologique des différents lots de poulets immunisés lors de l'expérimentation. Il ressort que 3 mois, après la primo-vaccination, la moitié des oiseaux du lot 1 a un titre de 6921 avec des extrêmes de 386 et 23343. Les 75% des oiseaux de ce lot possèdent un titre de 15872. A 6 mois, la moitié des poulets du lot 2 a un titre égal à 12247 tandis que le titre enregistré chez 75% est de 14757 avec des valeurs fluctuant entre 5242 et 21446. Le prélèvement effectué à 10 mois indique une valeur médiane égale à 12504 et des valeurs extrêmes de 5840 et 12104. Ces dernières sont supérieures à celles obtenues dans le lot précédent. Les données du 12^{ème} mois après la vaccination sont de 22781 pour la médiane et les valeurs extrêmes sont comprises entre 6916 et 94927. La moitié de la population des poulets appartenant à ce lot 4, possèdent un titre égal à 50983. Cependant, le traitement 5, correspondant au lot d'oiseaux ayant reçu deux injections (à 12 mois d'intervalle), un en primo-vaccination et un rappel à 12 mois et prélevés le 14^{ème}

mois indique une valeur médiane de 14486 avec des titres variant de 4419 à 16685, valeurs inférieures à celles enregistrées dans le traitement 4. Le prélèvement effectué après deux rappels successifs (lot 6) à un an d'intervalle montre un relèvement des taux d'anticorps sériques contre la maladie de Newcastle. La valeur médiane observée dans ce cas est de 55023. La plage de variation des titres est comprise entre 7773 et 93004.

Tableau II : Titres moyens en anticorps des sérums des différents lots de poulets avant vaccination

Lots	Titre
1	67,373±52,631
2	64,946±47,970
3	69,965±58,538
4	66,742±52,699
5	69,705±53,165
6	66,739±53,422
Probabilités	0,0001

Tableau III : Etudes des paramètres descriptifs de l'état immunitaire d'une population de poulets villageois soumis à différents modes de vaccination

Lots	Période (mois)	Titre				
		Min	Max	1 ^{er} Quartile	Médiane	3 ^e Quartile
1	3	386	23423	2342	6921	15872
2	6	5242	21446	11058	12247	14757
3	10	5840	26104	9827	12504	17965
4	12	6916	94927	17887	22781	50983
5	14	4419	16685	7682	11496	14486
6	24	7773	93004	33259	55023	80111

Globalement, la comparaison des anticorps induits en fonction du nombre de vaccinations (tableau IV), indique qu'au seuil de 5%, aucune différence significative n'est observée entre les taux sériques en anticorps produits contre le virus de la Newcastle après une primo vaccination et un rappel 12 mois après. On observe cependant qu'un 2^{ème} rappel (trois injections vaccinales), induit un taux d'anticorps significativement plus élevé ($p=0,0001$) pour atteindre la valeur de 529367 (tableau IV).

Tableau IV : Titres moyens en anticorps induits en fonction du nombre d'injections vaccinales

Nombre d'injection Vaccinale	Titre
1	17916±2353 ^b
2	11151±1104 ^b
3	529367±7284 ^a
Probabilités	0,0001 ***

*** Les moyennes suivies par différentes lettres dans une même colonne sont significativement différentes les unes des autres à $p=0,0001$

Le tableau V donne un aperçu sur les titres en anticorps vaccinaux obtenus à différentes périodes de prélèvement suivant le nombre de vaccinations. Les titres en anticorps produits varient en fonction du temps écoulé entre la période de vaccination et celle des prélèvements. Les traitements 1 à 4 consistant en une seule injection (primo-vaccination) suivie de prélèvements de sang respectivement à 3, 6, 10 et 12 mois confèrent des titres croissants en fonction de la durée post-vaccinale. Les moyennes des titres obtenues varient de 8813 à 3 mois à 35848 après 12 mois. On observe après analyse statistique que la moyenne des titres calculée après 12 mois est significativement supérieure ($p<0,0001$) à celles obtenues à 3, 6 et 10 mois. Si l'on considère le traitement 5 où les oiseaux ont reçu deux injections à 12 mois d'intervalle, la

moyenne obtenue après 14 mois n'est pas significativement différente de celles obtenues à 3, 6 et 10 mois. Après trois injections vaccinales à 12 mois d'intervalle (traitement 6), on observe une séroconversion significativement plus élevée ($p<0,0001$) comparée à tous les autres régimes de vaccination et périodes de prélèvements. Aucune mortalité ni affection particulière n'ont été observées au cours de l'expérimentation.

Tableau V : Titres comparés des anticorps sériques induits par le vaccin Ita New® chez des poulets villageois à différentes périodes de prélèvements

Traitements (lots)	Titre
1	8813±2022 ^c
2	13171±1137 ^c
3	13832±1623 ^c
4	35848±7182 ^b
5	11150±1104 ^c
6	52936±7284 ^a
Probabilités	0,0001 ***

*** Les moyennes suivies par différentes lettres dans une même colonne sont significativement différentes les unes des autres à $p=0,0001$

Discussion

Le titre moyen en anticorps des sérums des oiseaux prélevés avant vaccination est faible et sans variation significative entre les différents lots. Ce constat révèle que les anticorps maternels se maintiennent jusqu'à au moins 8 semaines d'âge. Ces résultats diffèrent de ceux de VILLATE [17] pour qui l'immunité passive transmise aux poussins par la mère poule persiste jusqu'à 2 à 3 semaines après la naissance. Cette différence pourrait s'expliquer par la résistance reconnue aux poulets traditionnels contrairement à ceux de race améliorée. Les données enregistrées montrent que le vaccin utilisé induit une séroconversion élevée chez les poulets traditionnels. Globalement les titres observés indiquent que trois mois après vaccination, 25% des oiseaux d'expériences sont déjà protégés contre la maladie de Newcastle avec un taux d'anticorps 1,3 fois supérieurs au taux de 1800 [11], correspondant au seuil minimum de protection indiqué par le fabricant du kit utilisé pour l'appréciation de l'efficacité vaccinale [11]. La séroconversion reste encore évolutive après les deux premières semaines. En effet, l'analyse des résultats obtenus nous montre que même s'il n'y a aucune différence significative entre les données collectées à 3, 6 et 10 mois, il y a un accroissement quantitatif des taux d'anticorps déterminés aux périodes sus-indiquées. L'augmentation significative observée pourrait être due à la synthèse continue des anticorps ou à la potentialisation avec l'âge ou amplification de la conversion sérique par des infections naturelles virales sauvages. Les travaux de SAVI [13] ont montré que dans le département du Mono, zone où a eu lieu l'expérimentation, des oiseaux peuvent révéler des titres d'anticorps naturels de l'ordre de $1,96 \times 10^6$, valeur bien plus élevée que celles observées au cours de nos investigations. L'harmattan selon ORAJAKA *et al.* [12], en desséchant les voies auriculo-nasales des oiseaux, favorise le contact et la pénétration du virus qu'il véhicule. La différence statistiquement significative enregistrée entre les traitements 5 (oiseaux ayant reçu un rappel vaccinal) et 6 (ceux qui en ont reçu 2), pourrait s'expliquer par une augmentation des anticorps induits par le 2^{ème} rappel vaccinal à travers une amplification plus accrue des plasmocytes induisant par ricochet plus d'anticorps.

Par contre, celle observée entre les traitements 5 et 4 (oiseaux ayant connu une épreuve vaccinale), serait due à des erreurs de manipulations lors de l'injection du vaccin. Car selon FOURNIER [8], l'injection intramusculaire doit être effectuée avec précaution (vérification régulière du volume du vaccin administré, injection faite véritablement dans le muscle et non déversée sur la peau).

Ces résultats montrent que le vaccin huileux induit une immunité solide chez les poulets locaux. Les travaux réalisés au Bangladesh et en Ethiopie ont montré que le taux de réussite des vaccins administrés dans l'eau est plus faible que celui des vaccins huileux injectable comme Ita-New® [15], [16]. Différents auteurs, au cours des investigations faites au Togo, Niger, Guinée, Sénégal et Mali, ont confirmé ces résultats [2], [7]. BELL [3] tout en énonçant que ce type de vaccin serait plus immunogène, a précisé que les résultats dépendent beaucoup plus de la compétence technique du vaccinateur. Ces résultats diffèrent cependant de ceux obtenus par COURTECUISSÉ [5] et qui indiquent des titres sériques négatifs 6 mois après la vaccination de poulets traditionnels au Niger avec un vaccin inactivé.

La variation des titres en anticorps entre les différents individus de la population avicole serait due aux réponses immunologiques spécifiques à chaque organisme animal. En effet, il est possible d'affirmer que tous les poulets vaccinés étaient protégés contre la maladie de Newcastle sur 12 mois et au-delà.

Cette étude révèle qu'une seule vaccination avec un vaccin inactivé sans rappel assure une protection d'une durée d'un an aux poulets traditionnels alors que GUILLAUME et al. [9] en rapportant les travaux de EVALI [7] et VILLATE [17] préconisent un rappel 6 mois après la primo-vaccination. Si l'on sait que le poulet traditionnel atteint un poids marchand entre 6 mois et 1 an selon HOUNDJE [10], une seule vaccination est suffisante pour protéger le cheptel villageois. L'immunité des poulets ayant reçu une primo-vaccination pourrait être potentialisée par le contact avec les virus sauvages étant entendu que la période la plus critique pour le poulet est celle de sa vie de poussin.

Conclusion

La présente étude a permis de confirmer que la vaccination contre la maladie de Newcastle avec le vaccin Ita-New®, vaccin inactivé largement utilisé au Bénin pour protéger contre cette maladie, permet d'obtenir un titre en anticorps protecteur important d'une durée supérieure à 1 an contre le virus. Aussi, confirme-t-elle qu'en matière de vaccination des poulets traditionnels contre la maladie de Newcastle, le programme vaccinal à appliquer serait une vaccination unique car suffisante et plus économique.

Remerciements

Nous tenons à remercier le Projet de Développement d'Élevage PDE Phase III au Bénin qui nous a permis d'effectuer nos expériences dans sa ferme de Kpinnou et le Dr Richard LOKOSSOU pour sa collaboration effective.

Bibliographie

- 1- **d'ALMEIDA J.F., AGBADJE P., AGOUNDOTE D., AHOUANSE R., AKOMEDI C., CHRYSOSTOME C.A.A.M., DOSSA C.S. et FANDY M., 2001.-** Manuel du vaccinateur Villageois de Volaille. Medias et technology. Abomey-Calavi - 59 p.
- 2- **AFRIQUE AGRICULTURE, 1997.-** Programmes vaccinaux contre la maladie de Newcastle. 248 : 56 p.
- 3- **BELL J. G. 2000.-** A comparison of the different vaccines available for the control of Newcastle disease in village chickens. *w.w.w.aciar.gov.au/web.nsf/doc.* - 2 p.
- 4- **BENIN. Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche. Direction de l'Élevage, 2003.-** Rapport annuel d'activités. - 45 p.
- 5- **COURTECUISSÉ C., JAPIOT F., BLOCH N. et DIALLO I., 1990.-** Enquête sérologique sur les maladies de Newcastle et de Gumboro, la pasteurellose et la pullorose chez des poules de race locale au Niger. *Revue Elév. Méd. vét. Pays trop.*, 43 (1) : p 27-29.
- 6- **DOSSA C.S., DOSSA A., MENSAH S.E. et d'ALMEIDA J., 2000.-** Amélioration de l'alimentation de la volaille traditionnelle : Diagnostic et propositions d'actions. Rapport sommaire d'étude. Inrab/urzv. Bénin - 43 p.
- 7- **EVALI D., 1996.-** Contribution à l'étude de l'évaluation de l'efficacité de la protection vaccinale et vérification de l'effet positif du déparasitage sur la réponse immunitaire en aviculture traditionnelle dans les régions de Kaolack et de Fatick au Sénégal. Thèse de Doctorat d'Etat de Pharmacie soutenue à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Dakar. - 96 p.
- 8- **FOURNIER D., 1995.-** Modalités pratiques d'administration des vaccins. Lyon, France, Merial-Dofnof /Mpav, 15p.
- 9- **GUILLAUME R. et ERIC F.Q., 2000.-** La vaccination contre la maladie de Newcastle en aviculture villageoise. Un facteur de développement impliquant tous les acteurs de la filière. Dans *Afrique Agriculture*, 281 : 2 p.
- 10- **HOUNDJE E., 2002.-** Contribution à l'étude de quelques paramètres de dynamique du troupeau et de productivité de la poule locale dans le Mono : cas de quatre villages. Mémoire de fin d'études au C.P.U., Université d'Abomey Calavi. - 52 p + Annexes.
- 11- **LSI, 2002.-** Fiche technique d'utilisation du kit. Laboratoire Service International. -4p.
- 12- **ORAJAKA L.J.E., ADENÉ D.F., ANENE B.M et ONUOHA E.A., 1999.-** Seroprevalence of Newcastle disease in local chickens from Southeast derived savannah zone in Nigeria. *Revue Elév. Méd. Vét. Pays trop.*, 52 (3-4) : 185-188.
- 13- **SAVI R., 2002.-** Identification et localisation par sérodiagnostic des pathologies infectieuses dominantes des élevages traditionnels aviaires au Bénin. Mémoire de fin d'études de cycle au Collège Polytechnique Universitaire, Université d'Abomey Calavi. - 53 p + Annexes.
- 14- **SNYDER D.B., MARQUARDT W.W., MALLINSON E.T., SAVAGE P.K et ALLEN D.C., 1984.-** Rapid serological profiling by Enzyme linked Immunosorbent Assay, III. Simultaneous measurements of antibody titer to infectious bronchitis, infectious bursal disease and Newcastle disease viruses in a single serum dilution. *Avian Diseases*, 28: 12-24.
- 15- **THIAUCOURT F., 1988.-** Production et essais de vaccins inactivés en excipient huileux contre la maladie de Newcastle en Ethiopie. *Revue Elév. Méd. Vét. Pays trop.*, 41 (3) : 229-233.
- 16- **VERGER M., 1986.-** La prophylaxie de la maladie de Newcastle dans les élevages villageois en Afrique. *L'Aviculteur*, 465 : 44-4.
- 17- **VILLATE D., 1997.** Maladies des volailles. Manuel Pratique. Editions France Agricole. - 399 p.

