



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



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

**Suivi et manipulation de certaines méthodes de diagnostic des  
maladies aviaires au sein d'un laboratoire.**

Présenté par  
**Hadj-Arab Bouchra**

Soutenu le 7-7-2025

**Devant le jury :**

<b>Président(e) :</b>	<b>Ezzeroug Rym</b>	<b>MC A</b>	<b>ISV BLIDA 1</b>
<b>Examineur :</b>	<b>Tazerart Fatah</b>	<b>MC B</b>	<b>ISV BLIDA 1</b>
<b>Promoteur :</b>	<b>Kelanemer Rabah</b>	<b>MC A</b>	<b>ISV BLIDA 1</b>
<b>Co-promoteur :</b>	<b>Adel Djallel</b>	<b>MC A</b>	<b>ISV BLIDA 1</b>

**Année : 2024-2025**

## REMERCIEMENTS

Je rends avant tout grâce à **Dieu Tout-Puissant**, qui m'a guidée, soutenue et accordé la patience nécessaire pour mener à bien ce travail, ainsi que durant ces cinq années d'études.

Je tiens à remercier mon promoteur **Kelanemer Rabah** pour son encadrement et le suivi qu'il m'a accordé durant la réalisation de ce travail, je le remercie également pour la rigueur et la qualité de l'enseignement qu'il m'a transmis durant ces années

Je remercie également mon co-promoteur **Adel Djallel** pour les connaissances partagées au cours de mes études

J'adresse mes remerciements au président du jury **Ezzeroug Rym** pour avoir accepté de superviser l'évaluation de ce travail, ainsi qu'à **Tazerart Fatah** examinateur de ce mémoire, pour le temps accordé à sa lecture et ses futures remarques.

Je remercie aussi **Dr Kara Redouane**, pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire et pour ses conseils précieux qui m'ont permis d'avancer concrètement dans ce travail.

Un immense merci à **Farida Ladjali**, biologiste compétente et bienveillante, pour son aide sincère, sa gentillesse, sa patience et sa présence rassurante à chaque étape de la partie pratique. Elle a été bien plus qu'un soutien technique. Merci du fond du cœur.

## DEDICACES

Je dédie ce travail, avant tout, à ma chère mère **Sehaki Malha**, pour son amour, son soutien constant et ses encouragements qui m'ont portée tout au long de ce parcours. Merci d'avoir cru en moi, même quand moi je doutais.

À mon père **Hadj- Arab Mohamed**, pour sa présence discrète mais précieuse, et pour tout ce qu'il a fait pour moi depuis le début.

À mon frère **Nassim** et ma sœur **Rahma**, qui ont toujours été là, chacun à sa manière, avec leur affection et leur soutien sincère. Vous avez apporté de la légèreté et de la force à ces années parfois difficiles.

Je tiens également à dédier ce mémoire à toute l'équipe de Kara-Lab. : **Rania, Wahiba** et **Nawel** merci pour votre accueil chaleureux, votre bonne humeur et votre collaboration tout au long de mon passage parmi vous.

Je dédie aussi ce mémoire à des personnes qui me sont chères, celles qui ont été là dans les moments importants : **Melissa, Lina, Nawel, Yanis, Nermine, Maroua**. Votre présence, vos mots, vos attentions ont compté pour moi, et je ne les oublierai jamais.

## RESUME

Ces dernières années, l'élevage avicole en Algérie s'est largement développé, ce qui a naturellement entraîné un besoin accru en matière de suivi sanitaire. Le recours au diagnostic de laboratoire devient un élément central pour assurer la sécurité sanitaire des élevages. Les laboratoires jouent un rôle fondamental dans ce dispositif en assurant le contrôle, l'expertise et la surveillance des maladies aviaires. Toutefois, la fiabilité de ces analyses repose avant tout sur la qualité des prélèvements effectués sur le terrain. Bien réalisés, ces prélèvements permettent d'établir un diagnostic fiable, base essentielle pour prendre des décisions efficaces en matière de santé animale (Taibi-Meksoud, 2012)

Ce mémoire s'inscrit dans une démarche d'approfondissement des connaissances pratiques et théorique sur les méthodes de diagnostic des maladies aviaires, à travers une immersion en laboratoire vétérinaire. Les volailles, constituant une source essentielle de protéines animales dans de nombreux pays, sont exposées à une large variété d'agents pathogènes pouvant gravement affecter leur état sanitaire et compromettre les performances de production. Il devient donc impératif de disposer de méthodes de diagnostic à la fois rapides, fiables et accessibles, afin de garantir une prise de décision efficace et adaptée aux exigences sanitaires du terrain.

L'objectif principal de la présente étude était de suivre et manipuler, dans des conditions réelles de laboratoire, certains des outils classiques de diagnostic que sont la bactériologie et la sérologie. Une revue bibliographique a également été consacrée aux techniques modernes, avec la PCR, pour aboutir à une vue d'ensemble des outils diagnostiques. L'analyse des cas a permis de mettre en évidence l'importance de chacune des étapes, du prélèvement à l'interprétation, et de renvoyer au diagnostic le caractère fondamental des décisions sanitaires concernant la gestion collective des élevages.

Ce travail a ainsi pour prétention de former les futurs vétérinaires, d'un point de vue pratique et analytique, à une meilleure maîtrise des maladies des oiseaux dans le cadre de leurs activités de vétérinaires avicoles.

## الملخص

شهد قطاع تربية الدواجن في الجزائر خلال السنوات الأخيرة تطورًا كبيرًا، مما أدى بطبيعة الحال إلى تزايد الحاجة إلى المتابعة الصحية الدقيقة. وأصبح اللجوء إلى التشخيص المخبري عنصرًا أساسيًا لضمان السلامة الصحية للمزارع. إذ تلعب المختبرات دورًا محوريًا في هذا الإطار من خلال الرقابة، والخبرة، والمراقبة المستمرة للأمراض التي تصيب الدواجن. ومع ذلك، فإن موثوقية هذه التحاليل تعتمد أساسًا على جودة العينات المأخوذة ميدانيًا. فعندما يتم أخذ العينات بشكل صحيح، فإنها تتيح الوصول إلى تشخيص دقيق، وهو الأساس لاتخاذ قرارات فعّالة في مجال الصحة الحيوانية.

يأتي هذا البحث في إطار تعميق المعارف النظرية والتطبيقية المتعلقة بطرق تشخيص أمراض الدواجن، من خلال تدريب ميداني داخل مختبر بيطري. وتُعتبر الدواجن مصدرًا هامًا للبروتينات الحيوانية في العديد من الدول، إلا أنها معرضة لمجموعة واسعة من العوامل المرضية التي قد تؤثر بشكل خطير على حالتها الصحية وتُضعف أداءها الإنتاجي. لذا، أصبح من الضروري توفير وسائل تشخيصية سريعة وموثوقة ومتاحة، لضمان اتخاذ قرارات فعّالة تتماشى مع المتطلبات الصحية الميدانية.

كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو متابعة واستعمال بعض الوسائل الكلاسيكية للتشخيص، مثل البكتريولوجيا والسيرولوجيا، ضمن ظروف مخبرية حقيقية. كما تم تخصيص جزء من هذا العمل لمراجعة الأدبيات حول التقنيات الحديثة، لاسيما تقنية PCR، بهدف تقديم نظرة شاملة على الأدوات التشخيصية المتوفرة. وقد سمح تحليل الحالات بإبراز أهمية كل مرحلة، من أخذ العينات إلى تفسير النتائج، مع التأكيد على الدور الأساسي للتشخيص في اتخاذ القرارات الصحية المتعلقة بإدارة المزارع بشكل جماعي.

ويهدف هذا العمل في نهاية المطاف إلى إعداد الأطباء البيطريين المستقبليين، من منظور تطبيقي وتحليلي، لتمكينهم من التحكم الجيد في أمراض الطيور في إطار ممارستهم لمهنة الطب البيطري المتخصص في قطاع الدواجن.

## Summary:

In recent years, poultry farming in Algeria has significantly developed, naturally leading to an increased need for health monitoring. Laboratory diagnostics have become a central element in ensuring the sanitary safety of farms. Laboratories play a fundamental role in this system by providing control, expertise, and surveillance of avian diseases. However, the reliability of these analyses depends primarily on the quality of the samples collected in the field. When properly performed, these samples allow for an accurate diagnosis, which is essential for making effective decisions in animal health management

This thesis is part of a process aimed at deepening both practical and theoretical knowledge of avian disease diagnostic methods, through hands-on experience in a veterinary laboratory. Poultry, which represent a key source of animal protein in many countries, are exposed to a wide range of pathogens that can seriously affect their health and compromise production performance. It is therefore imperative to have diagnostic methods that are rapid, reliable, and accessible, in order to ensure effective decision-making that meets the sanitary requirements of the field.

The main objective of this study was to observe and use, in real laboratory conditions, some of the classical diagnostic tools such as bacteriology and serology. A literature review was also dedicated to modern techniques, particularly PCR, to provide an overview of available diagnostic tools. The analysis of cases highlighted the importance of each step—from sampling to interpretation—and reaffirmed the crucial role of diagnostics in health decisions related to the collective management of poultry farms.

This work ultimately aims to train future veterinarians, from a practical and analytical perspective, to better manage bird diseases as part of their work in the poultry veterinary field.

## LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

### I. FIGURES :

Figure 1 : Pots des prélèvements (Anonyme 05) .....	2
Figure 2 : Instruments utilisés lors d'autopsie (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015) .....	2
Figure 3 : Placement de l'oiseau en décubitus dorsal (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015) .....	3
Figure 4 : Prélèvement de sang par la veine alaire (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015) .....	5
Figure 5 : Prélèvement trachéal par un écouvillon (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015) .....	5
Figure 6 : Tubes de sang identifiés pour analyses sérologiques sérologiques (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015) .....	6
Figure 7 : Écouvillons pour prélèvements cloacaux et trachéaux (Majo & Dolz, 2019) .....	6
Figure 8 : Échantillons d'organes aviaires fixés dans le formol à 10% (Majo & Dolz, 2019).....	6
Figure 9 : Fiche de renseignement vierge en laboratoire aviaire (Labofarm, 2023) .....	7
Figure 10 : Bactérie de Salmonella sur milieu XLD(Irshad, 2019) .....	8
Figure 11 : Bactérie d'E. coli sur milieu HK (Rabia, Tamani & Amroun, 2022-2023.....	9
Figure 12 : Bactérie de Staphylocoques sur milieu TSA (Kénanian, 2018).....	9
Figure 13 : Étapes de coloration de Gram (Anonyme 06).....	10
Figure 14 : Bacilles Gram positifs (Leboffe & Pierce, 2011).....	10
Figure 15 : Cocci ovoïdes, Gram positif (Leboffe & Pierce, 2011).....	10
Figure 16 : Bacilles Gram négatifs (Leboffe & Pierce, 2011).....	10
Figure 17 : Test de catalase (Leboffe & Pierce, 2011).....	11
Figure 18 : Test d'oxydase (Leboffe & Pierce, 2011) .....	11
Figure 19 : Test de mannitol-mobilité (Anonyme 07).....	11
Figure 20 : Test sur milieu TSI (Leboffe & Pierce, 2011) .....	11
Figure 21 : Test ONPG (Leboffe & Pierce, 2011) .....	11
Figure 22 : Test de citrate de Simmons (Anonyme 08).....	12
Figure 23 : Test d'uréase (Anonyme 09) .....	12
Figure 24 : Test d'indole (Anonyme 10).....	12
Figure 25 : Agglutination de l'antigène H de Salmonella (Académie de Montpellier, 2003) .....	12
Figure 26 : Principe de l'ELISA indirecte (Barrow, 2009) .....	13
Figure 27 : Thermocycleur (Anonyme 04) .....	14
Figure 28 : Péricardite fibrineuse (Hadj-Arab, 2025) .....	19
Figure 29 : Aérosacculite (Hadj-Arab, 2025) .....	19
Figure 30 : Périhépatite (Hadj-Arab, 2025).....	19
Figure 31 : Observation macroscopique de bactérie isolée (Hadj-Arab, 2025).....	20
Figure 32 : Suspension bactérienne à 0,5 McFarland (Hadj-Arab, 2025) .....	20
Figure 33 : Observation microscopique après coloration de Gram(Hadj-Arab,2025) .....	21
Figure 34 : Profil biochimique sur milieu TSI (Hadj-Arab, 2025).....	22
Figure 35 : Test d'indole positif (Hadj-Arab, 2025).....	22
Figure 36 : Galerie API 20E après incubation (Hadj-Arab, 2025) .....	23
Figure 37 : Isolement de bactérie sur milieu HK (Hadj-Arab, 2025) .....	25
Figure 38 : Test oxydase négatif (Hadj-Arab, 2025).....	25
Figure 39 : Sérotypage de E. coli non typable (Hadj-Arab, 2025) .....	26
Figure 40 : Foyer de nécrose hépatique multifocale (Hadj-Arab, 2025).....	27
Figure 41 : Foyer de nécrose hépatique localisée (Hadj-Arab, 2025).....	27
Figure 42 : Congestion du foie avec dépôts de fibrine en surface (Hadj-Arab, 2025).....	27
Figure 43 : Lésion au niveau du foie (Hadj-Arab, 2025).....	27
Figure 44 : Gélification des organes internes (Hadj-Arab, 2025).....	27

Figure 45 : Observation microscopique de colonies (Hadj-Arab, 2025) .....	28
Figure 46 : Galerie API 20E en cours d'interprétation (Hadj-Arab, 2025).....	29
Figure 47 : Hémorragies intestinales chez les poules (Hadj-Arab, 2025) .....	30
Figure 48 : Présence de lésions hépatiques multiples (Hadj-Arab, 2025) .....	30
Figure 49 : Aérosacculite chez la poule pondeuse (Hadj-Arab, 2025) .....	31
Figure 50 : Hypertrophie du thymus (Hadj-Arab, 2025) .....	33
Figure 51 : Œdème sous-cutané (Hadj-Arab, 2025).....	33
Figure 52 : Colonies suspectes de Salmonella sur MacConkey (Hadj-Arab, 2025) .....	33
Figure 53 : Colonies suspectes sur Hektoen (Hadj-Arab, 2025).....	33
Figure 54 : Résultat gélose TSI (Hadj-Arab, 2025).....	34
Figure 55 : Galerie API 20E interprétée (Hadj-Arab, 2025).....	34
Figure 56 : Lésions intestinales dues à Salmonella (Hadj-Arab, 2025) .....	35
Figure 57 : Résultat sérotypage négatif (Hadj-Arab, 2025) .....	35
Figure 58 : Pétéchies intestinales visibles (Hadj-Arab, 2025) .....	37
Figure 59 : Contenu intestinal hémorragique (Hadj-Arab, 2025) .....	37
Figure 60 : Lésions typiques de coccidiose (Hadj-Arab, 2025).....	37
Figure 61 : Pétéchies proventriculaires (Hadj-Arab, 2025).....	39
Figure 62 : Bouchons caséeux nasaux (Hadj-Arab, 2025) .....	39
Figure 63 : Lecture test IHA (Hadj-Arab, 2025) .....	40
Figure 64 : Néphrite hémorragique (Hadj-Arab, 2025).....	41
Figure 65 : Pétéchies proventriculaires (Hadj-Arab, 2025).....	41
Figure 66 : Plaque ELISA test NDV (Hadj-Arab, 2025).....	42
Figure 67 : Lecture ELISA logiciel ID SOFT (Hadj-Arab, 2025) .....	42

## II. TABLEAUX

Tableau 1: organes à prélever selon les maladies aviaires (Bouayoune, 2016) .....	6
Tableau 2: tests biochimiques réalisés en laboratoire vétérinaire (Denis, Ploy, Martin, & Cattoir, 2016) .....	10
Tableau 3: tableau de lecture de la galerie API 20E (Anonyme 15).....	12
Tableau 5: avantage et limites des différentes techniques de laboratoire (Majo & Dolz, 2019).....	15
Tableau 6: lecture de galerie API 20E ,cas01 : .....	22
Tableau 7: lecture de galerie API 20 E, cas02 .....	25
Tableau 8: lecture de galerie API 20 E, cas04. ....	33
Tableau 9: lecture des titres de IHA test, cas08. ....	38
Tableau 10: lecture de ELISA test : .....	41
Tableau 11: lecture des titres de HIA teste cas10 : .....	42

LA LISTE DES ABRVIATIONS :

ADH : Arginine dihydrolase

ADN : Acide désoxyribonucléique

AMY: Amygdaline

ARA: L-arabinose

ARN: Acide Ribonucléique

CIT: Citrate

DK: Drigalski

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

GEL: Gélatinase

H2S : Thiosulfate de sodium

HK: Hektoen

IHA : Hémagglutination de l'inhibition

IND : Indole

INO : Inositol

LDC: lysine décarboxydase

MAN: D-mannitol

MEL: D-melibiose

MH: Mueller Hinton

ODH: ornithine décarboxylase

ONPG: ortho-nitrophényl-B-galactoside

RHA: L-rhamnose

SAC: D-saccharose

SOR: D-sorbitol

TDA: Tryptophane désaminase

TSA : trypticase soja

TSA+C: Tryptic Soy Agar+Colistine

TSI: triple sugar iron

URE : Urée

VP : Pyruvate de sodium

XLD : Xylose-Lysine-Désoxycholate

# SOMMAIRE

REMERCIEMENTS .....	
DEDICACES .....	
RESUME.....	
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX .....	
LA LISTE DES ABRVIATIONS :.....	
SOMMAIRE.....	
Introduction : .....	1
<b>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>1</b>
Chapitre01 : l'autopsie dans le diagnostic des maladies aviaires :.....	2
1. Rôles de l'autopsie dans le diagnostic des maladies aviaires :.....	2
2. Préparation et matériel essentiel pour une autopsie :.....	2
3. Échantillonnage en autopsie aviaire :.....	2
4. Euthanasie : .....	2
5. Techniques de l'autopsie : .....	3
Chapitre02 : Les prélèvements en laboratoire : .....	5
1. Approche clinique pour les prélèvements chez les oiseaux : .....	5
2. Le choix des prélèvements :.....	6
3. Fiche de renseignement : .....	7
Chapitre 03 : le diagnostic laboratoire :.....	8
1. Le diagnostic bactériologique : .....	8
2. Diagnostic sérologique : .....	12
3. La biologie moléculaire : .....	14
4. Avantages et limites des différentes techniques de laboratoire :.....	15
<b>LA PARTIE EXPERIMENTALE : .....</b>	<b>2</b>
1. Lieu et période de L'étude : .....	16
2. Objectif de l'étude :.....	16
3. Matériels :.....	16
4. Etude de cas cliniques rencontrés en laboratoire :.....	17
Cas 01 : colibacillose chez les poulets de chair.....	17
Cas 02 : colibacillose chez poussins de 7 jours et 15 jours.....	23
CAS 03 : Mycoplasmosse chez les dindes.....	25
Cas 04 : contrôle d'assainissement chez poussins d'un jour : .....	27
Cas 05 : salmonellose chez poulets de chair :.....	30
Cas 06 : ostéoporose chez poules pondeuses .....	33
Cas 07 : coccidiose chez poulets de chair. ....	35
Cas 08 : la grippe aviaire chez les dindonneaux .....	36
Cas 09 : la maladie de new Castle chez poulet de chair :.....	39

<b>Cas 10 : contrôle vaccinale chez les dindes pondeuses :</b> .....	41
<b>5. Conclusion générale :</b> .....	43
<b>ANNEXES :</b> .....	44
<b>Bibliographie :</b> .....	

## **Introduction :**

La santé animale joue un rôle majeur en médecine vétérinaire notamment dans le secteur avicole, où les maladies comme la grippe aviaire et la maladie de Newcastle pourraient entraîner de lourdes pertes économiques, provoquant une forte mortalité et une baisse de production animale, menaçant la stabilité des élevages avicole. (Djelloul, 2024)

Les failles en matière de biosécurité et en diagnostic augmentent le risque de propagation des agents pathogènes, transformant certaines infections en maladie endémiques, entraînant des impacts graves sur la santé humaine et animale (FAO, 2022).

Le laboratoire occupe une place centrale dans la gestion des pathologies aviaires, si l'examen clinique et nécropsique permettent une première orientation, seuls les examens complémentaires en laboratoire garantissent un diagnostic précis et la mise en place d'un traitement adapté, rendant son intervention indispensable pour une organisation sanitaire efficace. De plus, il contribue activement à la prévention des infections aviaires en assurant le contrôle des couvoirs des vaccins, des vaccinations et de l'alimentation, renforçant ainsi la santé globale du secteur avicole. (Bouayoune, 2016)

Face à ces défis, notre étude vise à s'appuyer sur les méthodes modernes telles que la sérologie, la bactériologie et la PCR (Polymérase Chain Réaction) sont mises en œuvre pour le diagnostic des maladies aviaires. Bien que ces méthodes soient disponibles en Algérie, leur maîtrise nécessite également une bonne connaissance des pratiques fondamentales. La contention, l'euthanasie et l'autopsie des oiseaux sont des étapes clés pour obtenir des échantillons de qualité. Par ailleurs, il est indispensable de comprendre les spécificités anatomiques et physiologiques des oiseaux, qui influencent directement l'efficacité et la précision des diagnostics.

***ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE***

# Chapitre01 : l'autopsie dans le diagnostic des maladies aviaires :

## 1. Rôles de l'autopsie dans le diagnostic des maladies aviaires :

L'autopsie est couramment pratiquée en élevage aviaire en raison du grand nombre d'animaux disponibles et de leur petite taille, facilitant ainsi sa réalisation. Elle permet principalement d'identifier la cause d'une maladie ou d'un décès en analysant l'historique médical et les lésions macroscopiques. (Majo & Dolz, 2019)

Un autre objectif essentiel de l'autopsie est le prélèvement d'échantillons, soit pour confirmer une suspicion clinique, soit dans le cadre de la surveillance sanitaire d'un élevage. Elle permet également de mieux comprendre les maladies en identifiant leurs lésions et les agents responsable. (Majo & Dolz, 2019)

## 2. Préparation et matériel essentiel pour une autopsie :

Avant de débiter une autopsie, il est crucial de rassembler le matériel de base nécessaire. Cela inclut une solution tamponnée de formol à 10%, des écouvillons stériles et des pots pour des analyses bactériologiques. Il faut également prévoir des écouvillons secs et des pots pour le diagnostic moléculaire (PCR), virologique et parasitologie. (Brugère-picoux *et al*)

Les instruments couramment utilisés en autopsie comprennent de petits ciseaux, une cisaille ou un couteau, un bistouri ou un scalpel. Afin de prévenir la transmission d'agents zoonotiques tels que l'érysipèle, le port de gants est indispensable à chaque étape de l'autopsie (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).



Figure 1 : pots des prélèvements (Anonyme 05).



Figure 2 : instrument utilisé lors d'autopsie (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).

## 3. Échantillonnage en autopsie aviaire :

L'échantillonnage des sujets vivants a pour objectif de prélever des oiseaux sains et malades afin de suivre l'évolution de la maladie et d'établir l'ordre chronologique de son apparition (Lezzar, 2017,2018).

## 4. Euthanasie :

L'euthanasie doit être réalisée de manière rapide et indolore, une contention correcte minimise le stress et prévient l'échec de l'euthanasie et réduit les risques de blessure pour l'animal et le préposé. Elle est essentielle pour garantir une euthanasie efficace et sans cruauté (Ontario Association of Poultry Veterinarians, 2016).

## 5. Techniques de l'autopsie :

### a) Examen externe :

L'examen externe des oiseaux évalue le poids, l'embonpoint et d'éventuelles anomalies (malformation, traumatismes, infections, tumeurs). L'état des plumes, des pattes, des griffes et de peau est vérifiés pour détecter lésions, parasites ou troubles. L'inspection des appendices (crête, barbillons), des paupières et des muqueuses permet d'identifier infection ou anomalie circulatoires. La présence d'écoulement buccaux, nasaux, oculaires et cloacaux est notée, avec possibilité de prélèvement, l'absence de parasites dans l'environnement de l'oiseau est contrôlée avant de consigner les observations et de préparer l'examen interne (Alamargot, 1982).

### b) Examen internes :

L'animal est installé en décubitus dorsal sur une planche rigide. Les plumes du cou, du thorax et de l'abdomen sont humidifiées avec de l'alcool afin d'améliorer la visibilité cutanée et limiter la contamination. Une incision cutanée est pratiquée du bréchet jusqu'à la région cloacale, avec décollement soigneux de la peau, notamment sur le thorax, l'abdomen et les cuisses. Une traction latérale des membres postérieurs permet la luxation des hanches pour une meilleure ouverture de la cavité abdominale (Majo & Dolz, 2019).



*Figure 3: placement de l'oiseau en décubitus dorsal (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).*

Une évaluation sous-cutanée est réalisée afin de repérer les anomalies telles que hémorragies, œdèmes, fonte musculaire ou dépôts graisseux. L'ouverture de la cavité coelomique permet la recherche d'un épanchement abdominal (ascite), qui est quantifié et prélevé si nécessaire. La cage thoracique est ensuite ouverte par section des côtes et des os thoraciques (coracoïdes, clavicules), donnant accès aux organes thoraciques (Majo & Dolz, 2019).

L'état des sacs aériens est vérifié (transparence, opacités, adhérences), de même que celui des organes internes visibles : foie, rate, proventricule, gésier, intestins, cœur. Le système digestif est mobilisé par section du méso du gésier pour exposer les reins, la rate et les organes reproducteurs. Une fois l'œsophage et la veine cave sectionnés, le foie, les estomacs et les intestins sont retirés pour une évaluation morphologique détaillée (taille, couleur, consistance, contenu). Le proventricule et le gésier sont ouverts pour examiner la muqueuse interne (congestion, lésions, parasites) (Lezzar, 2017,2018).

L'analyse se poursuit par le pancréas, le duodénum, les cæcums et le rectum, en vérifiant l'intégrité de la paroi et la nature du contenu. Sur le plan cardiovasculaire, le péricarde, les gros vaisseaux et le cœur sont étudiés, ce dernier étant retiré pour analyser le myocarde et les valvules. Les poumons sont dégagés, incisés et inspectés. La trachée est ouverte jusqu'au pharynx à la recherche de mucus, lésions ou corps étrangers (Lezzar, 2017,2018).

Les glandes endocrines et immunitaires (bourse de Fabricius, thymus, thyroïde) sont localisées, ouvertes et analysées. Le jabot est ponctionné puis ouvert avec l'œsophage. La cavité buccale, la choane et le pharynx sont également examinés (Lezzar, 2017,2018).

Enfin, les appareils reproducteur et urinaire sont évalués (gonades, oviducte, glandes surrénales, reins). L'étude se conclut par l'examen du système nerveux : les nerfs périphériques sont observés, les yeux disséqués pour visualiser la rétine et le cristallin, et le cerveau est exposé par décalottage crânien pour l'étude des structures centrales (méninges, encéphale, hypophyse, nerfs optiques) (Majo & Dolz, 2019).

## Chapitre02 : Les prélèvements en laboratoire :

### 1. Approche clinique pour les prélèvements chez les oiseaux :

Des prélèvements sanguins peuvent être réalisés sur des oiseaux vivants à des fins diagnostiques notamment pour la sérologie, l'hématologie et la biochimie et les tests toxicologiques. Chez les adultes la ponction veineuse s'effectue généralement au niveau de la veine de l'aile, tandis que chez les jeunes elle peut être réalisée par voie intracardiaque. Il est possible de pratiquer une incision de la veine alaire permet un prélèvement direct du sang à l'aide d'un tube capillaire (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).



*Figure 4 : prélèvement de sang par la veine alaire (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015)*

Il est également nécessaire de réaliser des prélèvements trachéaux ou cloacaux sur des sujets vivants (FAO, 2009).



*Figure 5 : prélèvement trachéal par un écouvillon (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).*

## 2. Le choix des prélèvements :

Il est possible de faire l'autopsie sur place et de prélever aseptiquement les organes appropriés en fonction de la suspensions clinique. Les prélèvements varient selon la maladie. Les principales maladies rencontrées sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1: organes à prélever selon les maladies aviaires (Bouayoune, 2016).

Maladies	Prélèvements recommandés
Salmonellose	Le foie, la rate, les ovaires, le cœur et le sac vitellin.
Colibacillose	Le sac vitellin, le péricarde, le foie et le pus.
Pasteurellose	Os long, foie, sang du cœur et lésions.
Staphylococcie	Pus, exsudat, tendon, foie et rate.
Mycoplasmosse	Trachée, sac aérien et liquide synoviale.
Maladie de Marek	Nerf atteint, rein, rate et foie.
Maladie de Newcastle	Trachée, foie, rein et rate.
Bronchite infectieuse	Trachée.
Leucose	Foie, rate, reins et tumeur.
Coccidiose	Tube digestif, cæcum.

Pour les examens sérologiques, le prélèvement sanguin il faut qu'il soit réalisé de manière aseptique dans des tubes en verre ou en polyéthylène propres, contenant au moins 2 millilitres de sang par tube. Une fois collecté, il est placé en position inclinée jusqu'à coagulation, puis maintenu à température ambiante pour permettre la formation de sérum. Ce dernier doit être acheminé rapidement au laboratoire ou conservé au réfrigérateur en cas de besoins (Bouayoune, 2016) .



Figure 6: tubes de sang identifier pour analyses sérologiques (Brugère-picoux, vaillancourt, Shivaprasad, Venne, & Bouzouaia, 2015).



Figure 7 : écouvillons utilisée pour les prélèvement cloacaux et trachéaux (Majo & Dolz, 2019).



Figure 8 : échantillons d'organes aviaires fixés dans le formol à 10% pour examens histopathologiques (Majo & Dolz, 2019).

### 3. Fiche de renseignement :

Il est important de revoir la fiche commémorative accompagnant le prélèvement car elle sert de base à une première orientation de diagnostic., les informations à recueillir sont :

- Le nom et adresse du demandeur.
- Le type de prélèvement (sang, organe...).
- Age des animaux malades.
- Le type d'élevage, effectif, nombre de bandes et leurs âges.
- Symptômes observés.
- Le pourcentage de chute de ponte.
- Mortalité et morbidité.
- Date de déclaration des symptômes.
- Traitement déjà utilisé.
- Programme de vaccination.

Il y a des cas spécifiques, où il est nécessaire d'effectuer des visites sur les lieux pour évaluer l'état sanitaires et pour obtenir plus de précisions sur la conduite d'élevage (Bouayoune, 2016).

	<b>ENREGISTREMENT</b>	ANA-EN-G-06	IR05
	<b>Pathologie des volailles</b>		

Date de prélèvement	/ /	<b>RENSEIGNEMENTS SUR LE LOT</b>	
Demandeur		Couvoir d'origine : .....	
Préleveur		Effectif total : .....	
Elevage nom et adresse complète	Téléphone : E-mail :	Etat général du lot <input type="checkbox"/> Bon <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Mauvais	
		Etat de la litière <input type="checkbox"/> Bon <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Mauvais	
Identification du bâtiment	CODE INUAV : ..... EDE / SIRET : ..... N° : .....	Motif de la demande : <input type="checkbox"/> Contrôle <input type="checkbox"/> Troubles digestifs <input type="checkbox"/> Troubles respiratoires <input type="checkbox"/> Troubles locomoteurs <input type="checkbox"/> Retard de croissance <input type="checkbox"/> Chute de ponte  <input type="checkbox"/> Mortalité quantité : ..... / jour	
Destinataire(s) des résultats	<input type="checkbox"/> Eleveur <input type="checkbox"/> Groupement <input type="checkbox"/> Technicien <input type="checkbox"/> Vétérinaire ou cabinet vétérinaire <input type="checkbox"/> Autre (préciser) : .....	Traitement en cours <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> OUI Lequel ? .....	
		Age des animaux ..... jours <b>ou</b> ..... semaines	
<b>PRODUCTION</b>		<b>SOUCHE</b>	
<input type="checkbox"/> <b>POULET</b>	<input type="checkbox"/> chair standard <input type="checkbox"/> label (croissance lente)	<b>CHAIR</b> <input type="checkbox"/> Ross blanc <input type="checkbox"/> Ross jaune <input type="checkbox"/> Ross PM3 <input type="checkbox"/> Ross 308 <input type="checkbox"/> Cobb <input type="checkbox"/> Hubbard JV <input type="checkbox"/> Hubbard M99 <input type="checkbox"/> Hubbard JA57 <input type="checkbox"/> Hubbard 987 <input type="checkbox"/> Hubbard 787 <input type="checkbox"/> Autres :	
<input type="checkbox"/> <b>POULETTE</b>	<input type="checkbox"/> repro chair <input type="checkbox"/> repro ponte <input type="checkbox"/> œufs de conso en cages	<b>PONTE</b> <input type="checkbox"/> Hy Line <input type="checkbox"/> Isabrown <input type="checkbox"/> Lohmann <input type="checkbox"/> Novoponte <input type="checkbox"/> Tetra	
<input type="checkbox"/> <b>COQ</b>	<input type="checkbox"/> œufs de conso au sol <input type="checkbox"/> œufs de conso plein air		
<input type="checkbox"/> <b>POULE</b>	<input type="checkbox"/> œufs de conso BIO <input type="checkbox"/> œufs embryons <input type="checkbox"/> œufs de conso volières	<b>INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES</b>	
<input type="checkbox"/> <b>DINDE</b>	<input type="checkbox"/> chair <input type="checkbox"/> future repro <input type="checkbox"/> reproductrice		
<input type="checkbox"/> <b>PINTADE</b>	<input type="checkbox"/> Chair <input type="checkbox"/> future repro <input type="checkbox"/> reproductrice	Le fait pour le client de passer commande ou de transmettre des échantillons à <b>BIO CHENE VERT- SITE DE LABOFARM LOUDEAC</b> vaut commande et implique l'acceptation des conditions générales de vente.	
<input type="checkbox"/> <b>CANARD</b>	<input type="checkbox"/> chair <input type="checkbox"/> futur repro <input type="checkbox"/> pré-gavage <input type="checkbox"/> repro <input type="checkbox"/> gavage		
<b>AUTRE PRODUCTION (préciser)</b>	.....	<b>Signature du demandeur :</b>	

Figure 9 : exemple de fiche de renseignement vierge en laboratoire aviaire (Labofarm, 2023).

## Chapitre 03 : le diagnostic laboratoire :

### 1. Le diagnostic bactériologique :

L'analyse bactériologique en aviculture est courante, notamment parce que les autopsies sont faciles à réaliser et de la gestion de grands effectifs. Un diagnostic fiable repose sur les limites techniques utilisées, le choix adéquat des prélèvements, des organes à examiner, et des milieux de culture utilisés (Balloy, 2010).

#### a) Conservation d'échantillons :

Certaines bactéries ne supportant pas la congélation, il faut conserver les échantillons au réfrigérateur. Lors des prélèvements par écouvillonnage, un milieu de transport général est recommandé afin de maintenir la viabilité des bactéries jusqu'à l'analyse (Majo & Dolz, 2019).

#### b) Démarche d'analyse bactériologique :

- Isolement et culture des bactéries :

Principe : l'isolement bactérien repose sur la séparation des micro-organismes présents dans un échantillon pour les cultiver sur un milieu solide, sélectif ou non, ce qui permet d'obtenir les colonies distinctes facilitant leur observation et identification. (anonyme 1).

- Examen macroscopique des colonies :

Avec un peu d'expérience, l'observation des colonies (couleurs, odeur, texture muqueuse,) permet d'orienter le diagnostic (Guérin, Balloy, & Villate, 2011).



Figure 10 : bactérie de salmonelle sur milieu XLD (Irshad, 2019).



Figure 11 : bactérie de Escherichia coli sur milieu HK (Rabia, Tamani, & Amroun, 2022- 2023).



Figure 12 : bactérie de staphylocoques sur milieu TSA (Kénanian, 2018).

- Examen microscopique :

- État frais : l'observation à état frais permet d'examiner la mobilité des bactéries sans coloration, plaçant une goutte de suspension entre lame et lamelle à l'objectif 40x. La mobilité observée peut donner des indices sur le type de ciliature des bactéries (monotriche, péritriche...), aidant à leurs identifications.
- Après coloration : il existe les colorations non différentielles qui sont peut utiliser aujourd'hui, colorent toutes les bactéries de la même manière., la plus utiliser est **la coloration de gram**.

D'autres colorations spécifiques peuvent être utiliser selon les besoins diagnostiques (Denis, Ploy, Martin, & Cattoir, 2016).

**Coloration de gram** : est une technique essentielle en laboratoire, qui permet d'identifier deux types de bactéries en fonction de la structure de leurs parois cellulaires ; gram-positives et gram-négatives (Garcia, 2007).

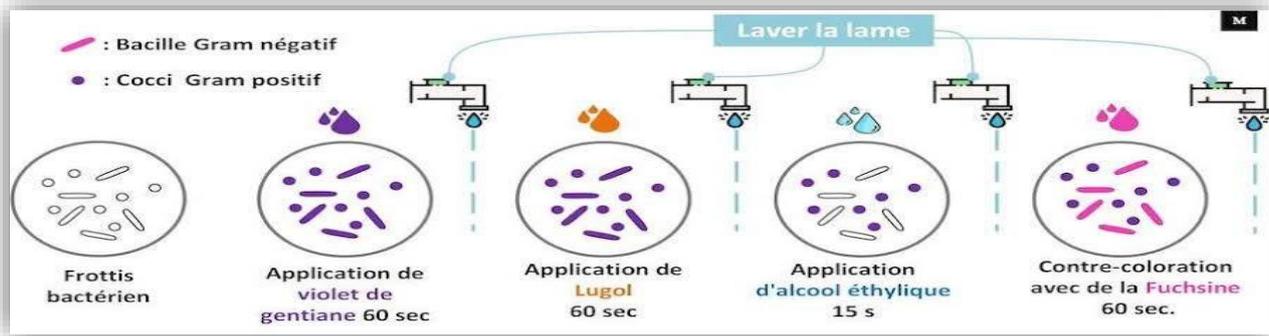


Figure13 : étapes de coloration de gram (Anonyme 06).

### Observation au microscope :

Les bactéries gram-positives apparaissent violettes, car elles retiennent le cristal violet, tandis que les bactéries gram-négatives deviennent roses rouges après la décoloration et la contre-coloration. (Garcia, 2007).

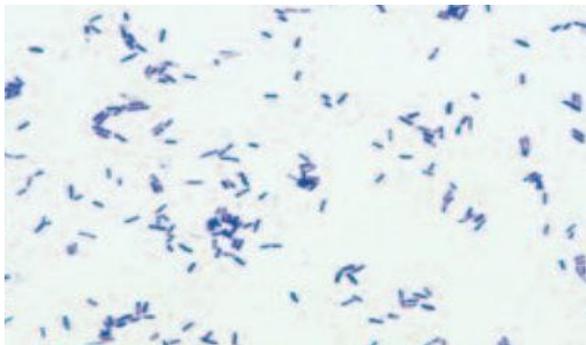


Figure 14: bacilles Gram positif (Leboffe & Pierce, 2011).

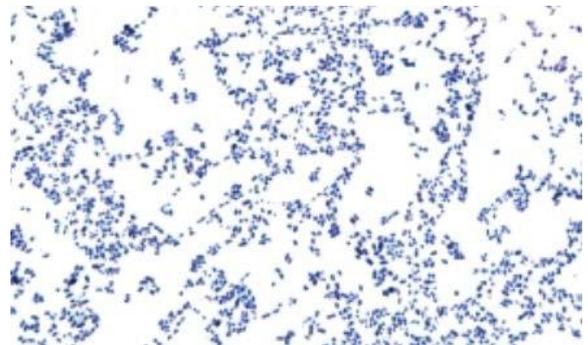


Figure 15 : Cocci ovoïdes , Gram positif (Leboffe & Pierce, 2011).

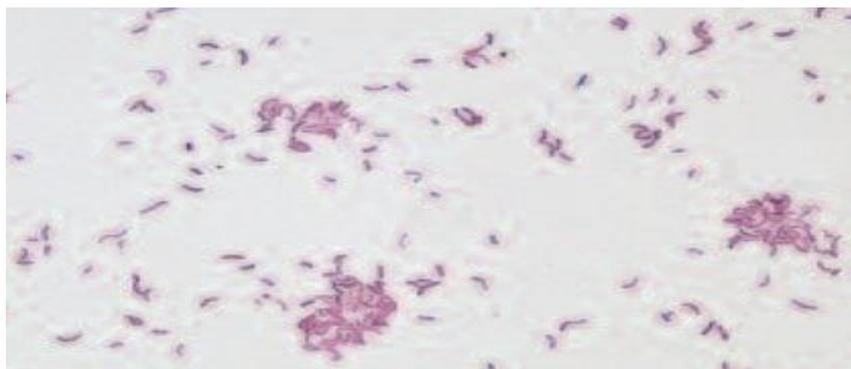


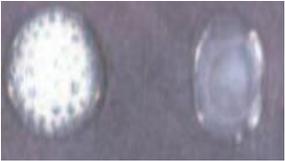
Figure16: bacilles Gram négatif (Leboffe & Pierce, 2011).

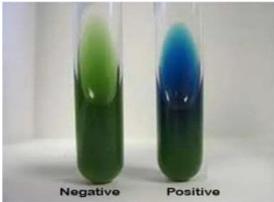
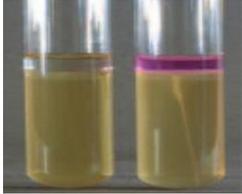
- Identification biochimique :

Elle repose sur une série de tests biochimique qui permettent de connaître le profil métabolique de la bactérie. Cependant le choix de ces tests dépend sur les premières observations comme la coloration de gram et les caractères de croissance, ces résultats oriente l'analyse en classant la bactérie en catégorie précise (Anonyme 02).

- Galerie biochimique classique : ce tableau présente les principaux tests biochimiques utilisés, leurs principes, ainsi que les résultats typiques.

Tableau 2: tests biochimiques réalisés en laboratoire vétérinaire (Denis, Ploy, Martin, & Cattoir, 2016).

Test biochimique	Description	Photos démonstratif de chaque test
Test de catalase	Certaines bactéries possèdent l'enzyme catalase qui leur permet de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ). Lorsque on met ces bactéries en contact avec du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , une réaction se produit : on observe dégagement de bulles, signe de la libération d'oxygène.	 <p>Figure 17 : teste de catalase (Leboffe &amp; Pierce, 2011).</p>
Test d'oxydase	Ce test permet de vérifier si une bactérie possède une cytochrome oxydase, une enzyme de la chaîne respiratoire. On utilise pour cela une solution 1% de diméthylparaphénylènediamine qui devient violet au contact de cette enzyme.	 <p>Figure 18 : test d'oxydase (Leboffe &amp; Pierce, 2011).</p>
Test de mannitol-mobilité	C'est un milieu semi-solide à base de mannitol et rouge de phénol, il est chauffé et refroidi puis ensemencé par piqure centrale, utilisé pour détecter la fermentation (virage rouge à jaune détecte l'acidification) et la mobilité bactérienne (trouble diffus autour de piqure)	 <p>Figure 19 : test de mannitol-mobilité (Anonyme 07).</p>
Le milieu TSI (Triple Sugar Iron).	Il est utilisé pour identifier certaines bactéries comme entérobactéries. Il contient du glucose, lactose, saccharose, citrate ferrique, thiosulfate de sodium. Ce milieu évalue la fermentation de sucre (virage de couleur en jaune), la production de gaz (soulèvement de gélose) et de sulfure d'hydrogéné (H <sub>2</sub> S) (un dépôt noir)	 <p>Figure 20 : test sur milieu TSI (Leboffe &amp; Pierce, 2011).</p>
Le test ONPG	Il permet de détecter la bêta-galactosidase, qui dégrade le lactose en glucose et galactose. On utilise pour cela des substances comme l'ONPG, qui devient jaune si l'enzyme est présente. Un résultat positif (jaune) indique la présence de l'enzyme, comme chez E. coli ou salmonella.	 <p>Figure 21: le test ONPG (Leboffe &amp; Pierce, 2011).</p>

<p>Test de Citrate de Simmons</p>	<p>Ce milieu sert à vérifier si une bactérie peut utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Si c'est le cas, le citrate est transformé en acide pyruvique et en dioxyde de carbone. Ce dernier interagit avec les composants du milieu, ce qui entraîne la formation d'une substance alcaline. En réponse à ce changement de pH, le bleu de bromothymol, qui est l'indicateur utilisé, change de couleur : il passe du vert au bleu.</p>	 <p>Figure22 : test de citrate de Simmons (Anonyme 08).</p>
<p>Test d'uréase</p>	<p>La recherche de l'uréase se fait avec un milieu nommé milieu urée-indole, contenant de l'urée, du tryptophane et un indicateur de Ph. Si la bactérie produit d'uréase, le milieu devient rose-rouge</p>	 <p>Figure23 : test d'uréase (Anonyme09).</p>
<p>Test à l'indole</p>	<p>Ce test permet de détecter la présence de Tryptophanase chez une bactérie, si la bactérie produit de l'indole à partir du tryptophane, un anneau rouge apparait avec le réactif de Kovacs.</p>	 <p>Figure24 : test d'indole (anonyme 10).</p>

➤ Galerie biochimique miniaturisée de type API :

L'API 20E se présente sous forme d'une bande en plastique regroupant 20 petits compartiments de test. Chacun de ces puits renferme un milieu déshydraté, spécialement formulé pour réagir avec les bactéries qu'on y introduit. Ces milieux permettent généralement de mettre en évidence certaines activités enzymatiques, en particulier celles liées à la fermentation des sucres ou à la dégradation des protéines et des acides aminés.

Une fois les bactéries mises en suspension, cette solution est utilisée pour réhydrater les différents puits. Ensuite, les bandelettes sont placées en incubation. Pendant cette période, l'activité métabolique des bactéries entraîne des changements de couleur dans les puits, soit de façon naturelle, soit après l'ajout de réactifs spécifiques qui permettent de mieux visualiser les résultats (Anonyme 03).

Tableau 3: tableau de lecture de la galerie API 20E (Anonyme 11).

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	$\beta$ -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe	  	  
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétone	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' $\alpha$ -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe	  	  
NO <sub>2</sub> / N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

### Le sérotypage :

La méthode repose sur la détection d'une réaction spécifique entre un anticorps présent dans un sérum de test et un antigène spécifique du microorganisme cible. Cette interaction se manifeste par une agglutination, un phénomène visible à l'œil nu, qui témoigne de la réaction entre l'antigène et l'anticorps. L'objectif est de différencier les souches de microorganismes en fonction de leur composition antigénique (sérotipe ou sérovar) (académie de montpellier, 2003).

### **2. Diagnostic sérologique :**

Bien que les analyses bactériologiques soient toujours exigées par la réglementation, les méthodes sérologiques représentent une alternative utile, en raison de leur capacité à détecter des anticorps spécifiques persistants dans l'organisme (Barrow, 2009)

#### a) Teste d'agglutination rapide :

C'est la méthode la plus simple pour détecter une réaction immunitaire, consiste à mélanger un antigène avec un sérum contenant des anticorps spécifiques. Si des anticorps sont présents, ils provoquent une agglutination visible, ce qui indique une réaction positive. Cette technique peut être réalisée dans un tube, sur une lame ou même sur un morceau de carton noir. Cependant, cette méthode est généralement trop peu sensible pour détecter certaines bactéries directement dans un échantillon brut. Mais elle reste

très utile pour identifier rapidement une souche bactérienne déjà isolée, car elle est simple, rapide et ne demande pas beaucoup de matériel ni d'expertise (Hansen, 2000).

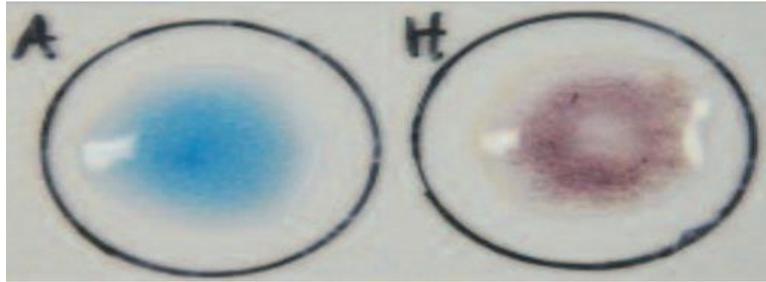


Figure 25 : L'agglutination de l'antigène H de *Salmonella* avec le sérum anti-H est montrée à droite. Le sérum anti-H mélangé avec l'antigène O de *Salmonella* est montré à gauche (Leboffe & Pierce, 2011).

### b) Test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) :

Les progrès récents de la technologie ELISA, notamment en termes de miniaturisation, de mécanisation et grâce à la disponibilité de réactifs commerciaux de haute qualité, ont facilité son utilisation dans le diagnostic des maladies aviaires. Cette méthode est désormais appliquée à la détection de divers agents pathogènes chez les volailles, tels que le virus de la bronchite infectieuse, le virus de la rhinotrachéite du dindon, ainsi que les bactéries *Pasteurella multocida* et *P. anatipestifer* (Barrow, 2009).

C'est une méthode très sensible qui permet de détecter de faibles concentrations de substances dans des échantillons biologiques comme le sérum. Le principe de l'ELISA est assez simple : il s'appuie sur une enzyme qui révèle la présence d'une liaison entre un antigène et un anticorps. Lorsque cette enzyme entre en action, elle transforme un substrat incolore en un produit coloré, ce qui permet de visualiser facilement si la réaction a eu lieu (Ma, Shieh, & Lee, 2006).

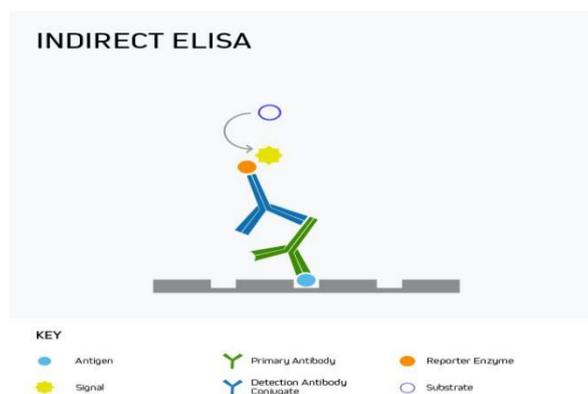


Figure 26 : principe de ELISA indirecte (Lewis & easthope, 2023).

### c) Le test d'hémagglutination de l'inhibition (IHA) :

Ce test repose sur un phénomène où une protéine virale appelée hémagglutinine se fixe aux globules rouges de poulet en se liant aux sites d'acide sialique à leur surface, provoquant leur agglutination. Lorsque des anticorps spécifiques sont présents dans le sérum testé, ils vont se lier aux sites antigéniques de l'hémagglutinine, empêchant ainsi l'agglutination des globules rouges. C'est cette action de blocage du phénomène d'agglutination qui forme la base du test d'hémagglutination indirecte (IHA) (APHA science services, 2020).

### 3. La biologie moléculaire :

L'introduction des techniques de biologie moléculaire a profondément transformé la façon dont on diagnostique les maladies chez les volailles. Ces outils permettent de détecter de manière rapide et précise les agents pathogènes parfois difficiles, voire impossible à isoler par les méthodes classiques comme les chlamydies ou les mycoplasmes. Parmi ces techniques, la plus utilisée est la PCR (polymerase chain reaction) (Guérin, Balloy, & Villate, 2011).

#### a) Principe de PCR :

La PCR vise à amplifier spécifiquement un segment d'ADN en vitro. Elle est capable d'identifier de l'ADN (provenant de bactéries ou de virus à ADN) ou de l'ARN (provenant de virus à ARN) (Guérin, Balloy, & Villate, 2011).

L'objectif est d'obtenir une quantité suffisante de cette séquence ciblée pour pouvoir la détecter et analyser facilement. Elle repose sur une réaction en chaîne comportant trois étapes répétées à chaque cycle :

- Dénaturation : séparation des deux brins d'ADN.
- Hybridation : fixation d'amorces spécifiques sur les séquences cibles.
- Polymérisation : synthèse des nouveaux brins d'ADN par une ADN polymérase.

Ces étapes sont réalisées à des températures précises, contrôlées automatiquement par un thermocycleur. Grâce à la répétition des cycles (généralement 30), l'ADN est amplifié de façon exponentielle en quelques heures seulement (Anonyme 04).



Figure 27 : un thermocycleur (Leboffe & Pierce, 2011).

#### 4. Avantages et limites des différentes techniques de laboratoire :

Tableau 5: avantage et limites des différentes techniques de laboratoire (Majo & Dolz, 2019).

Technique de laboratoire	avantages	Limites
Bactériologie	Elle permet d'obtenir des résultats assez rapidement et reste un outil très utile pour poser un diagnostic précis. L'un de ses principaux atouts est la possibilité de réaliser un antibiogramme, qui aide à choisir le traitement le plus adapté en fonction de la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques. Cela permet d'éviter les traitements inutiles ou inefficaces.	Elle n'est pas toujours simple à mettre en œuvre. Elle demande parfois un savoir-faire particulier, Toutefois, cette technique a aussi ses limites : elle exige parfois une certaine technicité, surtout pour la culture de bactéries délicates à isoler, comme <i>Ornithobacterium</i> , ce qui peut compliquer l'analyse dans certains cas. (Villate,2001).
Sérologie	Elle est pratique car elle ne demande qu'un simple prélèvement sanguin, facile à réaliser sur le terrain. Les kits ELISA sont simples d'utilisation, adaptés au travail de routine en laboratoire. Cette méthode permet d'analyser plusieurs échantillons en même temps. Elle reste aussi économique, ce qui la rend idéale pour le suivi sanitaire en élevage	Elle présente certaines limites, notamment l'interprétation délicate des résultats en cas d'infection ancienne ou après vaccination. Elle détecte les anticorps, sans distinguer si l'exposition est récente ou passée. Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps est donc nécessaire. Cela peut compliquer le diagnostic dans certains contextes
Biologie moléculaire(PCR)	La PCR est un outil très rapide, ce qui permet d'avoir des résultats en peu de temps. Elle est aussi extrêmement précise : elle cible exactement l'agent recherché, sans confusion. En plus, elle peut mesurer la quantité de cet agent, ce qui est utile pour évaluer la gravité de l'infection. C'est une méthode fiable et très utilisée en diagnostic moderne.	Bien qu'efficace, elle reste une technique coûteuse, ce qui peut limiter son utilisation en routine. Elle nécessite un laboratoire bien équipé, pas toujours disponible dans tous les contextes. De plus, le personnel doit être formé pour manipuler des équipements sensibles. Ces contraintes peuvent freiner son accessibilité sur le terrain.

**LA PARTIE EXPERIMENTALE :**

### 1. Lieu et période de L'étude :

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire vétérinaire aviaire "KARA.LAB" qui se situe à Blida, Bni-Tamou, elle s'est déroulée en deux périodes du 3 au 10 juillet 2024, puis du 22 janvier au 9 avril 2025. Et elle a porté sur différents cas cliniques provenant d'élevages avicoles répartis sur différentes régions.

### 2. Objectif de l'étude :

L'objectif principal de ce travail est de mettre en œuvre et valoriser le rôle de diagnostic laboratoire dans les élevages aviaires, en mettant en avant les méthodes les plus utilisées et leur rôle dans l'identification des maladies, tout en soulignant leurs avantages et leurs limites. L'idée est aussi de sensibiliser les jeunes vétérinaires à investir dans ce domaine encore peu exploité mais prometteur.

### 3. Matériels :

- Matériel d'autopsie et prélèvement :

- Tables d'autopsie en inox lavable, facile à désinfecter.
- Gants jetables pour éviter les contaminations.
- Blouse spéciale d'autopsie.
- Seringue pour l'euthanasie.
- Chalumeau pour la stérilisation.
- Scalpels stériles.
- Ciseaux chirurgicaux.
- Pincettes anatomiques.
- Pots de prélèvement.
- Tubes à essai stériles.
- Ecouillons stériles
- Serviettes en papier.
- Contenant à déchets biologiques.
- Solution désinfectante.
- Fiches d'identification des carcasses et prélèvements.
- Stylos et marqueurs pour étiqueter les échantillons.

- Matériel de diagnostic bactériologique.

- Incubateurs.
- Frigo pour la conservation.
- Autoclaves.
- Bain- marie.
- Densitomètre.
- Microscopes optiques.
- Kits de coloration de gram.
- Lames propres et porte lames.
- Bec bunsen et chalumeau.
- Anses de platines, pipettes, pincettes, écouillons.
- Milieux de culture.
- Boîtes de pétri stérile.
- Disques d'antibiotiques.
- Galeries biochimiques miniatures.

- Réactifs complémentaires pour tests catalase, oxydase, mobilité, indole, urée, etc.
  - Minuteurs.
  - Désinfectants.
  - Gans jetables pour éviter les contaminations.
  - Blouses.
- Matériel de diagnostic sérologiques :
    - Frigo pour la conservation.
    - Centrifugeuses.
    - Portoirs pour tubes.
    - Micropipettes automatiques.
    - Minuteurs.
    - Kits ELISA spécifiques (selon la maladie)
    - Plaques à 69 puits.
    - Lecteur ELISA.
    - Laveur de plaques ELISA.
    - Tampons et solution de lavage.
    - Les ordinateurs.
    - Gans jetables
    - Blouses

#### 4. Etude de cas cliniques rencontrés en laboratoire :

##### Cas 01 : colibacillose chez les poulets de chair

###### a) Information générale :

Nous avons reçu au laboratoire **2 cadavres de poulets de chair ainsi que trois sujets vivants** (euthanasié sur place par injection d'alcool au niveau crânien), envoyée par un vétérinaire.

L'élevage concerné compte 5000 poulets **âgée de 5 semaines**, située à Tawarga – Tizi-Ouzou et présente une mortalité quotidienne depuis une semaine.

Les animaux étaient accompagnés d'une fiche de demande d'analyse aviaire, la demande visait une recherche bactériologique ciblée avec réalisation d'un antibiogramme, à la suite de l'observation de signes cliniques et de lésions évocatrices d'une infection systémique.

###### b) Autopsie :

- Examen externe :

Les animaux présentaient un état général altéré avec abattement marquée, le plumage était ébouriffé et une dyspnée était notée

- Examen interne :

L'autopsie révèle une péri hépatite, péricardite fibrineuse, une péritonite ainsi qu'une aérosacculite marquée caractérisé par des sacs aériens épaissis.



Figure 28 : péricardite fibrineuse (Hadj-Arab,2025).



Figure 29 : aérosacculite (Hadj-Arab,2025).

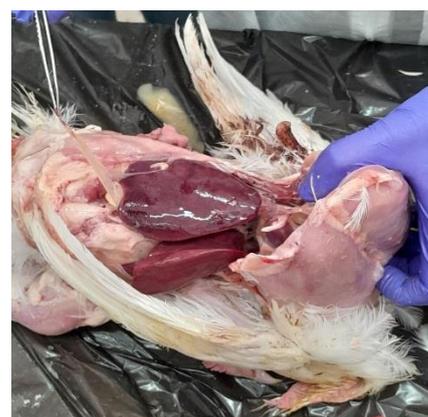


Figure 30 : péri hépatite (Hadj-Arab,2025).

- Prélèvement :

Les instruments (ciseaux, pinces, scalpel) doivent être stériles pour éviter toute contamination des échantillons. Pour cela les instruments ont été plongés dans l'alcool, puis flambés dans l'alcool à l'aide de chalumeau. Après extinction de la flamme les instruments ont été laissés refroidir quelque seconde.

Chaque cœur a été prélevé est placé dans un pot de prélèvement stérile préalablement étiqueté et envoyé vers l'analyse bactériologique.

### c) Analyse bactérienne :

- Isolement de bactérie :

Le milieu DK (Drigalski) a été utilisé, conçu pour différencier les bactéries selon leur capacité à fermenter le lactose.

- L'anse de platine a été stérilisée par passage dans la flamme du bec Bunsen, puis laissée à refroidir quelques secondes.
- Une petite quantité d'échantillon a été prélevée.
- L'échantillon a été étalé sur la gélose à proximité de la zone du bec Bunsen, selon la méthode de striage en quadrants afin d'isoler les colonies.
- Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

- Observation macroscopique des colonies:

Le deuxième jour, nous avons observé que les colonies étaient jaunes, rondes, lisses, brillantes, légèrement surélevées et de taille moyenne. Le milieu de gélose est devenu jaunâtre, ce qui indique une **fermentation du lactose**.

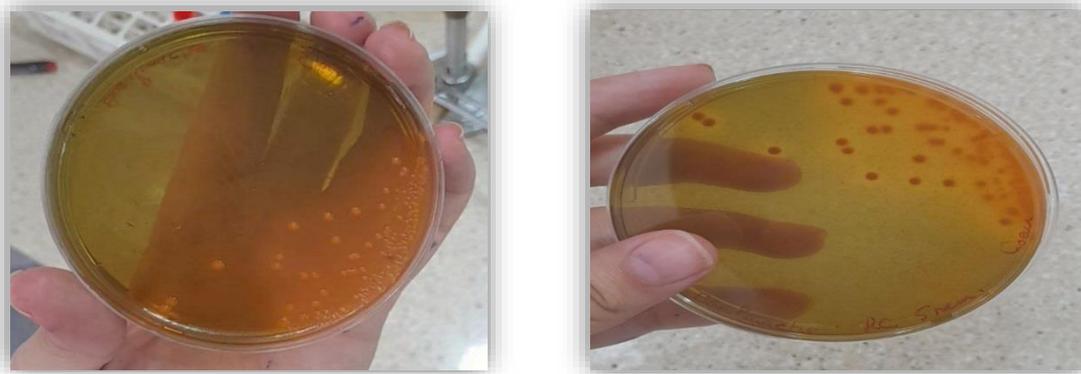


Figure 31 : observation macroscopique de bactérie isolée (Hadj-Arab,2025).

- Antibiogramme classique :

La préparation d'une suspension bactérienne standardisée a été réalisée. Quelques colonies bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile, puis introduites dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile. L'excès d'inoculum a ensuite été éliminé par pression sur les bords du tube. L'objectif était d'obtenir une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 McFarland. Bien que la mesure puisse être faite à l'aide d'un densitomètre, une comparaison visuelle avec un témoin a été préférée pour des raisons de praticité. La densité a ainsi été ajustée par ajout d'eau physiologique ou de colonies, jusqu'à obtention d'une suspension visuellement similaire à l'étalon.



Figure 32 : suspension bactérienne à 0,5 McFarland (Hadj-Arab,2025).

Une fois la suspension prête, l'ensemble de la surface d'une gélose Mueller-Hinton (MH) a été ensemencé à l'aide d'un écouvillon stérile, en réalisant quatre passages croisés afin d'assurer une répartition homogène. La gélose a ensuite été laissée à sécher pendant 3 à 5 minutes.

Les disques antibiotiques — Amoxicilline (25 µg), Triméthoprim + Sulfaméthoxazole (1,25 µg), Tétracycline (30 µg), Colistine (10 µg), Ofloxacin (5 µg), Chloramphénicol (5 µg), Gentamicine (10 µg), Pénicilline (10 µg), Acide nalidixique (30 µg), Doxycycline (30 µg), Ampicilline (10 µg), Lincomycine (2 µg), Nitrofurantoin (100 µg) — ont été déposés à l'aide d'une pince stérile, puis laissés en place pendant 5 minutes.

Enfin, les boîtes de Pétri ont été placées en incubateur à 37 °C pour une durée de 24 heures.

**Lecture :**

Les résultats ont montré une résistance significative à plusieurs antibiotiques, dont les bêta-lactamines (amoxicilline, ampicilline, pénicilline), la tétracycline, la doxycycline et la colistine, un antibiotique de dernier recours. Cependant, la souche était sensible à la gentamicine, à l'ofloxacine, au chloramphénicol et à la nitrofurantoïne, qui pourraient constituer des options thérapeutiques efficaces.

- Identification bactérienne :

- Coloration de Gram :

Afin d'identifier le type de bactéries isolées (Gram positives ou Gram négatives), un frottis bactérien a été préparé sur une lame propre à partir d'une colonie prélevée à l'aide d'une anse. La colonie a été étalée dans une goutte d'eau physiologique, puis fixée à la flamme (2 à 3 passages rapides) pour permettre l'adhérence des bactéries.

La lame a ensuite été rincée doucement à l'eau. Le violet de gentiane a été appliqué pendant 1 minute, suivi du lugol (agent fixateur du colorant) pendant également 1 minute. Après chaque étape, un rinçage délicat à l'eau a été effectué.

La phase de décoloration s'est faite avec de l'alcool pendant une trentaine de secondes, ce qui est une étape délicate pour ne pas fausser le résultat. Ensuite, nous avons appliqué la fuchsine, qui est le colorant de contre-coloration, pendant une minute. La lame a été laissée à sécher à l'air libre, puis observée au microscope à immersion.

- **Observation microscopique :**

À l'objectif  $\times 100$ , l'examen du frottis coloré selon la méthode de Gram montre une abondance de bacilles teints en rose, cela indique que ces bactéries sont **Gram négatif**, car elles n'ont pas retenu le violet de gentiane après la décoloration à l'alcool.



Figure 33 : observation microscopiques après coloration de Gram (Hadj-Arab,2025).

- Identification biochimique :

- **Test de production de gaz et de H<sub>2</sub>S (gélose TSI) :**

Nous avons utilisé le milieu TSI (Triple Sugar Iron), une gélose inclinée contenant trois sucres fermentescibles (glucose, lactose et saccharose), ce milieu permet la détection de la production de gaz et de H<sub>2</sub>S à partir de la dégradation de composés soufrés.

La souche a été inoculée en piquant le fond du tube (partie anaérobie) puis en striant la surface de la pente (partie aérobie) à l'aide d'une anse stérile. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, nous avons observé les résultats suivants : la pente prend la couleur jaune signifie lactose et saccharose positif

Production de gaz : **positif** (un léger soulèvement du milieu a été constatés dans la partie inférieure du tube, indiquant une production positive de gaz lors de la fermentation).

Production de H<sub>2</sub>S : **néгатif** (aucun noircissement du milieu n'a été observé, ce qui témoigne d'une absence de production de sulfure d'hydrogène).



Figure 34 : profil biochimique sur milieu TSI (Hadj-Arab,2025).

#### ➤ Test d'uréase et indole :

Nous avons utilisé un **bouillon combiné urée-indole**, qui permet de réaliser ces deux tests biochimiques.

La souche bactérienne a été inoculée dans le bouillon, puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Après incubation on a noté :

- Pour le test de l'**urée** : **aucun changement de couleur** du bouillon n'a été observé. Le milieu est resté jaune à orange, ce qui indique un résultat **néгатif**
- Pour le test d'**indole** : après ajout de quelques gouttes de **réactif de Kovacs**, un **anneau rouge** s'est formé à la surface du liquide. Ce résultat est **positif**.



Figure 35 : le test d'indole positif (Hadj-Arab,2025).

#### ➤ Test d'oxydase:

Nous avons utilisé un disque oxydase. À l'aide d'une pipette stérile, une colonie cultivée a été prélevée puis déposée sur la bandelette. Après quelques secondes d'attente, aucun changement de couleur n'a été observé, indiquant un résultat **néгатif**.

#### ➤ Teste de catalase :

Pour réaliser ce test, une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3 % a été déposée sur une lame de microscope propre. À l'aide d'une anse stérile, une colonie fraîche a ensuite été transférée dans la goutte. Une mousse immédiate s'est produite, témoignant de la libération de bulles d'oxygène. Ce résultat indique une réaction **positive**.

L'ensemble des résultats biochimiques obtenus lors des tests préliminaires (uréase -, indole+, production de gaz, H<sub>2</sub>S -, oxydase -et catalase+), la fermentation de lactose et la coloration gram-négative a permis de dresser un profil typique **d'E. coli**, membre de la famille des *Enterobacteriaceae*.

Pour confirmer cette identification présomptive, une galerie API 20E a été utilisée. Spécifiquement conçu pour l'identification des Entérobactéries.

- **Identification par galerie API 20 E :**

La première étape a consisté à préparer les conditions favorables à l'incubation en créant une atmosphère humide. Pour cela, environ 5ml d'eau distillé ont été répartis au fond de la boîte d'incubation. On a ensuite étiqueté les données de prélèvement sur la languette latérale.

La galerie été placé à l'intérieur de la boîte d'incubation, puis l'incubation a été entamée, La suspension bactérienne utilisée pour cette étape provenait de celle préparée précédemment pour la réalisation de l'antibiogramme.

À l'aide d'une pipette, les tests CIT, VP et GEL ont été remplis entièrement, aussi bien au niveau du tube que de la cupule, pour les autres tests, seul le tube central a été rempli, sans toucher à la cupule.

Une étape essentielle a ensuite été réalisée pour les tests nécessitant des conditions anaérobies (ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE) : une couche d'huile de vaseline a été ajoutée dans les cupules correspondantes, permettant ainsi de limiter l'exposition à l'air et de favoriser le développement des réactions attendues.

Enfin, la boîte d'incubation a été soigneusement refermée, puis placée en étuve à 37°C pendant 24h

➤ **Lecture de galerie après 24h :**

Après incubation on a ajouté les réactifs comme suit :

Puit TDA : Une goutte de réactif TDA.

Puit IND : Une goutte de réactif de Kovacs.

Puit VP : Une goutte de réactif de VP1 puis VP2 et on attend 10min.

Nous avons fait la lecture des réactions (positives ou négatives) en fonction des variations des couleurs.



Figure 36 : galerie API 20E après incubation (Hadj-Arab,2025).

▪ **Lecture :**

Tableau 6: lecture de galerie API 20E ,cas01 :

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-

Ces résultats sont typiques de **Escherichia coli**.

- Sérotypage :

La souche de E coli peut être sérotypée à l'aide de méthode d'agglutination sur lame qui repose sur l'interaction entre des anticorps spécifiques présent dans les réactifs et les antigènes de la paroi bactérienne.

Une goutte d'eau physiologique a d'abord été placée sur une lame, puis mélangée avec une colonie bactérienne afin de vérifier la présence éventuelle d'une auto-agglutination.

Des gouttes de réactifs (O1, O2, O78) ont ensuite été déposées sur une lame. Trois à quatre colonies ont été prélevées puis mélangées à chaque réactif pendant quelques secondes.

Enfin, des mouvements de rotation ont été effectués avec la lame pour permettre l'observation de l'agglutination à l'œil nu.

L'agglutination était positive uniquement avec le sérum O1, la souche est identifiée comme **E. coli sérotype O1**.

### **Cas 02 : colibacillose chez poussin de 7 jours et 15 jours.**

#### **a) Informations générales :**

Des échantillons nous ont été envoyés au laboratoire par un élevage avicole situé à Eucalyptus, dans la région d'Alger. L'élevage en question occupe une surface d'environ un hectare et abrite des poussins en phase de croissance.

Les prélèvements reçus concernaient deux groupes de poussins : l'un âgé de 15 jours et l'autre de 7 jours. Les organes envoyés pour analyse étaient le cœur et le foie, et la demande portait spécifiquement sur la recherche de Escherichia coli, une bactérie bien connue pour causer la colibacillose, fréquente chez les jeunes volailles.

#### **b) Analyses bactériennes :**

- Décongélation des prélèvements :

Les échantillons ont été reçus congelés à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Afin d'assurer une bonne qualité d'analyse et préserver les caractéristiques des micro-organismes, ils ont d'abord été placés à  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  pour une décongélation progressive. Une fois partiellement décongelés, ils ont été laissés à température ambiante sur la paille, jusqu'à ce qu'ils soient prêts à être traités.

- Isolement de bactérie :

Après décongélation, des portions des organes ont étéensemencées sur un milieu Hektoen (HK). Ce milieu est conçu pour différencier certaines entérobactéries, notamment par leur capacité à fermenter le lactose.

Après incubation pendant 24h à 37°C, nous avons observé la formation de colonies de couleur orange saumon, ce qui indique une fermentation du lactose — un indice qui oriente déjà vers la présence possible de *E. coli*.

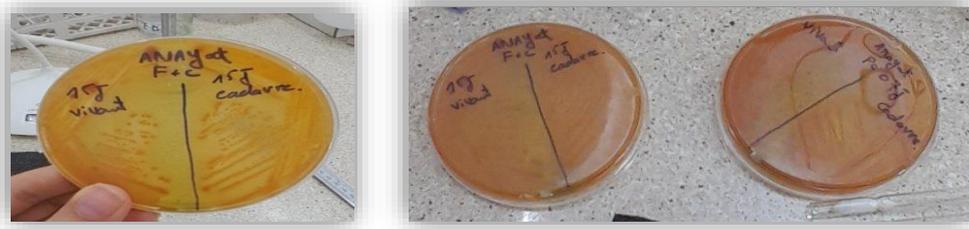


Figure 37 : isolement de bactérie sur milieu HK (Hadj-Arab,2025).

- Identification de bactérie :
- **Coloration de Gram :**

Une coloration de Gram a ensuite été réalisée à partir des colonies suspectes. L'observation microscopique a révélé des bacilles Gram négatifs, apparaissant en rose, ce qui correspond bien aux bactéries du genre *Escherichia*.

- **Tests biochimiques :**

Pour affiner l'identification, plusieurs tests biochimiques ont été réalisés :

- **Ensemencement sur gélose TSI :**
  - Culot jaune, pente jaune et espace intermédiaire jaune, indiquant une fermentation complète des sucres.
  - Soulèvement de gélose indique production de gaz.
  - Production de  $H_2S$  : pas de production de  $H_2S$
- **Test de l'urée :** négatif
- **Test de Indole :** positif
- **Test Oxydase :** négatif

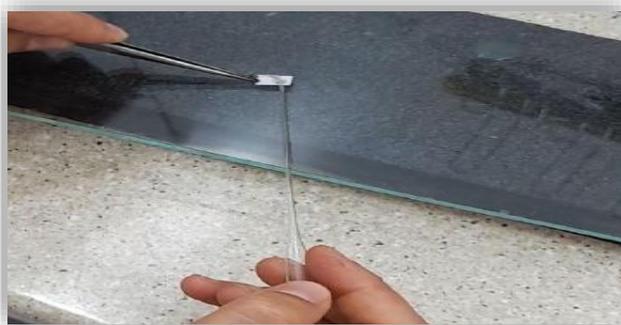


Figure 38 : test oxydase négatif (Hadj-Arab,2025).

- **Test Catalase :** positif

Ces résultats correspondent aux caractéristiques typiques de *Escherichia coli*.

- **Galerie biochimique API 20E :**

Tableau 7: lecture de galerie API 20 E, cas02

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-

Une galerie API 20E a été utilisée pour confirmer l'identité du germe. Le profil obtenu correspondait à celui de Escherichia coli, confirmant les résultats obtenus précédemment.

- Sérotypage :



Figure 39 : sérotypage de E. coli non typable (Hadj-Arab,2025).

Enfin, un test de sérotypage a été effectué en utilisant les antigènes O 1, 2 et 3. Aucun phénomène d'agglutination n'a été observé, ce qui indique que la souche isolée est **non typable**. Ce type de souche peut être associé à des formes plus virulentes de E. coli, souvent responsables de pathologies sévères, en particulier chez les jeunes sujets.

### CAS 03 : Mycoplasmoses chez les dindes.

#### a) Informations générales :

Nous avons reçu 10 dindes vivants âgées de 55 semaines, provenant d'un élevage à région de Médéa. Les animaux étaient vaccinés, à l'exception de la vaccination contre les mycoplasmes. Un traitement antibiotique avait été administré, comprenant la doxycycline et la Tylosine.

Les symptômes généraux : les oiseaux étaient prostrés, avec poiles hérissées et des râles trachéaux depuis 4 jours et taux de mortalité était élevée.

#### b) Prélèvement de sang :

Après l'immobilisation de l'animal et extension de l'aile, nous avons incisé la veine alaire avec un bistouri stérile puis le sang a été collecté par un écoulement libre directement dans des tubes stériles.

#### c) Autopsie :

Après l'euthanasie on a réalisé un examen macroscopique et observé certaines lésions

- **Examen externe** : - présence de fracture visible au niveau des pattes dans un seul cas
- **Examen internes** : - hépatite : congestion des foies avec des dépôts de fibrine en surface.
  - Présence de nécroses hépatiques multifocales et localisées.

- Présence d'une péritonite fibrineuse dans quelques cas.



Figure 40 : foyer de nécrose hépatique multifocale (Hadj-Arab,2025).



Figure 41 : foyer de nécrose hépatique localiser (Hadj-Arab,2025).



Figure 42 : congestion de foie avec dépôts de fibrine en surface (Hadj-Arab,2025).

- **Diagnostic** : au vu des lésions observées et du statut vaccinal, l'hypothèse d'une infection à mycoplasmes a été privilégiée.

d) Diagnostic laboratoire :

La culture bactérienne des mycoplasmes n'a pas été réalisée, en raison de sa durée longue, de ses exigences spécifiques.

Alors, la méthode d'agglutination rapide sur lame a été choisie pour détecter les anticorps dans les échantillons de sang prélevés. Cette technique permet un diagnostic rapide et orientatif.

• Méthode utilisée :

Les échantillons de sang ont été centrifugés pour obtenir le sérum.

Sur une lame stérile, nous avons déposé une goutte d'antigène *Mycoplasma gallisepticum* (MG) et une autre de *Mycoplasma synoviae* (MS).

Et pour garantir la fiabilité des résultats, 4 sérums témoins ont également été déposés sur la même lame (sérum de référence). À côté de chaque goutte, une goutte de sérum a été ajoutée.

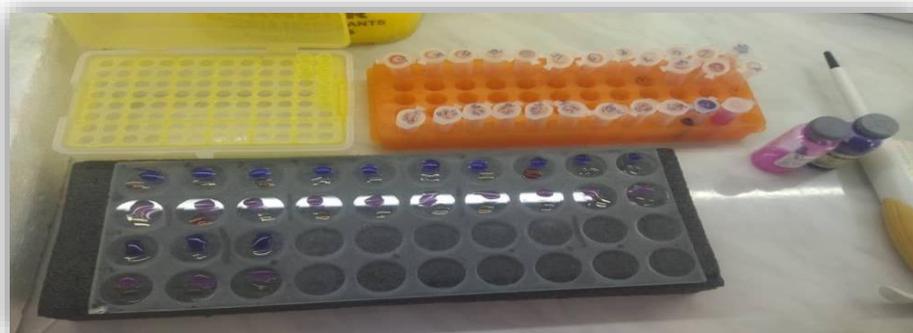


Figure 43 : méthode d'agglutination rapide sur lame) (Hadj-Arab,2025).

Les mélanges ont été homogénéisés à l'aide d'une anse, stérilisée entre chaque sérum. Ensuite, la lame a été agitée par des mouvements circulaires pendant 3 minutes.

- Lecture :

La réaction **positive** d'agglutination été observé rapide et franche avec l'antigène *m. gallicepticum*, cela signifie la présence d'anticorps spécifiques.

Ce résultat confirme une infection par *Mycoplasma gallisepticum*.

#### Cas 04 : contrôle d'assainissement chez poussins d'un jour :

##### a) **Information générale :**

Un éleveur avicole ayant précédemment rencontré une épisode d'infection à salmonelle (paratyphose) dans son lot a entrepris un protocole complet d'assainissement de son bâtiment d'élevage (nettoyage, désinfection, vide sanitaire...)

Après repeuplement avec nouveau lot de **poussins âgée d'un jour**, l'éleveur a souhaité effectuer un contrôle bactériologique pour vérifier l'efficacité de désinfection et absence de réinfection par des bactéries pathogènes.

##### b) Prélevement sanguin :

- Technique utilisé :

Nous avons choisi d'euthanasier les 20 poussins par décapitation, Donc on a procédé à l'euthanasie en leur coupant proprement la tête à l'aide de ciseaux propres et stérilisés. Le sang total a été prélevé directement de l'effluent dans des tubes, en veillant à éviter les bulles d'air et la contamination. Les échantillons ont ensuite été laissés à température ambiante pour coagulation, puis centrifugés afin d'obtenir du sérum pour analyse sérologique.

##### c) **Prélèvement d'organes :**

- Technique utilisé:

Nous avons d'abord dépouillé de la carcasse afin d'éviter toute contamination externe. La carcasse a ensuite été placée quelques secondes à la flamme de chalumeau afin de stériliser sa surface externe. Cette étape a permis de réduire le risque de contamination croisée lors de l'ouverture.

Devant la zone de bec bunsen, nous avons ensuite soigneusement ouvert la cavité abdominale de chaque sujet à l'aide d'instruments stériles afin de prélever les principaux organes cibles pour la recherche d'agents pathogènes, notamment : Poumons, Reins, Foie, Rate, Cæcum Partie de l'intestin grêle, Cœur. Chaque organe a été soigneusement prélevé.

Tous les instruments ont été stérilisés entre chaque prélèvement afin d'éviter toute contamination croisée.

##### d) **Isolement des bactéries :**

- Technique utilisé:

- **Foie :** des portions du foie a été directementensemencée sur différents milieux de culture :
  - La gélose de Drygalski (DK) pour la recherche de bactéries Gram négatif.
  - Le milieu TSA+C pour mettre en évidence les *Staphylococcus spp.*

- **Poumons** : de petits fragments ont été déposés sur de la gélose de Sabouraud pour détecter la présence de champignons (levures, moisissures).



Figure 44 : Ensemencement de fragments pulmonaires sur milieu de culture pour la recherche de champignons(Hadj-Arab,2025).

- **Un mélange** broyé d'organes internes (intestin, cæcum, foie, rate) a étéensemencé sur plusieurs milieux de culture :
  - La gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) sélective pour Salmonella et Shigella,
  - La gélose de Drigalski (DK) pour les bactéries Gram négatif.
  - La gélose MH pour rechercher les *Pseudomonas spp.*
  - La gélose TSA+C pour les bactéries gram positif comme *Staphylococcus spp.*

Tous les milieux ont été incubés à 37°C pendant 24h.

- Lecture des résultats :

Sur la gélose de Drigalski (DK) : les échantillons de foie et de mélange d'organes ont montré absences de colonies de bactéries Gram négatif. La lecture indique une culture **négative**.

Sur la gélose TSA + C : avec les mêmes échantillons, aucune colonie n'a été observée, la culture est donc **négative**.

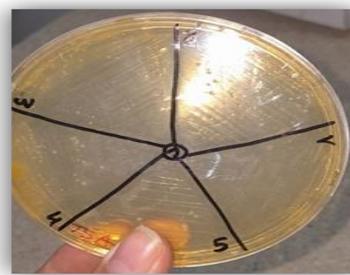


Figure 45 : résultat d'isolement bactérien sur milieu DK et TSA+C après l'incubation (Hadj-Arab,2025).

La gélose XLD : avec un échantillon de mélange d'organes n'a montré ni colonie noire (caractéristique de Salmonella) ni colonie transparente (Shigella), indiquant une culture **négative**.

La gélose MH (Mueller-Hinton) avec le même échantillon n'a montré aucune croissance bactérienne, confirmant une culture **négative** (absence de Pseudomonas spp.).



Figure 46 : résultat d'isolement bactérien sur milieu MH et XLD après l'incubation(Hadj-Arab,2025).

La gélose de Sabouraud avec un échantillon de poumon n'a montré aucune croissance fongique (ni levures ni moisissures) a démontrant une culture **négative**.

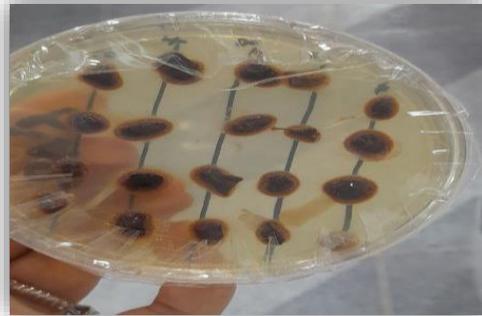


Figure 47 : résultat d'isolement bactérien sur milieu SAB après l'incubation(Hadj-Arab,2025).

En conclusion, tous les résultats des différents milieux de culture sont négatifs, suggérant une absence de pathogènes bactériens ou fongiques dans les échantillons analysés, ce qui appuie l'hypothèse d'un bon protocole d'assainissement et d'absence de réinfection.

#### e) Examen sérologique

Les échantillons de sang ont été centrifugés afin de séparer les sérums. Le sérum obtenu a été transféré dans d'autres tubes stériles pour un examen d'agglutination rapide sur lame.

- Le technique utilisé :

Sur une lame propre et stérile, une goutte de chaque antigène spécifique (Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae, salmonella enteritidis, salmonella gallinarum.) a été déposée séparément.

Ensuite, une goutte de sérum à tester a été ajoutée à coté de chaque antigène. À l'aide d'une anse le sérum et l'antigène ont été bien mélangés puis la lame a été doucement agitée en mouvement circulaires et observer l'agglutination.



Figure 48 : réalisation d'un test d'agglutination rapide sur lame(Hadj-Arab,2025).

- Résultat :

Tous les échantillons testés se sont révélés **négatifs**, ce qui indique l'absence d'anticorps spécifiques dans le sérum des poussins au moment du test. Ceci témoigne d'un bon statut sanitaire du lot.

#### Cas 05 : salmonellose chez poulets de chair :

- a) Information générale :

On a reçu 10 poulets de chair âgés de 27 semaines. D'un élevage situé à Azazga Tizi Ouzou, à la suite d'une mortalité anormale observée dans un lot de 10 000 sujets, pour la recherche de salmonelles.

- b) Autopsie :

Les principales lésions constatées incluent :

- Examen externe : une pâleur marquée des appendices de certains sujets.



Figure 49 : une pâleur marquée des appendices(Hadj-Arab,2025).

- Examen interne : un œdème sous cutané dans un seul cas, un exsudat fibrineux dans le péritoine (péritonite fibrineuse), ainsi qu'une hypertrophie de thymus.



Figure 50 : une hypertrophie de thymus(Hadj-Arab,2025).



Figure 51 : un œdème sous cutané(Hadj-Arab,2025).

- Prélèvement :

On a prélevé les foies et les ceacums sous des conditions stériles et les envoyés vers l'analyse bactériologique.

- **c) Analyse bactérienne :**

- Préparation d'échantillon :

Une étape de pré-enrichissement est essentiel ainsi, les échantillons ont d'abord été mis en culture dans de l'eau peptonée tamponnée, puis incubés pendant 24h à 37°C

Par la suite, un enrichissement sélectif a été réalisé en transférant une partie du pré-enrichissement dans un bouillon au sélénite-cystéine, incubé 42°C pendant 24h

Après l'incubation un ensemencement sur milieu sélectifs d'isolement a été effectué notamment sur MacConkey et Hektoen et incubé à 37°C pendant 24h.

- **Lecture :**



Figure 52 : Les colonies de salmonelles suspectes sur gélose MacConkey(Hadj-Arab,2025).

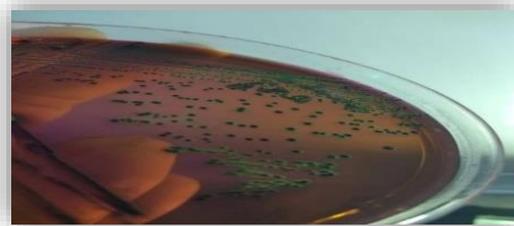


Figure 53 : Les colonies de salmonelles suspecte sur gélose Hektoen. (Hadj-Arab,2025).

- Les colonies suspectes sur MacConkey apparaissent transparentes (non-lactose fermentantes).
- Les colonies suspecte sur Hektoen verte à centre noir (production de H<sub>2</sub>S)

- **Coloration de Gram :**

Une coloration de Gram a ensuite été réalisée à partir des colonies suspectes. L'observation microscopique a révélé des bacilles Gram négatifs, apparaissant en rose, ce qui correspond bien aux bactéries du genre salmonelles.

- Identification biochimique:

- **Test sur gélose TSI :**

Après l'ensemencement et incubation des colonies sur la Gélose TSI inclinée on a trouvé une fermentation du glucose (fond jaune), une absence de fermentation du lactose et saccharose (inclinaison rouge), la production de gaz (bulles de gaz) et la formation de H<sub>2</sub>S (noircissement du fond du tube).



Figure 54 : résultat de Test sur gélose TSI après incubation (Hadj-Arab,2025).

- **Teste d'oxydase:**

À l'aide de papiers imprégnés de réactif on a observé l'absence de coloration violette signifie un test **négatif**.

- **Teste de catalase :**

Après l'ajoute de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sur une colonie. L'apparition des bulles de gaz confirme un résultat **positif**.

- **Teste de mobilité :**

La mobilité a été évalué à l'aide d'un milieu semi solide mannitol-mobilité, ce milieu de culture permet d'identifier la fermentation du mannitol et Mobilité bactérienne

La fermentation du mannitol a été mise en évidence par un changement de couleur du milieu, passant au jaune, indiquant ainsi une acidification.

La mobilité bactérienne a été observée par la propagation des bactéries à partir du point d'inoculation, créant un trouble dans le milieu.

- **Teste d'urée indole :**

Pour le test de l'urée : aucun changement de couleur du bouillon n'a été observé. Le milieu est resté jaune à orange, ce qui indique un résultat **négatif**

Pour le test de l'indole : après ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs, on n'a pas observé une formation d'un anneau rouge à la surface du liquide. Ce résultat est **négatif**.

- **Identification biochimique par galerie API 20 E :** On a obtenu le résultat suivant :



Figure 55 : lecture de galerie API 20 E (Hadj-Arab,2025).

Tableau 8: lecture de galerie API 20 E, cas04.

ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	IND	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-

Ce résultat est typique de salmonelle.

- **Sérotypage :**

Nous avons mis au point une méthode de sérotypage de Salmonelle basée sur l'agglutination sur lame.

Le test d'auto-agglutinassions s'est révélé **négatif**, confirmant la typabilité de la souche.

Ensuite, nous avons déposé une goutte d'antisérum OMA sur une lame, ajouté une colonie bactérienne et effectué des mouvements circulaires pour mélanger le tout, le test été **positif** : une agglutination a été observée, indiquant la présence d'antigènes somatiques.

Nous avons ensuite testé l'antigène O4-5, qui s'est révélé **négatif** et exclut les sérovars du groupe B.

En revanche, le test avec l'antigène O9 s'est révélé **positif**, confirmant l'appartenance de la souche au groupe D.

Pour l'identification des antigènes flagellaires, nous avons utilisé l'antisérum H:g,p,m, qui a donné une agglutination **positive**, révélant la présence de flagelles spécifiques à certains sérovars du groupe D.

L'ensemble de ces résultats (O9 et H:g,p,m) correspond au profil antigénique de **Salmonella Enteritidis**.

### Cas 06 : ostéoporose chez poules pondeuses

#### a) Informations générales :

Le laboratoire a reçu pour analyse trois carcasses de **poules pondeuses** issues d'un élevage **intensif** situé à Boumerdes. D'un affectif de **60 000** âgées de **26 semaines** Ces sujets ont été retrouvés morts, accompagnés d'un plateau d'œufs anormaux, dont tous étaient des **œufs mous** et **sans coquille**, ce qui suggère une anomalie liée à la formation de la coquille calcaire.



Figure 56 : des œufs mous ou sans coquille (Hadj-Arab,2025).

#### b) Autopsie :

- **L'examen post-mortem des carcasses :** a révélé les éléments suivants :
  - Ascite (accumulation de liquide dans la cavité abdominale)
  - Péritonite fibrineuse généralisée
  - Altération importante des carcasses, témoignant d'un certain degré de dégradation post-mortem.

Ces signes, bien que non spécifiques, peuvent être observés dans divers contextes infectieux ou métaboliques. Toutefois, en raison de l'aspect des œufs et de la nature du lot (pondeuses), l'équipe vétérinaire a émis l'hypothèse d'une **ostéoporose aviaire**, aussi appelée syndrome de la fragilité osseuse, un trouble fréquent chez les pondeuses en fin de cycle.

- Prélèvement de moelle osseuse :

Afin d'exclure une éventuelle étiologie bactérienne, un prélèvement de moelle osseuse a été effectué dans des conditions aseptiques.

On a Désinfecté la peau externe et des tissus autour du fémur avec une solution d'alcool et prélever les 3 fumures.

Le prélèvement a été placé immédiatement dans un sac stérile et acheminé au sale de bactériologie pour analyse bactériologique.

### c) Analyses bactériologiques :

Les fémurs ont été flambés à la flamme d'un bec Bunsen, afin de stériliser la surface externe de l'os et limiter toute contamination externe lors de l'ouverture.

Après refroidissement, les os ont été ouverts manuellement à l'aide d'un ciseau stérile, en les cassant en deux dans le sens de la longueur, avec précaution.

Une fois la cavité médullaire exposée, la moelle osseuse a été prélevée à l'aide d'une anse stérile, en évitant tout contact avec les bords externes de l'os.



Figure 57 : prélèvement de moelle osseuse (Hadj-Arab,2025).

Les échantillons de moelle osseuse ont été ensemencés sur des milieux non sélectifs.

- Résultat des cultures :

Aucune croissance bactérienne n'a été observée après incubation. Ce qui écarte une cause infectieuse active.

En l'absence de croissance bactérienne et compte tenu de la présence d'œufs sans coquille, de l'état d'élevage, Le diagnostic de maladie métabolique à type d'ostéoporose aviaire reste l'hypothèse la plus probable. Ce trouble est souvent lié à une carence en calcium et vitamine D, un déséquilibre

phosphocalcique, ou une mauvaise gestion de la lumière et de l'alimentation dans les élevages de pondeuses.

### Cas 07 : coccidiose chez poulets de chair.

#### a) Informations générales :

Dans l'laboratoire on a reçu 5 animaux vivants, présentant un abattement marqué, des plumes hérissées, et des souillures fécales sanglantes au niveau du cloaque Le propriétaire signale une mortalité élevée survenue brusquement dans un lot de 15 000 poulets âgés de 35 jours.de région de Bouira, Plusieurs sujets montrent une diarrhée sanglante, un abattement, et une baisse de consommation alimentaire. Aucun traitement préventif anticoccidien n'a été administré depuis la mise en place.

#### b) Autopsie :

Ces animaux ont été euthanasiés afin de réaliser une autopsie complète

Lors de l'autopsie, l'intestin grêle — en particulier la portion jéjuno-iléale — présentait un aspect très évocateur :

Il était fortement distendu, avec une paroi épaisse.

On notait la présence de pétéchies visibles à travers la séreuse, donnant un aspect « poivre et sel ».



Figure 58 : présence de pétéchies visibles sur l'intestin grêle (Hadj-Arab,2025).

Le contenu intestinal était mêlé de sang et de mucus, confirmant un processus inflammatoire sévère, mais aucun dommage significatif n'a été constaté sur le foie, les intestins grêles ou les autres organes.



Figure 59 : contenu intestinal mêlé de sang et de mucus (Hadj-Arab,2025).

#### c) Le diagnostic :

L'ensemble de ces lésions est très caractéristique d'une coccidiose sévère, plus précisément liée à ***Eimeria necatrix***.

Aucune analyse de laboratoire complémentaire n'a été jugée nécessaire, les signes macroscopiques étant suffisants pour confirmer le diagnostic.

### Cas 08 : la grippe aviaire chez les dindonneaux

#### a) Informations générales :

Nous avons reçu 12 dindonneaux vivant âgés de 6 semaines. Provenant d'un élevage semi-intensif l'éleveur nous a contactée après qu'il a signalé un taux élevé de mortalité au sein d'un lot de 1500 sujets sans aucun traitement n'ait été tenté et aucun vaccin contre la grippe aviaire n'avait été administrés.

Les animaux étaient affaiblis avec un plumage ébouriffé et souillé.

#### b) Prélèvement de sang :

Avant de procéder aux autopsies, nous avons d'abord réalisé des prélèvements sanguins par la veine alaire sur les 12 dindonneaux encore vivants présents, afin de conserver des sérums pour une éventuelle analyse sérologique.

#### c) Autopsie : réalisé après l'euthanasie des sujets :

- Examen externe : l'examen a révélé un œdème faciale généralisé comprenant un gonflement de péri oculaires et les sinus infra orbitaire.



Figure 60 : un œdème faciale généralisé chez un dindonneau (Hadj-Arab,2025).

- Examen interne :

À l'ouverture des sinus, des bouchons caséux obstruant les voies nasales ont été observés, ainsi que la présence de pneumonies accompagnées d'une aérosacculite et de multiples pétéchies au niveau du proventricules.



Figure 61 : pétéchie proventriculaires (Hadj-Arab,2025).



Figure 62 : des bouchons caséoides obstruant les voies nasales (Hadj-Arab,2025).

#### d) Examen sérologique :

À la suite des résultats initiaux et devant les signes cliniques observés, l'hypothèse d'une infection par un **virus Influenza aviaire faiblement pathogène de type H9** a été envisagée. Pour confirmer cette suspicion, nous avons mis en œuvre un **examen sérologique basé sur le test d'hémagglutination-inhibition (IHA)**.

- Technique :

La première étape a consisté à séparer le sérum du caillot par centrifugation. Ce sérum constitue la base de l'analyse sérologique, car il contient potentiellement les anticorps spécifiques dirigés contre le virus H9.

Parallèlement, nous avons préparé la solution d'antigène viral de référence (souche VLDIA 119\_HAF\_INFH9). Cet antigène a été standardisé à une concentration de 4 unités d'hémagglutination (4 HAU), selon le protocole standard. Cette étape est essentielle pour garantir une réaction optimale entre les anticorps présents dans les sérums testés et l'antigène viral.

Sur une plaque, nous avons distribué les sérums numérotés de 1 à 12, chacun dans une rangée distincte. Chaque sérum a ensuite été soumis à une série de dilutions successives, ce qui permet d'évaluer la concentration exacte d'anticorps. Après cette étape, l'antigène dilué à 4 HAU a été ajouté à chaque puits contenant les dilutions de sérum.

Enfin, nous avons ajouté des globules rouges de poulet à 1 % dans chaque puits. La plaque a ensuite été incubée à température  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 30min, ce qui permet à l'éventuelle réaction d'inhibition de se produire.

Après incubation, la lecture a été réalisée en observant la présence ou l'absence d'agglutination. L'absence d'agglutination (inhibition) indique la présence d'anticorps spécifiques dans le sérum testé.

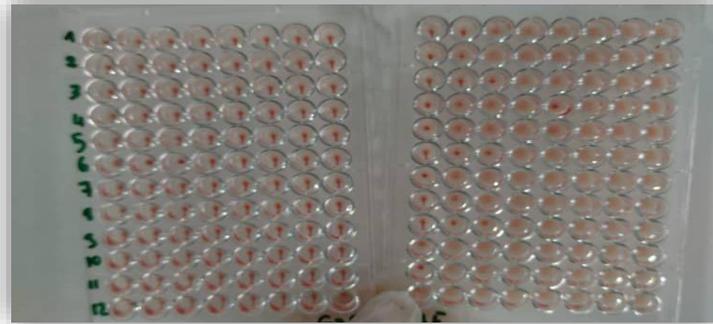


Figure 63 : lecture du test d'IHA sur microplaque après l'incubation (Hadj-Arab,2025).

Cette lecture nous a permis d'obtenir les titres suivants :

Tableau 9: lecture des titres de IHA test, cas08.

Sérums	Titres
1	1/512
2	1/512
3	1/1024
4	1/128
5	1/128
6	1/1024
7	1/252
8	1/252
9	1/1024
10	1/252
11	1/252
12	1/128
GMT log 2*	8,41

- Interprétation des résultats :

L'analyse par test d'hémagglutination-inhibition (IHA) de 12 sérums a révélé des titres compris entre 1/128 et 1/1024, tous au-dessus du seuil de positivité établi à 1/81 ( $\log_2 = 3$ ). Ces résultats indiquent la **positivité de tous les échantillons**, suggérant une exposition récente ou **une infection par le virus de l'influenza aviaire H9**.

Les titres élevés (allant jusqu'à 1/1024) observés chez plusieurs individus témoignent d'une réponse immunitaire marquée, en accord avec une circulation active du virus. La moyenne géométrique des titres (GMT) s'élève à 8,41  $\log_2$ , confirmant la présence significative du virus H9 dans l'échantillon analysé.

## Cas 09 : la maladie de new Castle chez poulet de chair :

### a) Informations générales :

Au laboratoire, nous avons été sollicités pour examiner un cas suspect de maladie de Newcastle dans un élevage de poulets de chair âgés de 3 semaines. L'éleveur avait signalé une mortalité progressive accompagnée de symptômes nerveux (allongement de cou vers le coté), de signes respiratoires et de chutes de performance.

Afin d'établir un diagnostic, des prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau de la veine alaire sur les sujets vivant pour obtenir des sérums destinés à une analyse sérologique.

Une fois les prélèvements effectués, les sujets ont été euthanasiés, puis autopsiés.

### b) Autopsie :

- L'examen externe : on a observé que le bec été noir, avec des pattes hémorragiques.
- L'examen interne : on a observé aerosaculite, des pétéchies au niveau des proventricules et les reins.



Figure 64 : néphrite hémorragique (Hadj-Arab,2025).

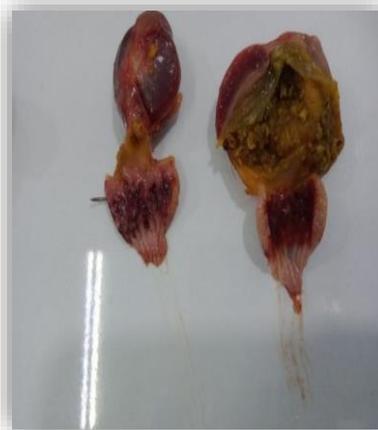


Figure 65 : pétéchies proventriculaires (Hadj-Arab,2025).

### c) Examen sérologique :

Nous avons réalisé un test ELISA en suivant le protocole du kit spécifique fourni. Voici les étapes suivies :

Nous avons d'abord dilué chaque échantillon de sérum à 1/500 à l'aide du diluant fourni. Ensuite, nous avons placé 100 µL de contrôle négatif dans les puits A1 et B1, et 100 µL de contrôle positif dans les puits C1 et D1. Puis, nous avons ajouté 100 µL des échantillons dilués dans les puits correspondants. À cette étape, la plaque contient déjà un antigène spécifique du virus de Newcastle fixé au fond de chaque puits. Si un échantillon contient des anticorps dirigés contre le virus, ceux-ci vont se fixer à l'antigène présent.

La plaque a ensuite été couverte et incubée pendant 30 minutes à température ambiante (-22°C). Cette incubation permet aux anticorps, s'ils sont présents, de se lier solidement à l'antigène. Après cela, les puits ont été lavés à 4 reprises. Par machine à lavage spéciale. Cette étape est cruciale pour éliminer les anticorps non spécifiques ou ceux qui ne se sont pas fixés.

Ensuite, nous avons ajouté 100 µL de conjugué dans chaque puits. Il s'agit d'un anticorps secondaire, capable de reconnaître les anticorps aviaires, et qui est lié à une enzyme. Lorsqu'il y a des anticorps anti-

NDV dans l'échantillon, ce conjugué vient se fixer à eux, formant ainsi un complexe : antigène – anticorps spécifique – anticorps conjugué.

Après une nouvelle incubation de 30 minutes, nous avons refait les lavages afin d'éliminer tout excès de conjugué. Ensuite, nous avons ajouté 100  $\mu$ L de substrat dans chaque puits. La plaque a ensuite été couverte et incubée pendant 15 minutes à 22 °C.

On a ajouté après 100 $\mu$ l de solution stop à chaque puits et on observe un passage de couleur du bleu au jaune. Plus la concentration d'anticorps spécifiques dans l'échantillon est élevée, plus la couleur développée est intense.

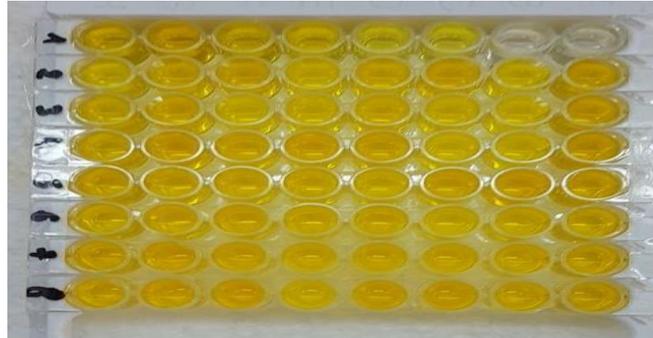


Figure 66 : plaque ELISA - rangées 1 et 2 : cas étudié (NDV). Les autres rangées ne sont pas concernées par ce travail (Hadj-Arab,2025).

- La lecture :

La lecture est faite par logiciel ID SOFT Tm qui permet de calculer le rapport S/P

- Si  $S/P < \text{ou } = 0,3$  on dit que le résultat est négatif.
- Si  $S/P > 0,3$  veut dire que le résultat est positif.



Figure 67 : lecture de ELISA par logiciel ID SOFT Tm (Hadj-Arab,2025).

Voici les résultats trouvés :

Tableau 10: lecture de ELISA test :

Sérums	S/P	Résultats
1	0.836	Positif
2	0.916	Positif
3	1.283	Positif
4	1.058	Positif
5	1.077	Positif
6	0.505	Positif
7	1.527	Positif
8	1.139	Positif
9	0.501	Positif
10	0.962	Positif
11	1.033	Positif
12	0.836	Positif

- Interprétation des résultats :

Tous les échantillons analysés présentent un rapport S/P supérieur à 0,3 ce qu'ils sont tous positifs. En d'autres termes, 100% des animaux testés ont développé une réponse immunitaire, ce qui indique une exposition certaine à l'agent pathologie ciblé. Ces résultats montrent donc une séroprévalence totale dans le lot étudié.

### Cas 10 : contrôle vaccinale chez les dindes pondeuses :

- a) **Informations générales :**

Le laboratoire a reçu 16 sérums collectés sur 16 dindes pondeuses (site 01 : mâles et femelles, site 02 : mâles et femelles) d'un lot de 18 semaines, afin d'évaluer la réponse vaccinale contre trois agents pathogènes aviaires majeurs : le virus H5N1, H9N2 et NDV.

- b) **Examen sérologique :**

La méthode utilisée est l'inhibition de l'hémagglutination (IHA).

- Méthode :

Pour évaluer la réponse immunitaire des dindes, la méthode d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) a été appliquée. Les sérums ont d'abord été inactivés, puis dilués en série dans une microplaque en U. Après ajout d'une quantité précise d'antigène viral, un volume d'érythrocytes de poule à 1 % a été ajouté. Si des anticorps spécifiques étaient présents dans le sérum, ils empêchaient l'agglutination des hématies.

Voici les titres des sérums trouvés :

Tableau 11: lecture des titres de HIA teste cas10 :

N° DE SERUM	TITRE H5N1.H9N2.NDV											
	Site 01 ♀			Site01 ♂			Site 02 ♀			Site02 ♂		
	H5N1	H9N2	NDV	H5N1	H9N2	NDV	H5N1	H9N2	NDV	H5N1	H9N2	NDV
01	1/256	1/256	1/2048	1/8	1/128	1/256	1/32	1/512	1/512	1/16	1/128	1/128
02	1/128	1/256	1/256	1/8	1/128	1/512	1/8	1/128	1/128	00	1/128	1/128
03	1/256	1/1024	1/2048	1/8	1/64	1/512	1/512	1/1024	1/1024	1/8	1/256	1/512
04	1/64	1/4096	1/256	1/8	1/64	1/512	1/08	1/128	1/1024	00	1/128	1/512
05	1/256	1/1024	1\1024	1/32	1/4096	1/512	1/256	1/1024	1/1024	1/64	1/512	1/512
06	1/32	1/1024	1/1024	1/16	1/128	1/512	1/512	1/64	1/1024	1/16	1/256	1/512
07	1/128	1/512	1\1024	1/32	1/512	1/256	1/32	1/512	1/512	1/04	1/512	1/512
08	1/256	1/256	1/512	1/8	1/128	1/512	1/512	1/512	1/1024	1/32	1/1024	1/256
09	1/128	1/1024	1/128	/	/	/	1/16	1/256	1/128	/	1/1024	/
10	1/16	1/256	1/128	/	/	/	1/64	1/2048	1/512	/	1/256	/
11	1/16	1/256	1/1024	/	/	/	1/8	1/128	1/256	/	1/256	/
12	1/32	1/1024	1/1024	/	/	/	1/8	1/128	1/1024	/	1/2048	/
13	1/16	1/512	1/1024	/	/	/	1/64	1/4096	1/512	/	1/512	/
14	1/256	1/512	1/1024	/	/	/	1/8	1/4046	1/512	/	1/512	/
15	1/64	1/1024	1/512	/	/	/	1/32	1/4096	1/1024	/	1/2048	/
16	1/64	1/256	1/1024				1/64	1/512	1/256	/	1/256	/
GMT log 2^	06.31	08.68	08.93	03.62	07.62	08.75	05.43	09.06	09.06	03.00	08.68	08.12

- Interprétation des résultats :

#### Réponse immunitaire contre le virus H5N1 :

Les poules ont présenté une **réponse immunitaire satisfaisante**, en particulier sur le site 1 où le titre moyen (exprimé en log<sub>2</sub>) a atteint 6,31. Cette valeur témoigne d'un niveau d'anticorps suffisant, probablement protecteur. Sur le site 2, la réponse reste correcte chez les femelles avec un titre moyen de 5,43.

En revanche, chez les mâles, on observe une **réponse nettement plus faible**, notamment sur le site 2 où la moyenne chute à 3,00 log<sub>2</sub>. Ce niveau est considéré comme **limite**, voire insuffisant pour garantir une protection optimale contre H5N1. Cette différence de réponse entre sexes pourrait s'expliquer par des facteurs tels que des variations dans l'administration du vaccin, des différences physiologiques ou encore une sensibilité individuelle au protocole vaccinal utilisé.

#### Réponse immunitaire contre le virus H9N2 :

Concernant H9N2, les résultats sont **excellents dans l'ensemble des groupes analysés**. Les titres moyens s'étendent de 7,62 à 9,06 log<sub>2</sub>, ce qui reflète une **très bonne réponse post-vaccinale**, sans distinction significative entre les sexes ou les sites. Ces résultats montrent que la stratégie vaccinale appliquée contre ce sous-type de virus influenza est **très efficace**, avec une couverture sérologique homogène et robuste.

#### Réponse immunitaire contre le virus de la maladie de Newcastle (NDV) :

Les titres sériques relatifs au NDV montrent également une **réponse très satisfaisante**. Les femelles, sur les deux sites, ont atteint des titres moyens supérieurs à 8,90 log<sub>2</sub>, traduisant une très bonne immunité. Les coqs du site 1 présentent une réponse légèrement inférieure (6,32 log<sub>2</sub>), mais restent dans des valeurs considérées comme protectrices.

## **Conclusion :**

Dans l'ensemble, les données sérologiques indiquent une **bonne efficacité des vaccinations contre H9N2 et NDV**, avec des titres moyens élevés et homogènes. Toutefois, une **attention particulière devrait être portée à la réponse vis-à-vis de H5N1 chez les mâles**, notamment sur le site 2, où les niveaux d'anticorps restent faibles. Un ajustement du protocole vaccinal, une revérification des conditions d'administration, ou la mise en place d'un rappel vaccinal pourraient être envisagés pour améliorer la couverture immunitaire dans ce sous-groupe

### **5. Conclusion générale :**

L'ensemble des dix cas étudiés au laboratoire met en évidence la diversité des pathologies affectant les volailles, tant sur le plan bactérien, viral que parasitaire. Ces cas reflètent les principales affections rencontrées en aviculture, telles que la colibacillose, la salmonellose, la coccidiose, ainsi que des maladies majeures comme la grippe aviaire et la maladie de Newcastle.

Les analyses réalisées ont permis non seulement de confirmer les diagnostics cliniques, mais aussi d'orienter les mesures sanitaires et thérapeutiques appropriées. Les examens bactériologiques (cultures, API 20E, antibiogrammes), virologiques (PCR, sérologies) et parasitologiques ont démontré leur importance cruciale dans l'identification rapide et fiable des agents pathogènes.

De plus, la mise en œuvre de contrôles d'assainissement et de suivis vaccinaux souligne l'importance de la prévention, du contrôle qualité et de la biosécurité en élevage avicole. Ces actions jouent un rôle clé dans la réduction de la morbidité et de la mortalité, et contribuent à améliorer la rentabilité des élevages.

En conclusion, cette expérience illustre concrètement la nécessité d'une approche diagnostique complète et rigoureuse, reposant sur des méthodes de laboratoire fiables, afin de garantir une prise en charge efficace des maladies aviaires.

## ANNEXES :



Figure 1 : LED loupe frontale) (Hadj-Arab,2025).



Figure 2 : matériels d'autopsie (Hadj-Arab,2025).



Figure 3 : lecteur de boîtes Pétri (Hadj-Arab,2025).



Figure 4 : incubateurs à droite et autoclave de stérilisation à gauche (Hadj-Arab,2025).



Figure 2: frigo de conservation (Hadj-Arab,2025).



Figure 6: stérilisation des instruments (Hadj-Arab,2025).



Figure 7 : lecteurs de ELISA (Hadj-Arab,2025)



Figure 8 : laveurs de ELISA (Hadj-Arab,2025)



Figure 9: centrifugeuse des tubes sanguins(Hadj-Arab,2025)



Figure 10 : méthodes de stérilisation des instruments (Hadj-Arab,2025).

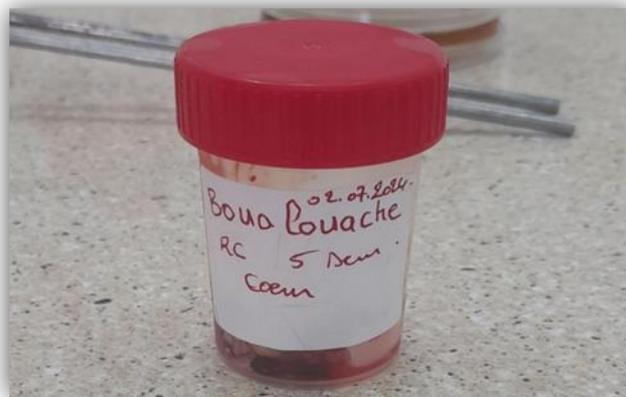


Figure 11 : prélèvement des cœurs étiquetés (Hadj-Arab,2025).

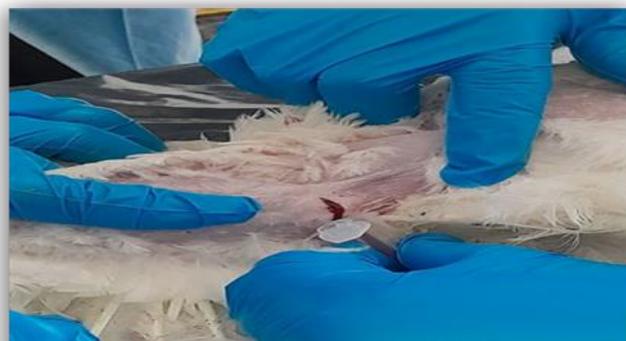


Figure 12 : prélèvement sanguin par la veine alaire (Hadj-Arab,2025).



Figure 13 : méthode de prélèvement sanguins après décapitation chez les poussins(Hadj-Arab,2025).

## **Bibliographie**

- académie de montpellier. (2003, Novembre 05). *pédagogie de la microbiologie, le sérotypage*. Récupéré sur [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://pedagogie.ac-montpellier.fr/sites/default/files/ressources/le\\_serotypage.pdf&ved=2ahUKewi94tzRlpyOAxUJRKQEHejmloAQFnoECBYQAQ&usg=AOvVaw3zkilumbtOsb9mrAtCXpmu](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://pedagogie.ac-montpellier.fr/sites/default/files/ressources/le_serotypage.pdf&ved=2ahUKewi94tzRlpyOAxUJRKQEHejmloAQFnoECBYQAQ&usg=AOvVaw3zkilumbtOsb9mrAtCXpmu)
- Alamargot, J. (1982). *Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires*. Maison Alfort: Le point vétérinaire.
- Anonyme01. (s.d.). Récupéré sur wikipedia: [https://fr.wikipedia.org/wiki/Isolement\\_\(microbiologie\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Isolement_(microbiologie))
- Anonyme02. (s.d.). Récupéré sur <https://www.thpanorama.com/blog/ciencia/pruebas-bioquimicas-tipos-para-que-sirven-e-importancia.html>
- Anonyme03. (s.d.). Récupéré sur <https://microbiologie-clinique.com/API.html>
- Anonyme04. (consulté le 28 mai 2025). Récupéré sur RN Bio Ressources numériques en biologie: [https://rnbio.upmc.fr/bio-mol\\_pcr1](https://rnbio.upmc.fr/bio-mol_pcr1)
- Anonyme05. (s.d.). Récupéré sur <https://www.labomodern.com/gamme.flacons-de-prelevement-30-a-200-ml-en-polypropylene.AX38511.html>
- Anonyme06. (s.d.). Récupéré sur <https://microbiologie-clinique.com/Coloration-Gram.html>
- Anonyme07. (s.d.). Récupéré sur <https://slideplayer.fr/amp/1200738/>
- Anonyme08. (s.d.). Récupéré sur <https://microbiologyinfo.com/simmons-citrate-agar-composition-principle-uses-preparation-and-result-interpretation/>
- Anonyme09. (s.d.). Récupéré sur <https://microbiologie-clinique.com/test-urease.html#positif-negatif>
- Anonyme10. (s.d.). Récupéré sur <https://microbiologie-clinique.com/API.html>
- APHA science services. (2020, Mars 17). *protocole de Tests d'inhibition de l'hémagglutination,aboratoire de référence internationale OIE/FAO pour l'IA*. Récupéré sur Animal and Plant Health Agency: [https://science.vla.gov.uk/flu-lab-net/Documents/french/protocol\\_Haemagglutination\\_fr.pdf](https://science.vla.gov.uk/flu-lab-net/Documents/french/protocol_Haemagglutination_fr.pdf)
- Balloy, D. (2010). *Examens bactériologiques : intérêts et limites dans l'aide à la prescription en aviculture*. Récupéré sur société nationale des groupements technique vétérinaire SNGTV: <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/examens-bacteriologiques-interets-et-limites-dans-laide-a-la-prescription-en-aviculture/>
- Barrow, P. A. (2009, Mai 15). *ELISAs and the serological analysis of salmonella infections in poultry*. Récupéré sur Cambridge University Press: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/elisas-and-the-serological-analysis-of-salmonella-infections-in-poultry-a-review/4C0BFB1748FDCF38970D5F8D0F9BA2CC>
- Bouayoune, H. (2016). *Role du laboratoire dans le diagnostic et la prévention des maladies aviaires*. Récupéré sur ABHATOO Centre National de documentation, Royaume du maroc: <http://www.abhatoo.net.ma/maalama-archives/archives-textuelles1/sciences-et-technologies/sciences-exactes-et-naturelles/sciences-biologiques/sciences-medicales-et-sanitaires/medecine-veterinaire/>
- Brugère-picoux, J., vaillancourt, J. P., Shivaprasad, H., Venne, D., & Bouzouaia, M. (2015). *Manuel de pathologie aviaire*. Maison-Alfort: Association française pour l'avancement des sciences (AFAS).
- Denis, F., Ploy, M. c., Martin, C., & Cattoir, V. (2016). *Bactériologie médicale , 3eme edition*. Paris: Elsevier Masson.
- Djelloul, D. C. (2024, décembre). *la santé animale au coeur de toute la problématique de la sécurité alimentaire*. Récupéré sur OPA organisation du patronat algérien: <https://opa.dz/santé/>

- FAO. (2009). *Surveillance de la grippe aviaire hautement pathogène chez les oiseaux sauvages*. Récupéré sur Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture: <https://openknowledge.fao.org/bitstreams/c8dc2a91-40be-4cde-b824-aa5b050509c2/download>
- FAO. (2022). *passerelle sur l'aviculture et les produits avicoles*. Récupéré sur FAO, Organisation des nation unies pour l'alimentation et l'agriculture: <https://www.fao.org/poultry-production-products/production/animal-health/fr>
- Garcia, L. S. (2007). *Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2<sup>e</sup> édition*. Washington: ASM Press.
- Guérin, J. L., Balloy, D., & Villate, D. (2011). *Maladies des volailles, 3eme édition*. Paris: France Agricole.
- Hansen, A. (2000). *Handbook of laboratory animal bacteriology*. CRC Press.
- Irshad, A. (2019, avril). *typical Salmonella colonies on Salmonella-Shigella agar and Xylose-Lysine-Deoxycholate agar*. Récupéré sur ResearchGate: [https://www.researchgate.net/figure/Typical-Salmonella-colonies-on-Salmonella-Shigella-agar-and-Xylose-Lysine-Deoxycholate\\_fig1\\_333025462](https://www.researchgate.net/figure/Typical-Salmonella-colonies-on-Salmonella-Shigella-agar-and-Xylose-Lysine-Deoxycholate_fig1_333025462)
- Kénanian, G. (2018, septembre 13). *Staphylococcus aureus se met transitoirement en dormance pour utiliser les acides gras de l'hôte et échapper à une inhibition par un anti-FASII : quel signal active son réveil ?* Récupéré sur HAL Open science: [https://theses.hal.science/tel-02937441v1/file/69839\\_KENANIAN\\_2018\\_archivage.pdf](https://theses.hal.science/tel-02937441v1/file/69839_KENANIAN_2018_archivage.pdf)
- Labofarm. (2023, janvier 4). *LaboFarm FinaLab*. Récupéré sur Volailles: <https://www.labofarm.com/activites/sante-animale/134-volailles.html>
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2011). *A photographic Atlas for the microbiology laboratory 4 eme eddition*. Englewood, Colorado: Morton Publishing Company.
- Lewis, M., & easthope, E. (2023, février 14). *Jackson ImmunoResearch*. Récupéré sur Elisa guide ; Part 1 : introduction to elisa, Formats and signal Amplification : <https://www.jacksonimmuno.com/secondary-antibody-resource/immuno-techniques/elisa-guide-part-1/>
- Lezzar, N. (2017,2018). *manuel d'autopsie et de pathologie aviaires*. Université des freres mentouri constantine.
- Ma, H., Shieh, K.-J., & Lee, S.-L. (2006). *Study of ELISA Technique, Department of Medicine, Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA*. Récupéré sur [https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://citeseerx.ist.psu.edu/document%3Frepid%3Drep1%26type%3Dpdf%26doi%3D912db5e19c3efbcf272cd923b46847b0d2932cb9&ved=2ahUKEwjDmLOWoZyOAxWJUaQEHXW8L\\_8QFnoECBsQAQ&usg=AOvVaw3aJ36zD9BfhHnNx](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://citeseerx.ist.psu.edu/document%3Frepid%3Drep1%26type%3Dpdf%26doi%3D912db5e19c3efbcf272cd923b46847b0d2932cb9&ved=2ahUKEwjDmLOWoZyOAxWJUaQEHXW8L_8QFnoECBsQAQ&usg=AOvVaw3aJ36zD9BfhHnNx)
- Majo, N., & Dolz, R. (2019). *Atlas of avian Necropsy*. Zaragoza - Spain: Grupo Asis Biomedica, SL.
- Ontario Association of Poultry Veterinarians. (2016). *Directives pratiques d'euthanasie à la ferme pour la volaille*.
- Rabia, A. y., Tamani, t., & Amroun, S. (2022- 2023). *Isolement, identification et antibiorésistance de souches d'Escherichia coli aviaires pathogènes*. Récupéré sur Google scolar : <https://dspace.ummto.dz/server/api/core/bitstreams/61305fb9-ef32-4d06-ab26-c6a9d51c82a8/content>
- Taibi-Meksoud, M. (2012, mai 27&28). *10 èmes Journées des sciences vétérinaires , La filière avicole : développement & promoion* . Récupéré sur ENSV.DZ: [https://www.ensv.dz/wp-content/uploads/2016/01/livret10eJSV\\_web.pdf](https://www.ensv.dz/wp-content/uploads/2016/01/livret10eJSV_web.pdf)