



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Filière
Sciences Biologiques

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

THÈME

**Développement d'une formulation vaccinale intranasale contre
maladie de Newcastle chez les poulets**

Présenté par les étudiante :

. Ben Saoud Ibtissam .

. Bouguettaya Malak

. Chabbi Djoumana

Membres du jury

Dr. Laiche Omar Touhami

Pr

Président .

Dr. Ghougal Quiza

MCB

Examineur

Dr. Ghania Ahmed

MCB

Promoteur

Dr . Serouti Khalifa

DLRV

Invité

Année d'universitaire : 2025/2026

Remerciements

{ يَرْفَعُ هَالِلٌ الْهَذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالْهَذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَ هَالِلٌ بِمَا تَعْمَلُونَ خَيْرٌ }

Louange à Allah, par amour, gratitude et reconnaissance, du commencement à la fin.

C'est avec tout l'amour et la fierté que je dédie l'aboutissement de mes études :

*** À moi-même : ***

Merci de ne pas avoir abandonné malgré tout, et d'avoir cru qu'après la fatigue vient un succès digne de fierté.

Cette réussite est avant tout la tienne. Cette réussite est avant tout la tienne.

*** À mon cher père (Miloud Ben Saoud) : ***

Je tiens à exprimer ma gratitude à cet homme exceptionnel, à celui qui a été ma colonne vertébrale et qui m'a soutenue avec tout son amour dans mes moments de faiblesse, et qui m'a toujours encouragée à atteindre mes ambitions. À celui qui a attendu ce moment pour être fier de moi, que Dieu te préserve comme notre ombre bienveillante

*** À ma chère mère : ***

À ma première enseignante dans la vie, au cœur qui a semé en moi l'amour du savoir. À celle qui m'a appris que la volonté accomplit l'impossible et que les rêves ne se réalisent qu'avec patience et travail. À celle qui a cru en moi et en ma réussite, à celle dont les prières ont été le secret de ma réussite. À cette femme admirable, ma chère mère Moubaraka Bellemouchi, je te dédie cet accomplissement en témoignage de tes sacrifices et de tes prières, implorant Allah de t'protéger et de te garder à mes côtés.

** À ma grand-mère disparue : ***

À celle qui a quitté mes yeux mais n'a jamais quitté mon cœur, que Dieu te fasse miséricorde et t'accueille dans Son vaste paradis.

*** À mon soutien dans la vie : ***

*À mes chers frère et sœurs : * Ali, Adam et Aya *, je vous remercie pour votre amour et votre soutien indéfectible. Je demande à Allah le Très-Haut de vous préserver, de vous garder comme soutien et appui pour moi, et de nous réunir toujours dans le bien et l'affection.*

*** Aux amies du parcours et compagnes de route : ***

*À mes deux chères amies * « Malak » * et * « Djoumana » *, vous avez été le meilleur soutien et appui tout au long de cette étape. Merci d'avoir été à mes côtés dans les bons comme dans les moments difficiles, et pour le soutien sincère et les encouragements que vous m'avez apportés. Je demande à Allah de pérenniser notre amitié et notre affection.*

*** À mes honorables enseignants : ***

. Merci à tous ceux qui m'ont enseigné une lettre, et qui ont semé en moi l'amour de la science et du savoir. Je vous exprime ma plus sincère gratitude et reconnaissance, et je prie Dieu de vous en récompenser au mieux

Uttissem

Remerciements

بسم الله الرحمن الرحيم

À une âme qui n'a jamais connu la capitulation, et à une volonté qui a insisté pour graver son nom sur le front du succès. À ceux grâce à qui j'ai atteint ce rang, et par la bénédiction de qui mes chemins sont devenus droits.

C'est avec tout mon amour que dédie le fruit de ma réussite et de mon diplôme :

À celui qui a éclairé mon chemin, ce flambeau dont la lumière ne s'éteint jamais, et qui a sacrifié des années d'efforts pour que je puisse gravir les échelons du succès. À celui dont je porte le nom avec tant de fierté : mon cher père. Que Dieu te préserve pour toujours comme un pilier infaillible. À celle pour qui Dieu a placé le paradis sous ses pieds, qui a adouci mes épreuves par ses prières, et qui m'a soutenue sans limites. Ô toi en qui Dieu a résumé tout le sens de la miséricorde et de la tendresse. Chaque instant de ma réussite n'est que le reflet de ta fatigue. Que Dieu te préserve comme la joie de ma vie : ma chère mère.

À mes sœurs, mes douces compagnes, la sérénité de mon cœur et les lanternes lumineuses de notre maison, dont l'amour est une ascension vers les sommets. Puisseons-nous rester à jamais un soutien les unes pour les autres.

*À mes amies, qui ont rendu ce voyage plus agréable et moins difficile, merci pour chaque moment de soutien : **Malak, Houda, Ibtissam**.*

*À l'amie de mon cœur et la compagne de ma route : **Hajar**.*

À ces jeunes pousses que j'ai abreuvées de science et d'amour, et qui ont grandi dans mon cœur avant de grandir dans la vie : mes chers élèves.

Après tant de fatigue et de nuits blanches, la facilité est venue par la grâce de Dieu et grâce à votre soutien. Ce succès n'est pas le mien uniquement, mais le vôtre à tous. Vous avez été mon pilier. Merci du fond du cœur, et j'espère être pour vous une source de fierté, tout comme vous avez été ma source de force.

Djoumana

Remerciements

Louange à Allah, gratitude et reconnaissance pour le commencement et la bonne fin.

Avec toute fierté, je dédie ma graduation et ma joie, tant attendue, à ceux qui ont toujours été pour moi une source de soutien et de générosité.

*Je dédie ma graduation à la lumière qui a éclairé mon chemin, au cher être dont je porte le nom avec fierté, à celui qui m'a appris que le succès ne s'obtient que par la patience et la persévérance, à celui qui m'attendait chaque jour à la porte de la maison malgré sa propre fatigue, et à celui qui ne m'a jamais privée d'une prière secrète ni d'un conseil dans les moments d'hésitation... **Mon cher père**, cette mémoire porte mon effort et mes années d'études. Tu mérites bien plus, et c'est toi le*

premier que je remercie du fond de mon cœur...

*À la reine de mon cœur et la plus belle des femmes, à **ma mère** qui a été le premier soutien à la réalisation de mes ambitions, à celle qui a tenu ma main droite tout au long de cette étape, à celle grâce à qui j'ai trouvé le chemin de ma vie et*

*ma fierté de moi-même, au cœur tendre et à l'amour sincère... **Ma chère mère**...*

À moi-même, celle qui ne m'a jamais abandonnée...

À cette âme qui a résisté à chaque moment de fatigue, de dispersion et d'effort continu derrière les murs des laboratoires et entre les pages des références. À ce cœur qui a cru en l'accomplissement, même dans les moments où la vision semblait floue.

Tu as été assez forte pour transformer la fatigue en réussite, et l'effort en une réalité tangible...

À mes frères et sœurs, le soutien de cette vie et de l'au-delà... Vous êtes mon bouclier et mon havre de paix dans l'agitation de la vie. Merci pour chaque insulte qui était de la jalousie, pour chaque éclat de rire qui était un remède, et pour chaque instant où vous avez été à mes côtés. Puisse Allah vous garder pour moi dans ma vie...

*À **mes compagnons de route**... Ch. Djouamana | Ben. Ibissam*

Vous qui avez partagé avec moi les peines des cours et la joie des fins de semestre, vous qui avez rendu les années universitaires inoubliables, merci pour chaque moment de fatigue qui s'est transformé grâce à votre présence en énergie et en espoir. Vous avez parfumé cette étape...

Samia.Ma.(Tu es plus profondément ancrée dans mon cœur que je ne saurais le dire ou l'écrire. Puisse-t-elle demeurer à jamais une beauté éternelle pour moi.)

*À **chacun de ceux qui m'ont aimée sincèrement**.*

- À chacun de ceux qui m'ont dit un mot gentil qui a réconforté mon cœur, ou dessiné un sourire sur mon visage dans un jour difficile, à celui qui m'a fait aimer la réussite parce qu'il me souhaite le bien de là où je ne le vois pas, à celui qui est resté un fantôme entre les lignes de cette mémoire sans la tenir entre ses mains, à celui que j'aurais tant voulu voir aujourd'hui... et je suis certaine qu'il me voit de là où je ne peux le voir*

Malak

Résumé

L'industrie avicole occupe une position centrale dans la sécurité alimentaire mondiale et les systèmes agro-économiques. Face aux défis sanitaires majeurs posés par les maladies respiratoires aviaires, dont la maladie de Newcastle (ND) représente une menace épidémiologique significative, les stratégies prophylactiques conventionnelles présentent des limitations structurelles. Cette recherche propose une innovation thérapeutique d'envergure : le développement d'une formulation vaccinale intranasale basée sur l'encapsulation du virus de Newcastle Clone 30 (NDClone30V) dans des nanoparticules de chitosane biodégradable. L'approche intègre les avancées de la nanotechnologie et de l'immunologie muqueuse pour surmonter les barrières physico-chimiques et immunologiques de l'épithélium respiratoire aviaire.

La méthodologie expérimentale a impliqué l'extraction et la purification du chitosane à partir de carapaces de crustacés, suivi de la synthèse de nanoparticules par gélification ionique contrôlée utilisant le tripolyphosphate de sodium comme agent réticulant. Soixante-dix sujets aviaires (*Gallus gallus domesticus*) ont été répartis en groupes expérimentaux recevant des traitements variés : groupe témoin négatif, vaccination orale, injection intramusculaire, et vaccinations intranasales à concentrations croissantes avec et sans chitosane comme adjuvant stabilisant.

Les résultats démontrent que la formulation intranasale V3 (trois administrations successives) induit une réponse immunitaire humorale supérieure (titre d'anticorps : $5977 \pm 0,5$) comparée aux protocoles conventionnels, confirmée par analyse sérologique ELISA. L'évaluation toxicologique révèle l'absence d'altération des paramètres hépatiques (transaminases, phosphatase alcaline) et rénaux (urée, acide urique), validant la biocompatibilité de la plateforme nanovaccinale. L'analyse hématologique confirme l'absence d'effets délétères sur les éléments figurés du sang. Le gain pondéral des poulets traités atteint $3500 \pm 0,5$ grammes (groupe V3), démontrant l'absence d'impact négatif sur les performances zootechniques. Cette investigation scientifique établit que les nanoparticules de chitosane représentent un vecteur d'administration prometteur pour les antigènes viraux aviaires par voie muqueuse.

L'activation concomitante de l'immunité locale (IgA sécrétoire) et systémique (IgY circulante) confère une protection immunologique double au niveau des muqueuses respiratoires et des sites effecteurs distants. Cette contribution scientifique ouvre des perspectives nouvelles pour

l'optimisation des stratégies vaccinales vétérinaires, favorisant une transition vers des approches moins invasives, physiologiquement plus acceptables et cliniquement plus efficaces en santé aviaire.

Mots-clés : nanoparticules de chitosane, vaccination intranasale, maladie de Newcastle, immunité muqueuse, formulation pharmaceutique, santé aviaire, biotechnologie vétérinaire

Abstract

The poultry industry holds a central position in global food security and agro-economic systems. Faced with major health challenges posed by avian respiratory diseases, particularly Newcastle disease (ND) which represents a significant epidemiological threat, conventional prophylactic strategies present structural limitations. This research proposes a major therapeutic innovation: the development of an intranasal vaccine formulation based on encapsulation of Newcastle disease virus Clone 30 (NDClone30V) within biodegradable chitosan nanoparticles. The approach integrates advances in nanotechnology and mucosal immunology to overcome the physicochemical and immunological barriers of the avian respiratory epithelium.

The experimental methodology involved extraction and purification of chitosan from crustacean shells, followed by nanoparticle synthesis through controlled ionic gelation using sodium tripolyphosphate as a cross-linking agent. Seventy avian subjects (*Gallus gallus domesticus*) were distributed into experimental groups receiving varied treatments: negative control group, oral vaccination, intramuscular injection, and intranasal vaccinations at increasing concentrations with and without chitosan as a stabilizing adjuvant.

The results demonstrate that the intranasal formulation V3 (three successive administrations) induces a superior humoral immune response (antibody titer: 5977 ± 0.5) compared to conventional protocols, confirmed by ELISA serological analysis. Toxicological evaluation reveals the absence of alterations in hepatic parameters (transaminases, alkaline phosphatase) and renal parameters (urea, uric acid), validating the biocompatibility of the nanovaccine platform. Hematological analysis confirms the absence of deleterious effects on blood cellular elements. Weight gain in treated chickens reached 3500 ± 0.5 grams (group V3), demonstrating the absence of negative impact on zootechnical performance.

This scientific investigation establishes that chitosan nanoparticles represent a promising delivery vector for avian viral antigens via the mucosal route. Concomitant activation of local immunity (secretory immunoglobulin A) and systemic immunity (circulating immunoglobulin Y) confers dual immunological protection at the level of respiratory mucous membranes and distant effector sites. This scientific contribution opens new perspectives for optimizing veterinary vaccination strategies, promoting a transition toward less invasive approaches that are physiologically more acceptable and clinically more efficient in avian health. Keywords:

chitosan nanoparticles, intranasal vaccination, Newcastle disease, mucosal immunity,
pharmaceutical formulation, avian health, veterinary biotechnology

المخلص

تحتل صناعة الدواجن موقعاً مركزياً في الأمن الغذائي العالمي والأنظمة الزراعية الاقتصادية. في مواجهة التحديات تهديداً وبائياً ذا أهمية (ND) الصحية الكبرى التي تفرضها الأمراض التنفسية في الطيور، حيث يمثل مرض نيوكاسلكبيرة، تظهر الاستراتيجيات الوقائية التقليدية قيوداً هيكلية واضحة. يقترح هذا البحث ابتكاراً علاجياً بنطاق واسع: تطوير داخل نانوجزيئات من (NDClone30V) صيغة لقاح بالتنفس الأنفي قائمة على تغليف فيروس نيوكاسل النسخة 30 الكيتوسان القابلة للتحلل البيولوجي. يدمج هذا النهج التطورات في تكنولوجيا النانو وعلم المناعة المخاطية للتغلب على

الحواجز الفيزيائية والكيميائية والمناعية للظاهرة التنفسية في الطيور.

تضمنت المنهجية التجريبية استخلاص وتنقية الكيتوسان من قشور القشريات، يتبعه تخليق النانوجزيئات من خلال التخثر (Gallus) الأيوني المضبوط باستخدام ثلاثي فوسفات الصوديوم كعامل شبكي. تم توزيع سبعين موضوعاً من الدواجن إلى مجموعات تجريبية تتلقى معالجات متنوعة: مجموعة التحكم السلبية، والتطعيم الفموي ، gallus domesticus)

والحقن داخل العضل، والتطعيمات الأنفية بتركيزات متزايدة مع وبدون الكيتوسان كعامل مثبت مساعد. ثلاث جرعات متتالية (تحفز استجابة مناعية خلطية متفوقة) عيار الأجسام المضادة: V3 تثبت النتائج أن الصيغة الأنفية يكشف التقييم السمي الحيوي عن ELISA. $0,5 \pm 5977$ مقارنة بالبروتوكولات التقليدية، مؤكدة بواسطة تحليل مصلي لعدم وجود تأثير سلبي على المعاملات الكبدية (ناقلات الأمين، الفوسفاتاز القلوية) والكلوية (اليوريا، حمض البول)، مما يدل على عدم وجود تأثيرات ضارة على العناصر المشكلة ويؤكد توافق الحيوي لمنصة اللقاح النانوية. يؤكد التحليل الدم عدم وجود تأثير سلبي على (V3 المجموعة) للدم. بلغ الكسب الوزني للدجاج المعالج $0,5 \pm 3500$ غرام الأداء الحيواني تثبت هذه الدراسة العلمية أن النانوجزيئات من الكيتوسان تمثل ناقلاً موعوداً لتوصيل المستضدات الفيروسية للطيور عبر الغلوبولين (A الإفرازي A الغلوبولين المناعي) المسار المخاطي. يوفر التنشيط المتزامن للمناعة المحلية حماية مناعية مزدوجة على مستوى الأغشية المخاطية التنفسية والمواقع الفعالة البعيدة. يفتح هذا (الدوري Y المناعي للإسهام العلمي آفاقاً جديدة لتحسين استراتيجيات التطعيم البيطري، مما يعزز الانتقال نحو نهج أقل توغلاً وأكثر قبولاً فسيولوجياً وأكثر كفاءة سريرياً في صحة الدواجن

الكلمات المفتاحية: نانوجزيئات الكيتوسان، التطعيم بالتنفس الأنفي، مرض نيوكاسل، المناعة المخاطية، الصيغة الصيدلانية، صحة الدواجن، التكنولوجيا الحيوية البيطرية

Liste des abreviations

Abréviation	Signification
ND	Newcastle Disease
VT	Vaccin Témoin
VO	Vaccin Orale
VM	Vaccin Intramusculaire
V1	Vaccin nasale + chitosane (1 administration)
V2	Vaccin nasale + chitosane (2 administrations)
V3	Vaccin nasale + chitosane (3 administrations)
VK	Chitosane seul
VK+	Chitosane à forte concentration
HCl	Acide chlorhydrique
NaOH	Hydroxyde de sodium
TPP	Tripolyphosphate de sodium
FNS	Numération Formule Sanguine
AST	Aspartate Aminotransférase
ALT	Alanine Aminotransférase
TGO	Transaminase Glutamo-Oxacétique
TGP	Transaminase Glutamo-Pyruvique
ALP	Phosphatase Alcaline
PAL	Phosphatase Alcaline
GLDH	Glutamate Déshydrogénase
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
S/P	Sample to Positive Ratio
NH ₄ ⁺	Ion ammonium
NS	Différence Non Significative

Liste des Tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
01	Les vaccins aviaires	9
02	Résumé des principales différences entre Vaccin Virtants et et inactiver (GAV1 , 2023)	26
03	Les besoins en eau quotidiens selon l'âge de la volaille	29
04	Distribution et amplitude la réponse dans l'iss type IgA apres immusisation par differentes voies	33
05	Norme des températures selon l'Age des volaillaies en jour	45
06	Effet des différents traitements expérimentaux sur les paramètres hématologiques (NFS) chez les poulets	61
07	Résultats de la détection sérologique par ELISA — Rapport S/P (%) selon les groupes expérimentaux	72
08	Profil sérologique et statut immunitaire des différents lots expérimentaux	76

Liste de figures

Figure 1: les dix maladie responsable des plus grands pertés économique chez la volaille ...03

Figure 2:les sacs aériens chez le poulet adapté de victor 05

Figure 3: Anatomie du système respiratoire poulet adapté de Rida 05

Figure 4: Contrôle de la vaccination par l'eau de boisson avec un colorant bleu : ajout de colorant dans l'eau de boisson (A) et contrôle de la consommation d'eau (B). 28

Figure 5:Boîte de pulvérisation pour la vaccination contre la bronchite infectieuse des poussins

d'un jour au couvoir 30

Figure 6:injection de la poulette à l'aide d'un vaccinateur automatisé 32

Figure 7: Les systèmes nanoparticulaires : différents rôles possibles en vaccination 39

Figure 8:Propriétés importantes des nanoparticules de chitosan pour une utilisation en

intranasal.....40

Figure 9: Ferme avicole locale ayant servi de site expérimental pour la réalisation de l'étude.....45

Figure 10:Nobilis NDclone30virus vivaant de la maladie Newcastle.....47

Figure11: Innovax®-ND-IBD, suspension et solvant pour suspension injectable chez les

poulets).....47

Figure 12:Structure du chitosane partiellement désacétylé(b) Structure du chitosane (a)

Structure de la chitine) 47

Figure13:Phase de fabrication du chitosane 49

Figure14: Détransformation de la chitine en chitosane par désacétylation alcaline).....	50
Figure 15: récapitulatif des différentes étapes de préparation des nanoparticules de chitosane vaccinales et de leur administration intranasale chez le poulet.....	52
Figure16: Expérimental de répartition des poulets, des traitements administrés et des analyses réalisées au cours de l'étude.....	54
Figure17: Composition et description du kit ELISA.....	58
Figure18: Étape de lecture des résultats à l'aide du lecteur ELISA.....	60
Figure19: Plaqué ELISA avant et après réaction colorimétrique.....	62
Figure 20 : Évaluation de l'activité enzymatique de l'ASAT (TGO) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables.....	67
Figure 21: Évaluation de l'activité enzymatique de l'ALAT (TGP) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variable	69
Figure 22 : Évaluation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables.....	70
Figure 23: Évaluation des taux d'urée dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables.....	71
Figure 24: Évaluation des taux d'acide urique dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables.....	72

Tables of contents

<i>Remerciments</i>	-
<i>Résumé</i>	-
<i>Liste des abréviations</i>	-
<i>Liste des Tableaux</i>	-
<i>Liste de figures</i>	-
<i>Tables of contents</i>	-
<i>Introduction</i>	1
<i>Chapter I: Les syndromes respiratoires et leurs facteurs de risque</i>	
<i>1 .Syndromes respiratoires</i>	3
<i>1.1l'Anatomie De L'appareil Respiratoire</i>	4
<i>1.1.1.L'appareil respiratoire des oiseaux peut être divisé en trois parties</i>	4
<i>1.1.2. Les Voies Respiratoires Extra Pulmonaires</i>	4
<i>1.1.3Les Poumons</i>	4
<i>1.1. 4.Les Sacs Aériens</i>	5
<i>1.2. Les maladies virales</i>	5
<i>1.3. Les maladies bactériennes</i>	10
<i>1.4. La prévention des maladies respiratoires</i>	17
<i>Chapitre II: Les cellules du système immunitaire</i>	
<i>2.1. Structure du système immunitaire aviaire</i>	19
<i>2.2. Système immunitaire inné et adaptatif chez les oiseaux</i>	20
<i>2.2.1. Le système immunitaire inné</i>	20
<i>2.2.2.Le système immunitaire adaptatif</i>	21

2.2.3. <i>Les immunoglobulines aviaires</i>	23
Chapitre III: Vaccins et vaccination intranasale	
3.1. Définition de vaccin et leur type	27
3.1.1. <i>Les vaccins traditionnels</i>	27
3.1.1.1. <i>Les vaccins vivants atténués</i>	27
3.1.1.2. <i>Vaccins inactives</i>	28
3.1.1.3. <i>Vaccin sous unitaires</i>	29
3.1.1.4. <i>Les vaccin a vecteurs viraux</i>	30
3.2. Voies d'administration des vaccins chez les volailles	30
3.2.1. <i>Vaccination par eau de boisson</i>	30
3.2.1.1. <i>Qualité de l'eau</i>	31
3.2.1.2. <i>Volume d'eau</i>	32
3.2.1.3. <i>Distribution du vaccin</i>	32
3.2.2. <i>Vaccination par nébulisation (pulvérisation)</i>	32
3.2.2.1. <i>Préparation de la solution vaccinale</i>	33
3.2.2.2. <i>La taille et l'homogénéité des gouttelettes</i>	33
3.2.2.3. <i>Processus de la vaccination</i>	34
3.2.3. <i>Vaccination par injection</i>	34
3.2.3.1. <i>Préparation de la solution vaccinale</i>	34
3.3. Avantages et inconvénients de la vaccination intranasale	35
3.4. Réponse Immunitaire aux vaccins muqueux	36
Chapitre IV: Développement d'une formulation vaccinale intranasale	
4.1. Développement d'une formulation vaccinale intranasale	39
4.1.1. <i>Composition du vaccin intranasal</i>	39
4.1.1.1. <i>Antigène</i>	39
4.1.1.2. <i>Adjuvants</i>	40
4.1.1.3. <i>Système de vectorisation (Nanoparticules/Vecteurs)</i>	41
4.1.1.4. <i>Pourquoi utiliser des systèmes nanoparticulaires</i>	41
4.1.1.5. <i>Nanoparticules polymériques les plus couramment utilisées en vaccination IN — Polymères polysaccharidiques</i>	43

4.2. Technique de Préparation vaccinale	43
4.2.1. Inspection du vaccin et mélange	43
4.2.2. Reconstitution du vaccin	44
4.2.3. Remplissage des seringues	44
4.2.4. Choix de la seringue et de l'aiguille pour les vaccins	44
4.3. Défis liés aux vaccins à administration par voie muqueuse respiratoire	45
Partie exprémontale	
1. Matériel Utiliser	
1. 1Aperçu sur les paramètres zootechniques de l'élevage avicole	48
1.1.1. Localisation de l'exploitation :	48
1.1.2. La ventilation :	49
1.2.1 Ventilation mécanique :	49
1.3. La température :	49
2. Matériel animal	49
3. Vaccin newcastle (nobilis ND Clone 30)	50
4. Le chitosane	50
4.1. Produits chimique	51
4.2. Préparation des échantillon	51
4.3. Préparation de la poudre de Chitosan	51
4.4. Détermination du rendement	53
5. Préparation de la formulation vaccinale	54
6 . traitement des animaux :	56
7. Effets sur le poids :	58
8. Prélèvement de sang :	58
9.1. Dosage des paramètres biochimiques :	58
9.2. Dosage des parametres hepatiques :	59
9.2.1. Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST)	59
9.2.2. Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)	59

Sommaire

9.2.3.Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)	59
9.3.Dosage des paramètres rénales :	60
9.3.1. Méthodes de dosage de l'activité de l'Urée	60
9.3.2Méthodes de dosage de l'activité de l'acide urique	60
9.4. Méthode mesure des anticorps anti ND ELISA	60
9.4.1.Formats ELISA	62
9.4.3.Équipements pour les Tests ELISA	63
9.4.4.Manipulation et Préparation des Composants du Test	65
Les Résultats	66
<i>calculation</i>	79
<i>Discussion</i>	84
 <i>Conclusion</i>	
Conclusion	95
<i>Bibliographical references</i>	97
<i>Annexes</i>	101

Introduction

Introduction

L'élevage des volailles est une activité économique importante dans de nombreuses régions du monde. Selon la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), la production de viande de volaille a augmenté de plus de 200% au cours des 30 dernières années et continue de croître à un rythme rapide. En effet, les volailles sont une source de protéines animales abordables et nutritives pour les consommateurs, et la production de viande de volaille a également créé de nombreux emplois pour les communautés locales. Cependant, les maladies sont un obstacle important pour les éleveurs de volailles, car elles peuvent causer de graves pertes économiques dans cette industrie. Les maladies des volailles sont souvent causées par des agents pathogènes tels que des virus, des bactéries et des parasites, et peuvent avoir des effets dévastateurs sur la santé et le bien-être des animaux d'élevage. En outre, les maladies peuvent se propager rapidement entre les animaux, entraînant des pertes massives de production, des dépenses élevées pour le traitement et la prévention, ainsi que des risques pour la sécurité alimentaire des consommateurs. La prévention, le diagnostic et le traitement efficaces des maladies des volailles sont donc essentiels pour assurer la santé et la productivité des populations de volailles, ainsi que pour garantir la sécurité alimentaire et la rentabilité de l'industrie avicole. Cela nécessite une compréhension approfondie des différents agents pathogènes, des facteurs de risque associés à leur transmission, ainsi que des méthodes de prévention et de traitement disponibles. De nombreux facteurs peuvent influencer la propagation des maladies dans les populations de volailles, notamment l'environnement d'élevage, la génétique des animaux, le régime alimentaire, le stress et la présence d'autres agents pathogènes. Par conséquent, la gestion des maladies des volailles nécessite une approche holistique qui prend en compte tous ces facteurs et qui intègre des stratégies de prévention, de diagnostic et de traitement appropriées. Problématique de la recherche

Les maladies respiratoires chez le poulet constituent l'un des problèmes sanitaires les plus graves et les plus coûteux dans le secteur avicole, entraînant des pertes économiques considérables. Malgré l'existence de vaccins conventionnels, leurs voies d'administration (injection, eau de boisson) ne stimulent pas une immunité locale suffisante au niveau des voies respiratoires supérieures, qui représentent la première porte d'entrée des agents pathogènes. L'objectif de travail est de développer une formulation vaccinale intranasale adaptée à la lutte contre une maladie respiratoire aviaire chez le poulet.

1. Sur le plan scientifique

- Étudier l'anatomie du système respiratoire du poulet et ses mécanismes de défense immunitaire

- Identifier les agents pathogènes ciblés (viraux ou bactériens)

- Sélectionner les composants appropriés pour la formulation vaccinale intranasale

2. Sur le plan technique

- Préparer la formulation vaccinale et optimiser ses propriétés physicochimiques

- Assurer la stabilité du vaccin et sa capacité d'adhésion à la muqueuse nasale

3. Sur le plan applicatif

- Évaluer la réponse immunitaire locale et systémique induite

- Comparer l'efficacité du vaccin intranasal avec les méthodes de vaccination conventionnelles

- Proposer une alternative pratique et facile à appliquer dans les élevages avicoles

• Cette étude combine la pharmacologie vétérinaire, l'immunologie et la technologie des formulations pharmaceutiques, ce qui en fait une contribution scientifique multidisciplinaire de grande valeur dans le domaine de la santé aviaire

**Chapter I: Les syndromes respiratoires et leurs
facteurs de risque chez les volaille**

1 .Syndromes respiratoires

La pathologie respiratoire représente le premier problème de santé chez la volaille, responsable Des plus grandes pertes économiques dans le secteur avicole dans le monde. Parmi les dix Maladies aviaires responsables des plus grandes pertes économiques chez la volaille entre 2006 Et 2009, quatre maladies respiratoires figurent en premier. Ensemble, ces quatre maladies Respiratoires représentent presque 85% des pertes totales dues aux dix maladies majeures .Le syndrome respiratoire est le terme utilisé communément pour décrire la Pathologie respiratoire chez la volaille. Par définition le terme « syndrome » signifie l'ensemble De symptômes et signes cliniques et de modifications pathologiques, toujours associés, dont les Causes ou les mécanismes peuvent être différents et qui permettent d'individualiser une Affection (Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine, 2023). Ceci signifie que le Syndrome respiratoire est une pathologie complexe où plusieurs facteurs peuvent prédisposer Ou contribuer à la manifestation d'un ensemble de signes cliniques. Les facteurs prédisposant

Aux syndromes respiratoires chez la volaille peuvent être non-infectieux comme L'environnement, la mauvaise gestion des élevages ou même l'anatomie de l'appareil Respiratoire des volailles, mais aussi des facteurs infectieux. En effet, plusieurs agents Pathogènes respiratoires de type viral ou bactérien peuvent être à l'origine de ces syndromes Respiratoire.

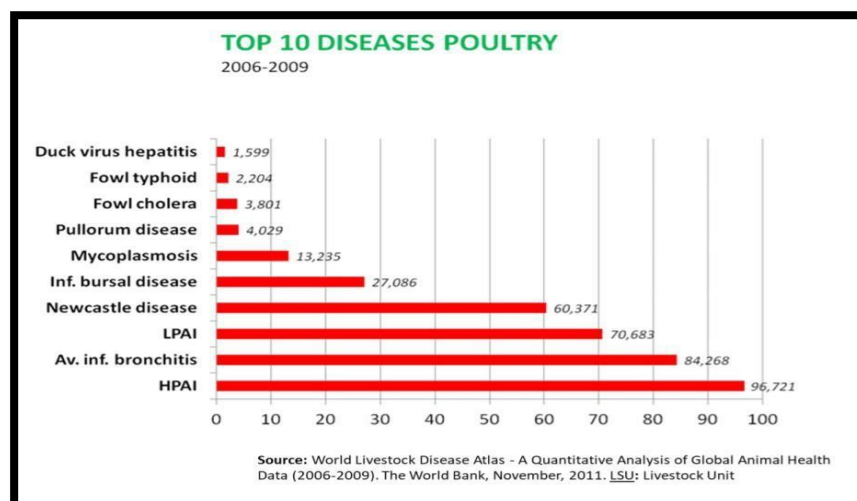


Figure 1 : Les dix maladies responsables des plus grandes pertes économiques chez la volaille

1.1.1'Anatomie De L'appareil Respiratoire

Le système respiratoire des oiseaux est le plus performant du règne animal due au fort Besoin d'oxygénation des muscles mobiliser pour le vol.

1.1.1. L'appareil respiratoire des oiseaux peut être divisé en trois parties :

- 1- Les voies respiratoires extra pulmonaires : (les voies nasales, le larynx, la trachée, les Bronches extra-pulmonaires et la syrinx).
- 2- Les poumons : organe où se réalise l'échange de gaz.
- 3- Les sacs aériens (caractéristique anatomique des oiseaux).(Alamargot, 1982)

1.1.2. Les Voies Respiratoires Extra Pulmonaires :

.Les voies nasales : On distingue les narines, les cavités nasales, les glandes nasales et Les sinus nasaux.

.Larynx : Cet organe triangulaire est placé 3 à 4 cm en arrière de la langue. Il est soutenu Par l'appareil hyoïdien.

.La trachée et les branches extra pulmonaire :

La trachée est un long tube qui s'étend du larynx aux broches. Très souple et extensible car Ses anneaux sont plus au moins emboîtés les uns dans les autres. La trachée a un diamètre plus Petit, elle se divise en deux bronches primaires qui sont formées d'une douzaine d'anneaux Incomplets

.La syrinx :

L'organe vocal des oiseaux, situé au niveau de la bifurcation bronchique peu développée Chez la poule.(Amari *et al*, 2020)

1.1.3.Les Poumons :

Les poumons sont petits par rapport au thorax et n'occupe que 1/8 à 1/6 de la cage Thoracique. Ont un aspect spongieux. Ils sont pratiquement inextensibles avec un parenchyme Très rigide, sont dépourvus de plèvres et leur volume ne change pas au cours de mouvements Respiratoires. Cette rigidité du parenchyme pulmonaire permet de maintenir en permanence à L'état d'ouverture, les capillaires gazeux à travers lesquels diffuse l'oxygène et gaz carbonique.

Ces zones d'échange fixes ne peuvent pas assurer le rôle de mobilisation du courant gazeux Qui est par contre assuré par les sacs aériens.(Amari *et al*, 2020)

1.1.4. Les Sacs Aériens :

Les sacs aériens des oiseaux sont des prolongements séculaires extra-pulmonaires des Bronches primaires, secondaires. Ils sont généralement volumineux et ont des diverticules qui Pénètrent entre les viscères et dans certains os. Ils ont plusieurs fonctions :

- .ventilation pulmonaire
- .Régulation thermique.
- .Réserve d'oxygène pendant le blocage de la cage thoracique.
- .diminution de la densité du corps.
- .Amortisseur des chocs lors de l'atterrissage.
- .isolement et immobilisation des organes thoraco-abdominaux pendant le vol.

Les sacs aériens sont un lieu propice pour le développement des agents infectieux. De plus, Ces sacs étant très mal vascularisés, ils ne sont pas protégés par les moyens de défense de L'organisme et des agents thérapeutiques véhiculés par le sang. Une infection respiratoire peut Se déplacer donc rapidement vers le système digestif et inversement si elle n'est pas traitée à Temps.(Amari *et al*, 2020)

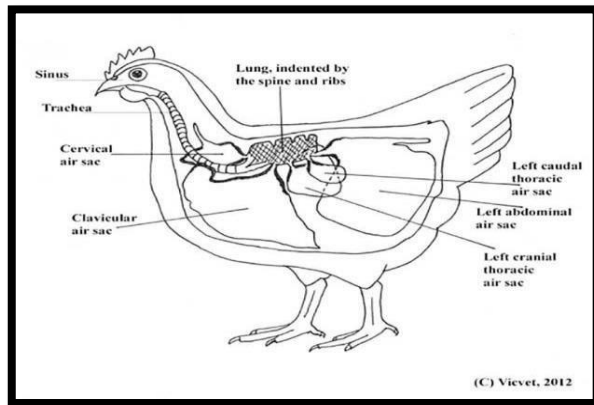


Figure (2) : Les sacs aériens chez le poulet. Adapté de Vicvet (2012).

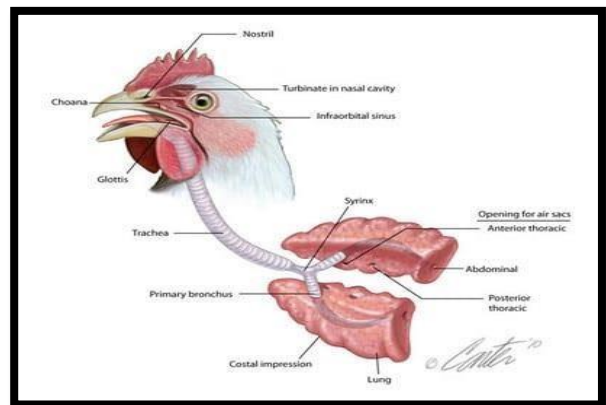


Figure (3) : Système respiratoire du poulet (Source : Rida, 2021)

1.2. Les maladies virales

En ce qui concerne la prévention et le Contrôle des maladies virales, il n'existe Pas de traitement spécifique. À côté de la vaccination réalisée à titre préventif, un Traitement antibiotique peut permettre, Une fois la maladie déclarée, d'éradiquer Le développement de bactéries opportunistes secondaires (Coudert & Donas, 2012)

La grippe aviaire

Largement médiatisée, la grippe aviaire (ou peste aviaire) n'est retrouvée en France Que sous la forme de quelques foyers dus A des souches peu dangereuses, bien que Le risque de forme suraiguë existe. La Symptomatologie comprend des signes Respiratoires accompagnés d'une diarrhée verdâtre, d'un œdème de la tête et De la crête. (Coudert & Donas, 2012)

L'anémie infectieuse du poulet

Isolé en 1979 au Japon, l'agent de l'anémie infectieuse est un virus de la famille Des Circoviridae. La maladie se caractérise par une anémie aplasique avec des Hémorragies sous-cutanées et intramusculaires. Les signes cliniques ne sont visibles que durant les deux à trois premières semaines d'âge, même si les poulets Demeurent sensibles au virus à tout âge

Avec une immunodépression modérée. La meilleure prévention consiste en la Vaccination des animaux reproducteurs Au moins six semaines avant l'entrée en Ponte. (Coudert & Donas, 2012)

La bronchite infectieuse

Décrite pour la première fois en 1930 Aux États-Unis, la bronchite infectieuse Est due à coronavirus, dont il existe une Douzaine de sérotypes, ayant un tropisme Respiratoire, génital, ou rénal. Elle affecte Surtout les poussins de moins de 5 semai-Nes qui présentent des difficultés respira-Toires comprenant de la toux, des râles Trachéaux et un écoulement nasal séro-Muqueux. La mortalité est souvent faible (5 à 25%), sauf pour les souches provo-Quant une atteinte rénale. Chez les poules Pondeuses, une chute de ponte et la pro-Duction d'œufs de mauvaise qualité, avec Des anomalies de la coquille (difformité, Irrégularités ou même absence), sont Relevées. La transmission de la maladie S'effectue par voie respiratoire, par les Aérosols et par les fèces. (Coudert & Donas, 2012)

La laryngotrachéite

Proche de la bronchite infectieuse, cette Pathologie, qui affecte essentiellement le Poulet, s'en distingue par la présence de Sang dans les crachats, la trachée étant à Vif. L'agent étiologique est un herpesvirus Qui n'entraîne que quelques cas sporadi-Ques en France. La maladie survient en Elevage après introduction d'oiseaux por-Teurs sains ou malades ou suite à l'emploi De vaccins insuffisamment atténués. (Coudert & Donas, 2012)

Le syndrome De la grosse tête de la poule

Maladie respiratoire infectieuse aiguë, le Syndrome de la grosse tête de la poule est Une pneumovirose provoquée par un virus De la famille des Paramyxoviridae qui tou-Che principalement les jeunes poulets de Chair âgés de 4 à 6 semaines, les repro-Ducteurs et les pondeuses, ainsi que les Pintades. La maladie évolue durant cinq à Dix jours. Hormis le gonflement de la tête Caractéristique, les animaux présentent Des éternuements, des râles respiratoires, Parfois un torticolis et des pertes d'équili-Bre liés à des otites. (Coudert & Donas, 2012)

La maladie de Gumboro

Décrite pour la première fois en 1962 dans La ville de Gumboro (États-Unis), la mala-Die de Gumboro, ou bursite infectieuse, Constitue l'une des premières affections de Par son importance économique. L'agent Causal est un birnavirus (Infectious bursal Disease virus ou IBDV) qui affecte les jeu-Nes poulets jusqu'à 6 semaines. Ce virus S'attaque aux lymphocytes B immatures Et provoque, notamment, une lympholyse Dans la bourse de Fabricius, ce qui consti-Tue un élément clé du diagnostic. La forme Clinique est observée chez les animaux Agés

de 3 à 6 semaines avec une mortalité pouvant atteindre 30 %. Les oiseaux malades présentent de l'abattement, de l'anorexie, une diarrhée blanchâtre profuse et aqueuse, une déshydratation et un ébouriffement des plumes. (Coudert & Donas, 2012)

La maladie de Marek

Cette maladie, dont la première description remonte à 1907 en Hongrie par le professeur Marek, est un lymphome associé à des tumeurs. Due à un herpesvirus, elle se manifeste le plus souvent chez les poulets de 12 à 14 semaines, parfois dès l'âge de 6 semaines. La paralysie, symptôme le plus fréquent dans le jeune âge, laisse les animaux couchés dans une attitude

Caractéristique : les pattes allongées, l'une en arrière, l'autre en avant. Les tumeurs peuvent toucher différents organes tels que les poumons, les reins, le foie ou les ovaires. Le virus étant excrété dans les follicules plumeux, la contamination se réalise par les poussières que les jeunes animaux inhalent. (Coudert & Donas, 2012)

La maladie de Newcastle

Également dénommée "pseudo- peste aviaire", la maladie de Newcastle est provoquée par un paramyxovirus. Les symptômes sont multiples : abattement, troubles respiratoires, diarrhée, troubles nerveux (tremblements, torticolis, paralysie). Les surinfections bactériennes fréquentes aggravent le tableau clinique. À l'heure actuelle, il n'existe pas de forme virulente de la maladie en France. La contamination s'effectue via les sécrétions, les fèces, le sol, les objets. (Coudert & Donas, 2012)

L'encéphalomyélite infectieuse

Pathologie des poussins et des dindonneaux, l'encéphalomyélite infectieuse est due à un virus de la famille des Picornaviridae. La clinique révèle des signes de tremblements de la tête et du cou et, parfois, des paralysies : les animaux se déplacent alors difficilement. Les survivants manifestent un retard de croissance et de la cataracte. Chez les reproducteurs, une chute de ponte est observée. (Coudert & Donas, 2012)

La variole aviaire

Il existe deux formes de variole aviaire dont l'agent pathogène est un poxvirus. N'engendrant qu'un retard de croissance avec une chute de ponte, la forme cutanée ou sèche se manifeste par des lésions de types pustules, puis vésicules jaunâtres et, enfin, croûtes marron sur les zones sans plume (crête, barbillons, commissures du bec, pattes). La forme diphtérique ou humide, dont les lésions siègent sur les muqueuses (bouche, larynx, pharynx, trachée), peut causer une détresse respiratoire avec asphyxie des animaux. Transmise par contact direct

entre animaux Infectés ou par les moustiques, la variole Aviaire touche la plupart des volailles : Poulets, dindes, pintades, canards... (Coudert & Donas, 2012)

Les leucoses

Les leucoses aviaires constituent un groupe de maladies immunosuppressives à l'origine de leucémies, de tumeurs digestives, de lésions viscérales, de troubles osseux et de paralysies des membres. L'impact est avant tout économique avec des pertes liées à une baisse du gain de poids ou de ponte. (Coudert & Donas, 2012)

La maladie de Derzsy

Décrite pour la première fois en 1967 par le hongrois Domokos Derzsy, cette maladie est due à l'action d'un parvovirus. Elle se manifeste par des signes nerveux rapidement mortels chez l'oison et le caneton de Barbarie de moins de 15 jours. Entre le 15^e et le 30^e jour, les oiseaux présentent des signes généraux : plumes ébouriffées, diarrhée, coryza. Ils accusent ensuite un retard de croissance. (Coudert & Donas, 2012)

Les autres viroses affectant l'oie et le canardLa parvovirose du canard de Barbarie

Une affection liée à un parvovirus, a supplanté la maladie de Derzsy, pour laquelle un programme de vaccination généralisée avait été mis en place à la fin des années 1980.

L'herpès virose du canard

Encore appelé peste du canard ou entérite virale du canard, entraîne une mortalité importante chez des animaux prostrés, qui présentent des tremblements, une diarrhée profuse verdâtre accompagnée d'une soif intense. De nombreux organes (cœur, foie...) comportent des pétéchies.

La réovirose du canard de Barbarie et de l'oie

Est une maladie virale très fréquente en France. Dans la forme aiguë, les animaux rampent les pattes en arrière en raison de douleurs articulaires et musculaires. Ces troubles locomoteurs sont inapparents dans la forme chronique pour laquelle ne sont observées que des baisses de performance. Il n'existe pas de vaccin (il existe une réovirose du même type affectant le poulet et pour laquelle une vaccination est possible).

La néphrite hémorragique entérite de l'oisonEst une maladie aiguë des jeunes oies, surtout âgées de 4 à 10 semaines. Les principaux signes cliniques sont un état comateux, des difficultés à se mouvoir, ainsi que l'arrêt de consommation d'eau et d'aliments. (Coudert & Donas, 2012)

Tableau 1: les vaccins aviaires (Coudert & Donas, 2012)

Maladies	Vaccins
Anémie infectieuse	Avipro [®] , Nobilis CAV P4 [®]
Bronchite infectieuse	Gallivac [®] , Bioral H120 [®] , Nobilis B.I. H120 [®] ...
Coccidiose	Hipracox [®] , Paracox-5 [®] , Paracox-8 [®]
Colibacillose	Nobilis E. coli [®]
Encéphalomyélite aviaire	Myelovax [®] , Nobilis Encéphalomyélite [®] ...
Entérite hémorragique de la dinde	Dindoral [®]
Erysipèle	Nobilis Erysipelas [®]
Hépatite virale du caneton	Hepatovax [®]
Laryngotrachéite aviaire	Nobilis Laryngo [®] , Poulvac Laryngo [®] ...
Maladie de Derzsy	Palmivax [®]
Maladie de Gumboro	Gumboriffa [®] , Avipro IBD X [®] , Poulvac Bursa [®] ...
Maladie de Marek	Cryomarex [®] , Nobilis Marek THV Lyo [®] ...
Maladie de Newcastle	Imopest [®] , Nobilis Newcavac [®] , Avipro ND C131 [®] ...
Mycoplasmoses	Nobilis MG 6/85 [®]
Parvovirose du canard de Barbarie	Deparmune [®] , Parvokan [®] , Parvol [®]
Pasteurellose	Poulvac Pabac [®]
Peste des palmipèdes	Vaxiduk [®]
Réovirose aviaire	Nobilis Reo Inac [®] , Nobilis Reo S1133 [®]
Rhinotrachéite infectieuse de la dinde	Poulvac TRT [®] , Aviffa-RTI [®] , Nobilis Rhino CV [®] ...
Salmonellose	Gallimmune SE+ST [®] , Poulvac iSE [®] , Avipro Salmonella Vac E [®] ...
Syndrome "chute de ponte"	Nobilis EDS [®] , COR-2 [®]
Syndrome de la grosse tête de la poule	NemovaC [®]
Variole aviaire	Diftosec [®] , Nobilis variole [®]

1.3. Les maladies bactériennes

Les infections engendrées par des bactéries se traduisent, en général, par des troubles respiratoires ou digestifs chez la plupart des espèces. **Les mycoplasmoses**

Affections causées par divers mycoplasmes (*M. gallisepticum*, *M. meleagridis*, *M. iowae*, *M. synoviae*, principalement), les mycoplasmoses sont dues à de mauvaises conditions d'élevage – manque d'aération, déséquilibre alimentaire – et à des agressions par d'autres agents, tels que les par une sinusite chez la dinde. Les animaux présentent, alors, un écoulement nasal, une respiration difficile, des larmolements et des chutes de ponte.

La transmission des mycoplasmes peut s'effectuer par l'œuf, à partir de poules porteuses du germe, mais également à partir des expectorations. Le traitement fait appel à des antibiotiques de la famille des macrolides, tétracyclines ou quinolones de troisième génération la spiramycine (Suanovil 50®), la tylosine (Tylan 100 Premix®) ou l'association spiramycineoxy tétracycline (Pneumobiotique®) peuvent, entre autres, être utilisées (Coudert & Donas, 2012)

La pasteurellose

Transmise par voie respiratoire ou par la nourriture souillée par les fientes, la pasteurellose (*Pasteurella multocida*) est aussi dénommée choléra aviaire. Les oiseaux les plus sensibles à la maladie sont le poulet, la dinde, le canard et l'oie.

Dans sa forme suraiguë ou aiguë, la pasteurellose entraîne la mort des animaux prostrés (plus souvent les palmipèdes) en quelques heures. En cas d'évolution moins foudroyante, les signes cliniques sont la perte d'appétit, des œdèmes des barbillons, une hyperthermie, une diarrhée verdâtre malodorante, une respiration difficile et une conjonctivite. La forme chronique du choléra peut être traitée avec la plupart des antibiotiques : sulfadiméthoxine-triméthoprim (Biaprim), fluméquine (Flumiquil, Flumival), spectinomycine (Spectam), chlortétracycline (Pulmoval), doxycycline (Doxysol, Pulmodox), amoxicilline (Amoxival, Cofamox, Suramox) (Coudert & Donas, 2012)

Le coryza infectieux

Maladie rencontrée plus fréquemment dans les régions chaudes ou après des changements de temps (humide/chaud), le coryza infectieux est causé par un coccobacille Gram négatif, *Avibacterium paragallinarum*. Il provoque un écoulement nasal séreux, puis muqueux, une inflammation des yeux, des éternuements et une enflure de la tête.

L'érythromycine, la gentamicine, la spectinomycine, la tétracycline et les associations sulfamides-triméthoprim constituent les antibiotiques actifs vis-à-vis du germe incriminé. (Coudert & Donas, 2012)

Les salmonelloses

Les salmonelloses aviaires sont classiquement rencontrées sous deux formes : la pullorose, affection des jeunes animaux provoquée par *S. pullorum*, et la typhose, maladie des adultes due à *S. gallinarum*. D'autres salmonelles (*S. typhimurium*, *S. enteritidis*...) peuvent être responsables de troubles digestifs chez les jeunes oiseaux. Chez les poussins, un ventre gonflé, une diarrhée liquide blanchâtre, une déshydratation, une arthrite, une perte d'équilibre, ainsi que des troubles respiratoires sont observés. Les adultes présentent une crête violet foncé, une diarrhée jaune-verdâtre avec parfois des traces de sang, un amaigrissement rapide et des ailes

pendantes ; des troubles respiratoires et nerveux accompagnent parfois les symptômes précédents. Une antibiothérapie à large spectre doit être mise en place (oxytétracycline :

Terramycine ; fluméquine : Flumiquil, Flumival). (Coudert & Donas, 2012)

Les colibacilloses

Si environ 15 % des colibacilles (*Escherichia coli*) réputés pathogènes sont des hôtes normaux du tube digestif aviaire, ils peuvent néanmoins engendrer certaines diarrhées, les animaux refusant de boire. Les colibacilloses Par ce type de bactéries se produisant essentiellement par voie aérienne ou génitale, les symptômes le plus fréquemment rencontrés sont : éternuements, jetage nasal, conjonctivite, sinusite, omphalite, infection du sac vitellin, salpingite, ovarite et œdème sous-cutané.

La plupart du temps, les colibacilloses sont source de surinfection plutôt que la cause primaire d'une maladie. Plusieurs classes d'antibiotiques sont efficaces dans ce type de pathologie, quinolones par voie orale (acide oxolinique : Inoxyl, fluméquine, Flumiquil, Flumival, enrofloxacin Baytril, Kariflox, Lanflox, Quinoflox, Tenotryl), aminosides par voie parentérale (spectinomycine, Spectam), bêta-lactamines par voie orale (amoxicilline, Amoxival, Cofamox, Suramox ; ampicilline : Ampina, Ampisol), bêta-lactamines par voie injectable (ampicilline, Ampiject), tétracyclines (oxytétracycline, Terramycine, chlortétracycline, Pulmoval, doxycycline, Doxysol, Pulmodox). (Coudert & Donas, 2012)

La tuberculose

Rare en élevage industriel, la tuberculose aviaire est retrouvée principalement en élevage fermier. Toutes les espèces d'oiseaux sont sensibles à *Mycobacterium avium*, la contamination s'effectuant par voie orale à partir d'eau ou d'une alimentation souillées par les fientes d'oiseaux sauvages ou de volailles âgées infectées.

Les animaux s'amaigrissent, avec une atrophie des muscles pectoraux, et présentent des boiteries, des diarrhées verdâtres, ainsi qu'une pâleur de la face et de la crête, témoins d'une anémie.

Pour des raisons hygiéniques, aucun traitement n'est mis en place. C'est pourquoi il convient d'éliminer toutes les volailles et d'interdire le terrain aux porcs et aux bovins, de brûler tout ce qui peut l'être et de désinfecter les locaux en dur. Toute nouvelle introduction de sujets sera évitée pendant au moins six mois. (Coudert & Donas, 2012)

L'entérite nécrotique

Maladie bactérienne digestive, fréquente en élevage de poulets et de dindes, l'entérite nécrotique semble coïncider avec une transition alimentaire brutale (aliment tout blé).

Elle résulte de l'action de clostridies (*Clostridium perfringens*) et de toxines sur la muqueuse intestinale, provoquant ainsi sa destruction avec diarrhée.

Un traitement peut être mis en place en faisant appel, par exemple, à l'association spiramycine-oxytétracycline (Pneumobiotique). (Coudert & Donas, 2012)

Le botulisme

Affection nerveuse, le botulisme résulte de l'action de neurotoxines bactériennes produites par des bactéries du genre *Clostridium*. Poulets, dindes, pintades et canards peuvent être atteints.

Ils présentent alors une paralysie flasque ascendante atteignant d'abord les pattes, puis les ailes, le cou et les paupières. La mort survient en une semaine maximum, suite à la paralysie des muscles abdominaux et cardiaques.

Les sources de contamination proviennent d'animaux malades porteurs sains ou de litières contaminées par des cadavres. Un traitement préventif à base de tylosine (Tylan®) pour les animaux en milieu infecté est envisageable en vue de stopper la propagation de la maladie. (Coudert & Donas, 2012)

La riemerellose

Mise en évidence au début des années 1970 en France, la riemerellose est une infection qui touche les palmipèdes, parfois la dinde et le poulet.

Due à un bacille Gram négatif (*Riemerella anatipestifer*), la maladie atteint les animaux âgés de 2 à 6 semaines et provoque des troubles respiratoires accompagnés d'une diarrhée blanchâtre.

De plus, les oiseaux rampent les pattes en arrière et présentent des tremblements de la tête qui se tient renversée vers l'arrière. En l'absence de traitement, la mort survient en quelques jours. L'antibiothérapie (amoxicilline, doxycycline, fluméquine, enrofloxacin, acide oxolinique) doit toujours être associée à un antibiogramme compte tenu des résistances possibles. (Coudert & Donas, 2012)

La chlamydiose

La chlamydiose ou chlamydophilose aviaire est encore appelée ornithose ou psittacose. Cette maladie infectieuse et contagieuse se rencontre chez les espèces vivant en colonie, comme les volailles domestiques telles que les dindes et les canards.

L'agent responsable de la maladie est une bactérie Gram négatif, *Chlamydia psittaci*. Souvent inapparente, l'infection peut se traduire par un catarrhe oculo-nasal, une conjonctivite, une diarrhée verdâtre, des plumes hérissées et une perte de poids importante.

La maladie est introduite dans les élevages par les oiseaux sauvages ou le commerce de sujets infectés. Les matières virulentes les plus importantes sont les fèces et les sécrétions nasales.

Un traitement est possible, le germe étant sensible à l'oxytétracycline ou à la chlortétracycline. (Coudert & Donas, 2012)

L'ornithobactériose

De découverte récente (1993), l'ornithobactériose, maladie bactérienne provoquée par une bactérie Gram négatif (*Ornithobacterium rhinotracheale*), se rencontre essentiellement chez la dinde et le poulet. Les signes cliniques peuvent être multiples : respiratoires, locomoteurs avec retards de croissance et chutes de ponte. La mort des animaux est observée dans 2 à 10 % des cas. Le traitement fait appel à l'amoxicilline ou à la spectinomycine. (Coudert & Donas, 2012)

La staphylococcose

Infection opportuniste provoquée par *Staphylococcus aureus*, la staphylococcose engendre principalement des troubles locomoteurs en liaison avec une arthrite.

Les bêta-lactamines, les tétracyclines et les quinolones de troisième génération sont efficaces dans ce type de pathologie. (Coudert & Donas, 2012)

1.4. La prévention des maladies respiratoires passe en premier lieu par le contrôle et l'optimisation de l'hébergement et de la climatisation :

L'hébergement et la climatisation doivent toujours être évalués en fonction des caractéristiques du bâtiment (densité d'occupation, type et âge des animaux, système de ventilation et de chauffage, type de sol, etc.). De plus, dans le secteur de l'élevage de la volaille, aucune étable n'est identique à une autre (poules pondeuses élevées au sol, volière d'élevage, étable avec accès à l'air libre, élevage pour poulets de chair et de poules reproductrices).

À l'aide de différents types de senseurs placés à la hauteur des poulets, il est possible de vérifier par exemple la température et l'humidité, deux paramètres qui doivent être surveillés et enregistrés. La ventilation du bâtiment doit être réglée aussi en fonction du stade de croissance des animaux et de leur poids corporel, de la température externe, de l'humidité (g/m^3) et du type de chauffage.

La ventilation (renouvellement, débit et distribution de l'air) est réglée à l'aide de dispositifs qui doivent être révisés régulièrement. Le recours au test fumée est recommandé pour vérifier la distribution de l'air pénétrant dans le bâtiment et donc pour détecter les courants d'air ou les zones mal aérées. Une mauvaise composition de l'air et un débit d'air incorrect

provoquent des pertes supplémentaires chez les poules pondeuses, une augmentation des pontes hors nid et une litière humide. Chez les poulets de chair, ces mauvaises conditions se traduisent par des résultats décevants, une litière plus humide et une augmentation des lésions des coussinets plantaires.

La biosécurité, c'est-à-dire l'ensemble des mesures visant à prévenir l'introduction et la diffusion de maladies dans un élevage, a toute son importance dans le cadre de la prévention des pathologies respiratoires chez les poulets. Les agents pathogènes peuvent être introduits par des animaux vivants infectés (faune domestique ou sauvage), des rongeurs ou des insectes, les vêtements ou les instruments de travail, les aliments, les camions ou autres véhicules. Il est conseillé de respecter le principe d'un chemin « propre » et d'un chemin « sale ».

Le chemin « propre » est réservé aux mouvements internes à l'exploitation. Le trafic de véhicules qui vont et viennent d'une exploitation à l'autre s'effectuera par le chemin « sale ». L'enlèvement de cadavres passe évidemment par le chemin sale. Le lieu de stockage des cadavres se situe idéalement le plus loin possible des locaux d'élevage, le long de la voie publique, afin que les camions de l'entreprise de destruction demeurent à bonne distance. Les quais de chargement et de déchargement des cadavres doivent être en revêtement dur et ils doivent être nettoyés et désinfectés après chaque opération.

Plusieurs infections (dus à des virus ou à *Mycoplasma* par exemple) peuvent contaminer d'autres exploitations par voie aérienne. La distance entre les exploitations revêt donc un intérêt majeur. Dans les régions à forte densité de production, il s'avère donc plus difficile d'empêcher certaines infections, c'est pourquoi il est essentiel de consacrer une grande attention à la biosécurité. Les étangs et les réservoirs d'eau non clos doivent être évités au maximum au sein des exploitations avicoles. Les eaux dormantes constituent un lieu de reproduction idéal pour les insectes et attirent également les oiseaux. Si un étang se situe à proximité des bâtiments, le mieux est de le couvrir d'un filet pour le protéger des oiseaux sauvages.

Il est recommandé de respecter les mesures d'hygiène telles que le nettoyage, la désinfection et le vide sanitaire entre les cycles de production successifs. Il est en outre important que le matériel utilisé pour élever les animaux soit toujours propre et qu'il soit nettoyé et désinfecté après chaque cycle. Les conduites d'eau doivent également être nettoyées à ce moment. Il est indiqué de les remplir d'eau additionnée de désinfectant dès le premier jour d'inoccupation. On pourra ainsi les nettoyer sous haute pression pour évacuer tous les résidus. Idéalement, les conduites seront également rincées régulièrement au cours des cycles pour maintenir la qualité optimale de l'eau ; les conduites seront certainement lavées après chaque

administration de médicaments via l'eau d'abreuvement. Il est aussi recommandé de procéder une fois par an à un nettoyage par air comprimé pour éliminer toutes les saletés résiduelles.

L'efficacité du nettoyage sera vérifiée en analysant régulièrement la qualité de l'eau.

Il est recommandé de ne pas transférer le matériel d'un bâtiment à l'autre et donc de pouvoir identifier facilement le matériel propre à un bâtiment en le marquant par exemple d'une couleur particulière.

Après le processus de nettoyage et de désinfection complets, il est recommandé de prévoir une période de vide sanitaire. Durant cette période, l'étable sèche complètement (il ne faut cependant pas oublier de contrôler sa température, surtout en hiver), ce qui assure une nouvelle baisse du nombre de germes restant encore dans les bâtiments. La plupart des germes résistent en effet mal, voire pas du tout, à une phase de sécheresse.

Cette évaluation se fait à l'aide d'un hygiénogramme. Cette procédure est bien connue dans le secteur avicole.

On prend, dans chaque compartiment, plusieurs échantillons à des endroits différents. Pour cela, il suffit de mettre en contact des plaques RODAC avec différentes surfaces (sol, cloisons, abreuvoirs, mangeoires...).

Ces plaques sont ensuite envoyées à un laboratoire où, après incubation, le nombre de colonies de germes présentes sur chaque plaque RODAC est comptabilisé.

Il est ainsi possible de savoir si le nombre de germes a suffisamment diminué au terme du processus de nettoyage et de désinfection (Coudert & Donas, 2012)

Chapitre II: Système immunitaire aviaire

2.1. Structure du système immunitaire aviaire:

Le système immunitaire des oiseaux présente des similarités avec celui des mammifères, car tous deux ont évolué à partir d'un même ancêtre commun reptilien. L'accent est mis sur les particularités aviaires en comparaison des mammifères. (Tsocanakis, 2023)

.À l'échelle des organes et des tissus

À l'instar du système immunitaire des mammifères, celui des oiseaux est composé d'organes lymphoïdes primaires et secondaires. Olah *et al.* (2014) ont explicité les structures et les rôles de chacun d'entre eux. montre la localisation anatomique des principaux organes lymphoïdes.

- **Organes lymphoïdes primaires** Le thymus est l'organe siège de la production des lymphocytes T. De chaque côté du cou des oiseaux, 7 à 8 lobes séparés s'étendent parallèlement aux veines jugulaires internes, de la troisième vertèbre cervicale aux premiers segments thoraciques. La structure histologique est comparable à celle des mammifères. La bourse de Fabricius est un organe propre aux oiseaux, dans lequel a lieu la production et la maturation des lymphocytes B (qui sont produits dans la moelle osseuse chez les mammifères). Il s'agit d'un sac situé entre le cloaque et le sacrum, relié au proctodeum par un conduit, recouvert d'une épaisse couche musculaire et d'une séreuse. À l'intérieur, la bourse est organisée en une quinzaine de feuillets longitudinaux dont l'apex est orienté vers la lumière de l'organe. Chaque feuillet est constitué de follicules (ou lobules) formant deux couches séparées par un septum conjonctif et vasculaire, recouverts par un épithélium de revêtement. Les structures conjonctivo-vasculaires sont reliées à celles de la couche muqueuse, qui tapisse la musculature. Un follicule comprend une corticale (cellules réticulaires fibroblastiques et macrophagiques, capillaires sanguins) et une médullaire (cellules réticulaires épithéliales et macrophagiques, lymphoblastes) ; il contient les lymphocytes B produits et des plasmocytes. L'histologie topographique de l'organe est illustrée.

- **Organes lymphoïdes secondaires** Contrairement aux mammifères, la majorité des oiseaux ne possèdent pas de véritables nœuds lymphatiques, qui sont remplacés par des « nœuds lymphatiques muraux » associés aux vaisseaux lymphatiques et n'interrompant pas le flux lymphatique. Quelques espèces aquatiques font exception, comme le cygne (*Cygnus* sp.) et le canard (*Anas* sp.) qui possèdent des sortes de nœuds lymphatiques. Histologiquement, les sinus lymphatiques aviaires ne comportent pas de système de filtre, tandis que chez les mammifères ce rôle est assuré par des fibres réticulaires et des macrophages. Les lymphocytes qu'ils contiennent sont majoritairement de type B, tandis que la proportion en lymphocytes T est plus

importante dans les nœuds lymphatiques de mammifères. détaille la structure des nœuds lymphatiques muraux en microscopie électronique.

2.2.Système immunitaire inné et adaptatif chez les oiseaux

2.2.1. Le système immunitaire inné

Le système immunitaire inné est activé lorsque des cellules sentinelles, telles que les cellules dendritiques (DC), les cellules tueuses naturelles (NK) et les macrophages, reconnaissent les motifs moléculaires associés aux agents pathogènes sur des composés non-soi (antigènes) via leurs récepteurs de reconnaissance des motifs (PRRs) [Ferreira Júnior *et al.*, 2018, X.-Y. Zhang *et al.*, 2021]. Parmi les PRRs, les récepteurs de type Toll (TLRs) constituent une sous-famille importante. Alors que les mammifères possèdent 13 TLRs, seuls 10 ont été identifiés chez les oiseaux, dont cinq sont des orthologues clairs des TLRs des mammifères [Birhan, 2024, Velová *et al.*, 2018]. Notamment, les poulets sont dépourvus du gène 1 inductible par l'acide rétinolique (RIG-1), un PRR responsable de la médiation de la production d'interféron- β . Cette absence pourrait contribuer à leur susceptibilité accrue aux virus influenza A hautement pathogènes [Woo *et al.*, 2022].

Lors de la reconnaissance d'un antigène, les cellules présentatrices d'antigènes (CPAs), principalement composées de DC et de macrophages [Nagy *et al.*, 2022], le traitent de manière endogène ou exogène, présentant les peptides résultants à leur surface liés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I ou de classe II [Mehrzhad *et al.*, 2024]. Contrairement au CMH complexe des mammifères, les poulets possèdent un CMH essentiel minimal, ce qui a des implications significatives pour leur réponse immunitaire, notamment contre des agents pathogènes tels que des virus comme le virus du sarcome de Rous [Kaufman, 2000, Wallny *et al.*, 2006]. Le complexe peptide-CMH est présenté aux lymphocytes, en particulier aux lymphocytes T, qui reconnaissent l'antigène via leur récepteur des cellules T (TCR). Cette reconnaissance est facilitée par des corécepteurs, tels que CD8 et CD4, qui se lient spécifiquement aux molécules du CMH de classe I et de classe II, respectivement [Kohlgruber *et al.*, 2024].

En plus de la présentation des antigènes, les CPAs produisent des cytokines, qui sont des messagers moléculaires régulant et coordonnant l'activité des cellules immunitaires au cours des réponses immunitaires innée et adaptative [Kaiser, 2010]. Les cytokines telles que l'interleukine (IL)-1 β et l'IL-6, produites en réponse aux agents pathogènes reconnus, jouent un rôle crucial dans la modulation de l'activité des leucocytes et la stimulation de la production de peptides antimicrobiens et d'interférons (IFNs), qui contribuent à l'élimination des agents pathogènes [Nishimichi *et al.*, 2006, Truong *et al.*, 2023]. Notamment, 23 gènes d'interleukines ont été identifiés chez les poulets [Kaiser, 2010]. Parmi les peptides antimicrobiens, les

β défensines aviaires (AvBDs) et la cathélicidine sont particulièrement efficaces pour tuer les agents pathogènes — notamment les virus enveloppés, les bactéries et les champignons — en perturbant leurs membranes [Yoshimura *et al.*, 2024].

Un autre composant essentiel du système immunitaire inné des poulets est l'hétérophile, qui fonctionne de manière analogue aux neutrophiles chez les mammifères [Redmond, 2024]. Ces globules blancs granulocytaires constituent la première ligne de défense contre les agents pathogènes envahissants, déclenchant une réponse immunitaire qui progresse vers l'élimination des pathogènes [Genovese *et al.*, 2013]. Les hétérophiles répondent rapidement aux agents pathogènes en les internalisant dans des phagosomes et en utilisant divers mécanismes de destruction, notamment l'explosion oxydative, la dégranulation et la libération de pièges extracellulaires des hétérophiles [Kaiser, 2010]. Chez les poussins nouvellement éclos, lorsque le système immunitaire inné n'est pas encore pleinement développé, de grandes quantités d'hétérophiles sont libérées par la rate. Cependant, leur nombre diminue significativement au cours de la première semaine post-éclosion, entraînant une fonctionnalité limitée des hétérophiles durant cette période. Par conséquent, les jeunes poussins sont plus vulnérables aux infections durant la phase précoce post-éclosion comparativement aux oiseaux plus âgés [Mehrzhad *et al.*, 2024].

2.2.2. Le système immunitaire adaptatif

Bien que l'immunité innée constitue une première ligne de défense rapide et efficace, elle ne peut pas établir de réponses immunitaires durables ni créer une mémoire immunologique. L'immunité adaptative est essentielle pour cibler les agents pathogènes envahissants spécifiques, les éliminer et assurer une protection contre les rencontres futures avec le même agent pathogène [Mehrzhad *et al.*, 2024]. La réponse immunitaire adaptative débute avec un nombre limité de lymphocytes T et B spécifiques d'un agent pathogène donné. Lors de la rencontre avec l'antigène, ces cellules prolifèrent pour générer une réponse immunitaire robuste et efficace [X.-Y. Zhang *et al.*, 2021]. Ce système est hautement spécialisé et adapté au type spécifique d'agent pathogène, assurant une protection précise et efficace [Meijerink *et al.*, 2021, Mtshali and Adeleke, 2020, T. Zhang *et al.*, 2024].

Les CPAs présentent des complexes épitope-CMH aux lymphocytes, en particulier aux lymphocytes T. Les cellules T reconnaissent ces complexes via leur complexe récepteur antigénique (TCR), leur permettant de se lier aux épitopes et d'identifier les molécules du CMH associées. Les cellules T spécialisées comprennent les lymphocytes T cytotoxiques (CTLs) CD8+, qui tuent directement les cellules infectées, et les cellules T auxiliaires (Th) CD4+, qui régulent l'immunité adaptative par la production de cytokines [Ferreira Júnior *et al.*, 2018, Kaiser, 2010].

Les cellules T auxiliaires sont davantage catégorisées en sous-ensembles distincts, notamment les cellules Th1 et Th2. Les cellules Th1 stimulent l'immunité à médiation cellulaire en soutenant les cellules T cytotoxiques, les cellules NK, les macrophages et d'autres cellules effectrices, tandis que les cellules Th2 sont impliquées dans l'immunité humorale, assistant les cellules B et les éosinophiles [Kaiser, 2010]. En plus des sous-ensembles Th1 et Th2, des études chez les oiseaux ont identifié d'autres sous-ensembles de cellules T auxiliaires, tels que Th17, qui contribuent à la régulation immunitaire et à la défense [Zhao *et al.*, 2014].

L'autre population lymphocytaire cruciale est celle des cellules B qui, outre leur rôle dans la production d'anticorps, peuvent également fonctionner comme cellules présentatrices d'antigènes. Les antigènes qui se lient au récepteur des cellules B sont internalisés et présentés sur les molécules du CMH de classe II, qui interagissent avec les récepteurs des cellules T pour initier une réponse immunitaire coordonnée [X.-Y. Zhang *et al.*, 2021]. De plus, les cellules B subissent une prolifération et une différenciation antigène-dépendantes en plasmocytes, qui sécrètent des immunoglobulines (Ig), et en cellules mémoires, qui assurent une immunité à long terme. Pour que cette prolifération et cette différenciation se produisent, les interactions avec des molécules costimulatrices et des cytokines sont essentielles. Ce processus induit également la commutation de classe des anticorps, aboutissant à des plasmocytes produisant des anticorps adaptés pour cibler des antigènes spécifiques. La génération de cellules B mémoires constitue le fondement du succès des stratégies de vaccination [Kealy and Good-Jacobson, 2021].

Contrairement aux cellules B des mammifères, le développement des cellules B aviaires se déroule en trois phases distinctes : pré-bursale, bursale et post-bursale. La bourse de Fabricius joue un rôle essentiel dans ce processus, soutenant le développement et la maturation des lymphocytes B chez les oiseaux [Sayegh, 2024]. Un aspect unique des cellules B des poulets est le recours à la conversion génique pour introduire la diversité de séquences dans les gènes des immunoglobulines. Ce mécanisme compense la diversité limitée en acides aminés et est suffisant pour produire un répertoire d'anticorps capable de monter une réponse immunitaire efficace. De manière remarquable, cette approche est aussi efficiente que les mécanismes de réarrangement génique observés chez les mammifères [Mallaby *et al.*, 2022, X.-Y. Zhang *et al.*, 2021].

2.2.3. Les immunoglobulines aviaires

Les anticorps, ou immunoglobulines (Igs), sont des molécules spécialisées qui reconnaissent et se lient aux agents étrangers avec une haute spécificité et sensibilité [Ferreira Júnior *et al.*, 2018, Pomarici *et al.*, 2023]. Chez les mammifères, il existe cinq classes d'immunoglobulines — IgM, IgA, IgD, IgG et IgE — distinguées par leurs isotypes de chaînes

lourdes (H) (μ , α , δ , γ et ϵ). Chaque isotype est caractérisé par des structures uniques dans ses domaines de région constante, qui confèrent aux classes d'immunoglobulines des rôles fonctionnels distincts [Bengtén, 2024]. Bien que la réponse anticorps aviaire soit fonctionnellement similaire à celle des mammifères, les poulets présentent une diversité d'isotypes limitée, ne produisant que trois types d'immunoglobulines : IgM, IgY et IgA. Ce répertoire simplifié reflète un système d'anticorps plus simple tout en maintenant la capacité de répondre efficacement aux antigènes [Härtle *et al.*, 2022].

Les plasmocytes B produisent de grandes quantités d'immunoglobuline A sécrétoire (SigA), qui est l'immunoglobuline dominante dans les sécrétions externes [Merino-Guzmán *et al.*, 2017]. La SigA est essentielle pour la défense immunologique primaire, protégeant les surfaces muqueuses des tractus gastro-intestinal, respiratoire et génito-urinaire contre l'invasion des agents pathogènes [Wieland *et al.*, 2004].

L'immunoglobuline M (IgM), présente principalement sous sa forme pentamérique, constitue la première ligne de défense contre les agents pathogènes et est présente dans le sérum des poulets à des concentrations de 1 à 2 mg/mL [Zhang *et al.*, 2021]. C'est la seule classe d'anticorps conservée chez toutes les espèces vertébrées et elle est exprimée sous sa forme monomérique à la surface des cellules B, où elle fonctionne comme récepteur antigénique des cellules B [Gong and Ruprecht, 2020].

L'immunoglobuline Y (IgY) est largement considérée comme l'équivalent fonctionnel de l'IgG des mammifères, certains chercheurs préférant utiliser le terme « IgG aviaire » plutôt qu'IgY. Malgré cette similarité fonctionnelle, des différences structurales existent entre ces deux immunoglobulines. L'IgY possède un domaine constant supplémentaire de chaîne lourde, contribuant à sa masse moléculaire plus élevée d'environ 180 kDa. Contrairement à l'IgG, l'IgY est dépourvue de région charnière, ce qui entraîne une flexibilité réduite, et elle contient deux sites de glycosylation [Gilgunn *et al.*, 2016].

L'IgY est l'anticorps prédominant dans le sérum et le jaune d'œuf, constituant l'isotype dominant lors de la réponse immunitaire secondaire après la production initiale d'IgM au cours de la réponse primaire [Mehrzhad *et al.*, 2024]. Chez les poussins nouvellement éclos, le système immunitaire n'est pas encore pleinement développé, et la protection antigène-spécifique est assurée par les anticorps maternels [Ulmer-Franco, 2012]. Tandis que l'IgM et l'IgA se trouvent dans le blanc d'œuf [El-Ghany, 2021], seule l'IgY est transférée vers le jaune d'œuf, puis vers le poussin, via un processus en deux étapes impliquant un récepteur Fc spécifique de l'IgY, le FcRY [Okamoto *et al.*, 2024].

En raison des rendements élevés d'IgY pouvant être extraits efficacement du jaune d'œuf, cet anticorps a démontré un potentiel significatif pour des applications prophylactiques, thérapeutiques ou diagnostiques, tel que documenté dans de nombreuses études scientifiques [Grzywa *et al.*, 2023, Karachaliou *et al.*, 2021, Lee *et al.*, 2021 ; Pereira *et al.*, 2019, Spillner *et al.*, 2012]..

Chapitre III: Les vaccins et vaccination intranasale

3.1.Définition de vaccin et leur type :

Un vaccin est une préparation biologique antigénique destinée à stimuler l'immunisation active de l'organisme contre les maladies, quel que soit le type de microorganisme ou de toxine microbienne dont il peut être dérivé ou qu'il contient (OIE, 2009). Il peut contenir des agents pathogènes atténués ou inactivés, des fragments antigéniques, ou du matériel génétique tel que l'ARN messager (WHO, 2024). Son administration induit une réponse immunitaire spécifique et durable, impliquant la production d'anticorps et l'activation des lymphocytes T et des cellules mémoires, permettant ainsi à l'organisme de reconnaître et de combattre l'agent pathogène lors d'une exposition ultérieure (WHO, 2021). Comme tout médicament, les vaccins peuvent présenter des effets secondaires généralement bénins et transitoires, tels qu'une légère fièvre ou une rougeur au point d'injection, tandis que les effets secondaires sévères demeurent extrêmement rares (WHO, 2021).

3.1.1.Les vaccins traditionnelle :

3.1.1.1.Les vaccins vivants atténués:

Les vaccins vivants atténués sont constitués de germes (virus, bactérie) vivants qui ont été modifiés afin qu'ils perdent leur pouvoir infectieux en gardant leur capacité à induire une protection chez la personne vaccinée. Ils sont conçus à partir d'un agent pathogène d'origine, dont la capacité à provoquer une maladie a été diminuée par différents procédés, tels que des passages répétés en culture cellulaire ou des modifications génétiques induisant des mutations spécifiques. Malgré cette atténuation, l'agent conserve son état vivant et sa faculté de se répliquer dans l'organisme une fois administré, ce qui stimule efficacement le système immunitaire (OMS, 2021).

La multiplication de l'agent atténué dans l'organisme entraîne une activation intense du système immunitaire, ce qui renforce considérablement l'efficacité vaccinale. Grâce à cette stimulation importante, les vaccins vivants atténués sont réputés pour leur fort pouvoir immunogène, induisant une réponse immunitaire solide et durable, souvent obtenue dès la première administration. Ce type de vaccins est très efficace ; cependant, une légère virulence résiduelle peut persister chez certains vaccins, ce qui impose une attention particulière, notamment dans le cas d'animaux immunodéprimés, chez qui des effets indésirables peuvent survenir (INSERM, 2020). Chez un sujet sain et apte à répondre efficacement à la vaccination, les vaccins vivants atténués offrent une protection durable et rapide (Santé publique France, 2023).

Ce type de vaccins est largement utilisé en raison de leur facilité d'administration et de leur coût inférieur par rapport aux vaccins inactivés. Cependant, ces vaccins présentent une certaine fragilité et sont particulièrement sensibles à plusieurs facteurs, ce qui requiert une gestion rigoureuse du stockage et de la préparation pour garantir leur efficacité (HUANG ET KUO, 2022). De plus, parce qu'ils contiennent un agent infectieux vivant, ils sont (sauf exception) contre-indiqués chez les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées.

3.1.1.2 Vaccins Inactives:

Les vaccins tués sont constitués de virus ou de bactéries cultivés en masse et inactivés par des traitements appropriés (formol, β -propiolactone, phénol, chaleur, rayons UV). Almroth Wright devait démontrer en 1897 que c'est la quantité d'antigènes injectés qui induit l'immunité et qu'on obtenait ainsi la production d'anticorps et une résistance de l'organisme à l'infection. Pasteur n'avait pas réussi à obtenir de réaction immunitaire par ce procédé car la quantité de germes utilisés était trop faible, et le nombre d'injections insuffisant. Les vaccins inactivés ont l'avantage d'éliminer tout risque lié au caractère infectieux. Ces préparations sont inertes et ne peuvent provoquer que de faibles réactions d'intolérance ou d'hypersensibilité, ou encore une réaction fébrile temporaire. C'est la raison pour laquelle tous les vaccins inactivés peuvent être utilisés chez la femme enceinte et les personnes immunodéprimées. Pour être efficaces, les vaccins à germes tués nécessitent donc d'être associés à un adjuvant ayant pour but de retenir les antigènes suffisamment longtemps au site d'injection et de fournir des signaux de différenciation et d'activation aux monocytes et aux cellules dendritiques. L'attraction des cellules inflammatoires et leur activation par la combinaison antigèneadjuvant sont responsables de la rougeur, la chaleur et la sensibilité parfois observées au site d'injection (Chapon, 2024)

Tableau 2 : Résumé des principales différences entre vaccins vivants et inactives (GAVI, 2023)

Les vaccins vivants atténués utilisent un pathogène affaibli vivant : forte immunité, peu de doses, mais contre-indiqués chez les immunodéprimés et femmes enceintes.

Les vaccins inactivés utilisent un pathogène tué ou ses fragments : plus sûrs pour tous, mais immunité plus faible nécessitant des rappels (GAVI, 2023)

Paramètres	Vaccin vivant	Vaccin inactivé
Antigène	Faible quantité, se multiplie chez l'hôte	Grande quantité, pas de multiplication
Administration	Possible en mode collectif	Quasi exclusivement individuelle
Adjuvant	Absent	Indispensable
Sensibilité aux anticorps déjà présents	Plutôt forte	Plutôt faible
Effet de rappel	Peu visible	Fort, surtout chez un oiseau immunocompétent et primovacciné
Stimulation de l'immunité locale	Forte	Plutôt faible
Réactions vaccinales	Possible en cas d'atténuation faible ou d'administration inadéquate	Liées à l'adjuvant
Couplage à d'autres vaccins	Généralement à éviter à cause des interactions possibles	Possible
Établissement de l'immunité	Rapide	Lente
Durée d'immunité	Dépend du vaccin mais plutôt courte (6-8 semaines)	Longue
Peuvent exister en autovaccin	Non	Oui

3.1.1.3. Vaccins sous unitaires:

Il n'est pas toujours nécessaire d'inclure l'agent pathogène entier dans la formulation du vaccin, car certains antigènes peuvent induire à eux seuls des réponses immunitaires protectrices. Les vaccins sous-unitaires sont des vaccins stables, bien établis et considérés comme sûrs car ils ne contiennent pas de composants viraux vivants, ce qui réduit également le risque d'effets secondaires graves (Ravikumar *et al.*, 2022) Cependant, les vaccins à base de protéines sous-unitaires ont également tendance à avoir une faible réponse immunogène, car ils peuvent être dépourvus des motifs moléculaires associés aux agents pathogènes présents sur le virus entier. Pour remédier à ce problème, les vaccins sous-unitaires nécessitent des dosages élevés, des adjuvants et des rappels fréquents afin de maintenir la réponse protectrice (Aida *et al.*, 2021) Les vaccins sous-unitaires gagnent en importance dans la prévention des maladies aviaires en raison de leur sécurité et de leur spécificité antigénique. Par exemple, un vaccin contre la grippe aviaire développé a récemment obtenu une autorisation conditionnelle aux États-Unis pour une utilisation chez les volailles, en réponse à l'émergence de cas humains (Reuters, 2025)

3.1.1.4. Les vaccins à vecteurs viraux :

Divers viraux vecteurs importants 2.1. Virus de la maladie de Marek et herpèsvirus de la dinde La maladie de Marek (MM), provoquée par le MDV, se caractérise par une

immunosuppression hautement contagieuse, l'apparition de lymphomes malins à cellules T et la présence de troubles neurologiques chez les poulets) Calnek ,2001)

. Actuellement, trois sérotypes ont été identifiés : le MDV-1, le MDV-2 et le MDV-3, également connus sous les noms de Mardivirus gallidalpha2, Mardivirus gallidalpha3 et Mardivirus meleagridalpha1, respectivement. Ces virus appartiennent à la famille des Orthoherpesviridae, sous-famille des Alphaherpesvirinae, genre Mardivirus. Le MDV-1 comprend des souches oncogènes et leurs variantes atténuées. Les deux autres espèces, MDV2 et MDV-3, sont des virus non oncogènes isolés respectivement chez les poulets et les dindes. Ce dernier est également connu sous le nom de HVT)McPherson & Delany ,2016)

Récemment, l'utilisation de vaccins à vecteur viral recombinant utilisant le MDV-1 atténué ou le HVT a attiré un intérêt considérable en raison de sa capacité à contourner l'interférence des anticorps maternels, à induire une infection persistante pour une immunité à vie) Calnek ,2001) et à servir de plateforme efficace pour le développement de vaccins multivalents De plus, le vaccin à base de HVT présente un avantage unique par rapport aux autres vecteurs viraux sûr : son caractère naturellement apathogène, ce qui le rend plus que le MDV-1 atténué

3. 2.voies d'administration des vaccins chez les volailles :

3.2.1.vaccination par eau de boisson:

La vaccination par eau de boisson est une méthode fréquemment utilisée pour administrer des vaccins aux oiseaux, en particulier dans les élevages ou pour les populations animales nombreuses, afin d'assurer une immunisation rapide et efficace. Toutefois, cette technique ne peut être appliquée qu'aux oiseaux âgés de plus de 5 jours, en raison de la variabilité de leur consommation d'eau durant les premiers jours de vie (MARTIN, 2022). Avant la vaccination, nettoyez les abreuvoirs avec de l'eau propre, sans détergent ni désinfectant, puis coupez l'alimentation en eau. Videz les canalisations et les abreuvoirs. Si la vaccination se fait via un réservoir d'eau, rincez en profondeur les canalisations avec de l'eau sans désinfectant, surtout après un traitement de l'eau. Laissez les canalisations se vider, vidangez les abreuvoirs, puis laissez les poussins sans eau pendant 1 heure à 1h30 avant de commencer la vaccination (Prendre garde à la durée de soif des animaux lors des périodes de montée en température) (KOWALSKA, *et al.* 2021).



Figure4:Contrôle de la vaccination par l'eau de boisson avec un colorant bleu : ajout de colorant dans l'eau de boisson (A) et contrôle de la consommation d'eau (B). (Guérin *et al.*, 2020)

• Préparation de la solution vaccinale :

- Utilisez de l'eau potable propre, sans trace de désinfectant.
- Ajoutez 2,5 g de lait en poudre écrémé par litre pour préserver l'intégrité de la solution vaccinale.
- Ouvrez les flacons de vaccin dans l'eau, dissolvez le contenu dans une petite quantité d'eau, puis rincez soigneusement chaque flacon. -Agitez bien et complétez la solution avec la quantité d'eau nécessaire pour qu'elle soit consommée dans un délai de 1h30 à 2h.

3.2.1.1.Qualité de l'eau:

- Utiliser de l'eau potable et fraîche, exempte de traces de désinfectant .
- Le pH doit être légèrement acide, compris entre 5,5 et 6,5 ; sinon, ajouter un acidifiant.
- L'eau doit être exempte de bactéries, de matières organiques et minérales (pas d'excès en ions métalliques tels que Fer, Cuivre ou Manganèse), en particulier dans le cas de l'eau de forage (de même que l'utilisation d'abreuvoirs ou de pulvérisateurs métalliques).

3.2.1.2.Volume d'eau :

Le volume d'eau est estimé à environ 20 % de la consommation de la veille. Le tableau suivant présente le volume d'eau par 1000 sujets, en fonction de l'âge des oiseaux (en semaines)

Tableau3 :Les besoins en eau quotidiens selon l'âge de la volaille) Chapon,2024)

Âge (semaines)	Volume d'eau par 1000 sujets (en litres)
2	15
3	20
4	28
5	35
6	42
7	45

3.2.1.3.Distribution du vaccin:

- Approvisionner les abreuvoirs en cloche avec des arrosoirs en plastique.
- Purger les rampes d'abreuvement jusqu'à ce que la solution vaccinale apparaisse dans les pipettes.
- Circuler lentement dans le bâtiment pour inciter les oiseaux à consommer la solution vaccinale. -Après que la solution ait été consommée, remplir le réservoir d'eau avec de l'eau potable, sans trace de désinfectant.

3.2.2.Vaccination par nébulisation (pulvérisation):

Cette technique implique la diffusion d'une solution vaccinale afin que les gouttelettes, renfermant un nombre adéquat de particules virales actives, interagissent avec les muqueuses oculaires et/ou le système respiratoire, permettant ainsi la multiplication du virus contenu dans le vaccin. L'action du système immunitaire se manifestera d'abord à un niveau local, puis s'étendra à un niveau général (DURAND, 2023) Il est donc particulièrement recommandé d'utiliser la pulvérisation pour la vaccination contre des virus peu agressifs et à tropisme respiratoire. Elle peut être employée pour la vaccination contre la laryngotrachéite (BERNARD, 2023).



Figure5:Boite de pulverisation pour la vaccination contre la bronchite infectieuse des poussins Dun jour au covrir)Guerin *et al.*,2023 (

3.2.2.1.Préparation de la solution vaccinale:

- Utiliser de l'eau de qualité bactériologique irréprochable, sans résidus de désinfectant et légèrement acide (telle que de l'eau minérale ou de table).
- Ouvrir les flacons de vaccin dans l'eau, dissoudre leur contenu dans une petite quantité d'eau, puis bien rincer chaque flacon.
- Agiter la solution et compléter avec l'eau nécessaire pour obtenir une quantité suffisante afin de vacciner l'ensemble du cheptel du bâtiment.

3.2.2.2.La taille et l'homogénéité des gouttelettes :

La taille des gouttelettes et leur homogénéité dépendent de plusieurs facteurs :

- Le type de nébulisateur utilisé ;
- -Le modèle de la buse ;

_ Les conditions ambiantes du bâtiment : le temps que mettent les gouttelettes pour atteindre la tête des volailles est influencé par des facteurs tels que la température, l'humidité et la ventilation. La taille des gouttelettes qui entrent réellement en contact avec les yeux ou le

système respiratoire des volailles joue un rôle clé dans l'efficacité de la vaccination par nébulisation et affecte l'intensité des réactions respiratoires post-vaccinales.

3.2.2.3.Processus de la vaccination:

- Administrer le vaccin dans la matinée ou tard en soirée (quand il fait plus frais).
- N'effectuez la vaccination par nébulisation que sur les volailles ayant une bonne santé.
- Employez un équipement propre, exempt de toute marque de désinfectant, bien entretenu et spécifiquement dédié à la vaccination
- Réduire l'éclairement, éteindre les radiants et cesser la ventilation pendant la vaccination.
- Il faut effectuer au moins deux passages pour nébuliser la tête des volailles.
- Rallumer la lumière. La ventilation (ouverture du rideau dans le bâtiment ouvert) et les radiants entre 15 et 30 minutes après l'administration de vaccin.

3.2.3.Vaccination par injection:

- Cette méthode implique l'administration du vaccin par voie intramusculaire dans les muscles du bréchet ou de la cuisse, ou par voie sous-cutanée dans le cou (dans le cas des vaccins bactériens à adjuvant huileux) (LEMOINE, 2023).

_Les vaccins à administrer sont soit mis en suspension dans leur diluant avant l'injection (vaccins vivants), soit déjà prêt à l'usage (vaccins inactivés) (MARTIN, 2023).

3.2.3.1.Préparation de la solution vaccinale:

Pour les vaccins huileux :

- Pour optimiser la consistance du vaccin, il est conseillé de retirer les flacons du réfrigérateur 6 à 8 heures avant leur usage.
- Utiliser du matériel d'injection aussi propre que possible.
- Ajustez les seringues selon la dose spécifiée pour chaque vaccin, en contrôlant le volume distribué sur un tube gradué après dix administrations.
- Il est important d'utiliser des aiguilles appropriées à l'âge et au type de vaccin à injecter (1,25 mm x 12 mm ou 0,90 mm x 6 mm).



Figure6:injection de la poulette à l'aide d'un vaccinateur automatisé (Guérin *et al.*, 2023)

- Il est nécessaire de remplacer régulièrement les aiguilles et de contrôler la conformité du biseau durant le processus de vaccination.
- Il faut secouer le flacon régulièrement afin de bien mélanger son contenu.
- Soyez vigilant concernant le point d'injection.
- Assurez-vous que chaque oiseau a reçu sa dose et que le total des doses administrées correspond au nombre d'oiseaux vaccinés.

3.3.Avantages et inconvénients de la vaccination intranasale :

.Avantages :

- _ Non invasif
- _ Indolore
- _ Simplicité d'administration → Amélioration de l'observance .
- _ Active l'immunité muqueuse et systémique .
- _ Bloque le pathogène au site d'entrée.
- _ Pas de risque infectieux lié à l'administration .
- _ Administration en autonomie envisageable .

.Inconvénients :

- _ Efficacité dépendante du dispositif d'administration .
- _ Peu de recul
- _ Rhinorrhées fréquentes
- _ Adjuvants irritants ou présentant des problèmes de sécurité comme les cytokines responsables d'effets secondaires.
- _ Formulation difficile (adjuvants, excipients...) (Chapon ,2024)

3.4.Réponse Immunitaire aux vaccins muqueux:

L'immunité innée et son influenceur l'immunité acquise:

La première ligne de défense contre les agents microbiens est l'immunité innée. L'immunité innée nécessite la reconnaissance des agents microbiens par l'hôte pour déclencher, en premier lieu, la synthèse de protéines et de peptides antimicrobiens.

Les macrophages, les cellules dendritiques (CD) et les cellules épithéliales, qui présentent à leur surface des récepteurs de reconnaissance (PRR, Pattern Recognition Receptors) de structures moléculaires invariables (PAMP, Pathogen-Associated Molecular Patterns) caractéristiques des agents microbiens, sont parmi les premières cellules que rencontrent les agents pathogènes lors d'une infection.

Ces récepteurs de reconnaissance comprennent les collectines, le récepteur CD14, la protéine de liaison au mannose, la protéine amyloïde sérique P, la protéine C-réactive, les récepteurs du fragment Fc des immunoglobulines, les récepteurs CD11b,c/CD18, DEC-205 et surtout les récepteurs Toll-like (TLR, Toll-Like Receptors).

Les TLR sont particulièrement exprimés sur les cellules épithéliales du poumon et de l'intestin, qui constituent l'interface immédiate entre les agents pathogènes et le système immunitaire.

Le TLR2 reconnaît les lipopeptides bactériens. Le TLR4 reconnaît les lipopolysaccharides (LPS) des bactéries à Gram négatif. Les dimères TLR2-TLR4 reconnaissent les peptidoglycanes des bactéries à Gram positif et le zymosan des levures. Le TLR9 reconnaît les motifs cytidine-phosphate-guanosine (CpG) de l'ADN bactérien.

L'activation des TLR déclenche une transduction des signaux faisant intervenir un adaptateur commun, le facteur protéique de différenciation myéloïde MyD88, ainsi que le facteur nucléaire κ B (NF- κ B). Elle conduit à la synthèse d'interleukine 1 (IL-1), d'IL-12, du facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) et des molécules de costimulation B7.1 et B7.2, qui vont notamment moduler le seuil d'activation des récepteurs de reconnaissance spécifiques de l'antigène à la surface des lymphocytes T et B.

Ainsi, en plus de constituer une première ligne de défense contre les agents pathogènes, l'immunité innée joue également un rôle éducatif vis-à-vis de l'immunité acquise en augmentant la présentation des antigènes et l'activation des lymphocytes.

En pratique vaccinale, les TLR pourraient servir de cibles à certains adjuvants ou à des vecteurs de délivrance de vaccins (Krutzik *et al.* 2001)

Tableau 3: Distribution et amplitude de la réponse dans l'isotype IgA après immunisation par différentes voies (Chapon ,2024)

Voie d'immunisation	Réponse IgA									
	Glande mammaire		Naso/oropharynx		Arbre respiratoire		Intestin		Tractus génital	
	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel	Primaire	Rappel
Orale	+	++	++	+++	+	+	+	+++	+	++
Nasale	+	++	+	+++	+	++	+	++	++	+++
Rectale	+	++	+	++	+	++	++	+++	+	++
Génitale	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++
Systémique	+	+	+	+	+	++	+	++	+	++
Transcutanée	?	?	+	++	?	?	?	?	?	?

**Chapitre IV: Développement d'une
formulation vaccinale intranasale**

4.1.Développement d'une formulation vaccinale intranasale

4.1.1.Composition de vaccin intranasale :

4.1.1.1.Antigène:

Agonistes TLR La découverte des TLR en 1996 suscita un intérêt croissant pour l'utilisation d'agonistes TLR en guise d'adjuvants vaccinaux (Chang, 2008). En effet, les PRR, dont les TLR, sont essentiels à l'induction de l'immunité innée et constituent un lien clé entre l'immunité innée et adaptative. Ils possèdent donc un rôle déterminant au niveau de la qualité et de l'ampleur de la réponse immunitaire adaptative et par conséquent au niveau de l'établissement d'une mémoire immunologique protectrice (Abbas *et al.*, 2011; Luchner, Marina *et al.*, 2021; Manicassamy et Pulendran, 2009; Murphy, 2022). Ainsi, l'utilisation d'agonistes TLR en tant qu'adjuvants confère la capacité à moduler quantitativement et qualitativement la réponse immunitaire spécifique à un antigène (Manicassamy et Pulendran, 2009). De plus, la présence d'un agoniste TLR de la membrane plasmique au sein d'une formulation vaccinale favorise l'internalisation de la préparation antigénique par les CPA ainsi que l'activation et la maturation de ces dernières. De surcroît, comme mentionné plus tôt, l'engagement des BCR et des PRR au niveau des lymphocytes B permet leur activation via la voie thymo-indépendante (Abbas *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2019; Murphy, 2022). Ainsi, l'utilisation d'agonistes TLR en guise d'adjuvant constitue une approche prometteuse dans le cadre de la vaccination (Luchner, Marina *et al.*, 2021; Manicassamy et Pulendran, 2009). Le premier TLR découvert est le TLR4. Cela permit le développement du premier adjuvant vaccinal ciblant les TLR, notamment le lipide A monophosphorylé (MPL ou MPLA) dérivé du lipide A du lipopolysaccharide bactérien (LPS), un agoniste du TLR4 (Chang, 2008; Luchner, Marina *et al.*, 2021). Le MPLA, combiné à des sels d'aluminium ou à de la saponine, a conduit à l'élaboration d'adjuvants commerciaux acceptés par la FDA en 2009 et 2017, soit l'AS04 et AS01 B, respectivement (Luchner, Marina *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2019; Vacchelli *et al.*, 2012). Les adjuvants à base d'agoniste TLR4 ont démontré leur efficacité et innocuité dans le cadre de nombreux vaccins ciblant une variété d'agents pathogènes, tels que le VPH, le virus de l'hépatite B, le virus varicelle-zona et le parasite de la malaria (Gumulira, 2021; Kundi, 2007; Sato-Kaneko *et al.*, 2020). Dès lors, diverses molécules agonistes du TLR4 furent développées et leur capacité adjuvante fut évaluée, notamment le glycolipide CCL-34, le lipide glucopyranosyl (GLA-SE) et les aminoalkyl glucosaminide 4-phosphates (AGP) (Cauwelaert *et al.*, 2016; Chou *et al.*, 2020; Evans *et al.*, 2003). De nombreux autres agonistes TLR ont également été étudiés et ont montré leur potentiel en guise d'adjuvant. Notamment, les lipopeptides synthétiques tri et diacylés Pam3CSK4 et Pam2CSK4 qui activent

respectivement les hétérodimères TLR2/TLR1 et TLR2/TLR6 (Halliday *et al.*, 2016; Kaur *et al.*, 2022). Diverses constructions de la flagelline sous différentes formes et issue de différents organismes, ont également été étudiées pour leur activité d'agoniste TLR5 (Cui *et al.*, 2018). De même, l'acide polyinosinic:polycytidylic (poly I:C) et ses dérivés tels que le poly(IC12U) et l'ARNAX, étant des analogues synthétiques de l'ARN double brin, ont été étudié pour leur capacité à stimuler le TLR3 (Luchner, Marina *et al.*, 2021; Takeda *et al.*, 2018). Les composés d'imidazoquinolines (IMQ), tel que l'imiquimod, le resiquimod et le gardiquimod, étant des analogues nucléosidiques, ont aussi été étudiés pour leur activité d'agoniste TLR7 et TLR8 (Goyal *et al.*, 2021; Luchner, Marina *et al.*, 2021). Finalement, les courtes molécules synthétiques d'ADN simple brin contenant des motifs CpG et étant non méthylées ont également été étudiées en tant qu'adjuvant pour leur activation du TLR9. Par ailleurs, un vaccin ciblant le SARS-COV2 (Covaxin) comportant un composé d'imidazoquinolines en guise d'adjuvant fut récemment accepté par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en fin 2021 (Vikkurthi *et al.*, 2022). De même, le CpG 1018 fut approuvé par la FDA en 2017 en tant qu'adjuvant pour le vaccin contre l'Hépatite B (Heplisav-B). De plus, le CpG 7909 est employé dans un vaccin contre le virus de l'hépatite B présentement évalué dans un essai clinique de phase I (Lee, G.-H. et Lim, S.-G., 2021; Luchner, Marina *et al.*, 2021). Néanmoins, l'utilisation d'agonistes TLR solubles dans la vaccination peut être limitée par leur clairance rapide, leur faible stabilité, une inflammation hors cible et/ou par le fait qu'ils doivent être transportés avec l'antigène vers les CPA. Afin de contrer ces désavantages, il est possible de fonctionnaliser les agonistes TLR sur une plateforme de livraison vaccinale (Fujita et Taguchi, 2012; Ignacio, Bob J *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2018; Xu et Moyle, 2017).

4.1.1.2..Adjuvants:

Les adjuvants sont des molécules immunostimulantes ayant la capacité d'améliorer la réponse immunitaire spécifique à un antigène, en l'accéléralant, la prolongeant ou en l'augmentant et ce, sans présenter d'activité antigénique propre. L'emploi d'adjuvants en vaccination apporte également d'autres avantages, notamment une efficacité accrue du vaccin chez les personnes immunodéprimées, une réduction de la dose d'antigène, une diminution du nombre d'immunisations nécessaires à l'atteinte d'une immunité protectrice ainsi qu'un potentiel de protection contre une grande diversité d'agents pathogènes via l'élargissement de la réponse immunitaire (Kumar *et al.*, 2019; Luchner, Marina *et al.*, 2021; Sato-Kaneko *et al.*, 2020). Les sels d'aluminium (hydroxyde d'aluminium, phosphate d'aluminium, etc) ont été les premiers adjuvants découverts en 1920 et ont longtemps été les seuls approuvés à des fins commerciales, soit de 1932 à 1997. Ils ont été utilisés pour des vaccins ciblant divers agents

pathogènes. Subséquemment, les adjuvants à base d'émulsions d'huile dans de l'eau contenant du squalène, notamment MF59 et AS03, ont été approuvés en 1997 et 2009, respectivement. Ces derniers ont principalement été utilisés pour les vaccins antigrippaux (Mbow *et al.*, 2010; Pasquale *et al.*, 2015; Pulendran *et al.*, 2021). Malgré leur importance, les sels d'aluminium et les émulsions huile-dans-eau ont été développés de façon empirique et leurs mécanismes d'action ne sont que partiellement élucidés (Mbow *et al.*, 2010; Pulendran *et al.*, 2021; Wilkins *et al.*, 2017). Par ailleurs, des études tendent à montrer que l'inflammation et le recrutement de cellules immunitaires induits par ces adjuvants sont en partie dus aux dommages tissulaires qu'ils causent et donc à leur toxicité (Kool *et al.*, 2008; Pulendran *et al.*, 2021). De plus, ces adjuvants ne permettent pas, ou que peu, l'induction d'une réponse immunitaire à médiation Th1, laquelle est cruciale à l'élimination d'agents pathogènes intracellulaires tels que les virus (Abbas *et al.*, 2011; Murphy, 2022); (SatoKaneko *et al.*, 2020). Ainsi, l'élaboration de nouvelles technologies adjuvantes plus efficaces et sécuritaires s'est avérée être nécessaire .

4.1.1.3.Système de vectorisation (Nanoparticules/Vecteurs):

4.1.1.4..Pourquoi utiliser des systèmes nanoparticulaires ?

L'épithélium nasal est équipé d'un large répertoire de cellules immunitaires disponibles pour répondre à toute infection étant donné qu'il s'agit de la principale voie d'entrée des pathogènes. Vacciner par voie intranasale présente principalement un intérêt par le fait qu'il est possible d'induire une réponse qui soit à la fois systémique et mucosale (sécrétion d'IgA locales sur les sites effecteurs distants associés aux NALTs) (Slutter *et al.* 2010). Les vaccins sous-unitaires intranasaux sont confrontés aux nombreuses limites inhérentes aux muqueuses nasales étant donné qu'elles servent en premier lieu de barrière de l'immunité innée. Celles-ci présentent bien souvent l'inconvénient de causer la dégradation des préparations vaccinales (protéique, ADN plasmidique...) en raison des conditions acides (pH faible) de la muqueuse nasale, de la présence de peptidases, de protéases ou bien d'enzymes (cytochrome P450 dépendant de la monooxygénase, aldéhyde déhydrogénase) (Casettari and Illum 2014). Par ailleurs, les défenses mécaniques (mucocils, mucus, barrière épithéliale...) causent une clairance rapide des antigènes vaccinaux et donc une faible absorption de ces antigènes au niveau des épithéliums nasaux (Sharma *et al.* 2015). Ainsi, les vaccins sous-unitaires peinent à accéder de façon efficace et intacte aux sites lymphoïdes inducteurs (NALTs). Il en résulte une immunogénicité insuffisante (Hobson 2003) et il est de ce fait nécessaire de contourner ces obstacles et de s'adapter à ces voies de protection naturelles pour envisager ce type de

vaccination. De par leurs propriétés immuno-adjuvantes et leurs capacités à permettre une délivrance de l'antigène vaccinal prolongé, les systèmes nano- ou micro-particulaires ont rapidement émergés pour solutionner ce problème (Slutter *et al.* 2010). La figure 15 ci-dessous résume les principales utilisations possibles de ces systèmes nanoparticulaires en vaccination sous-unitaire.

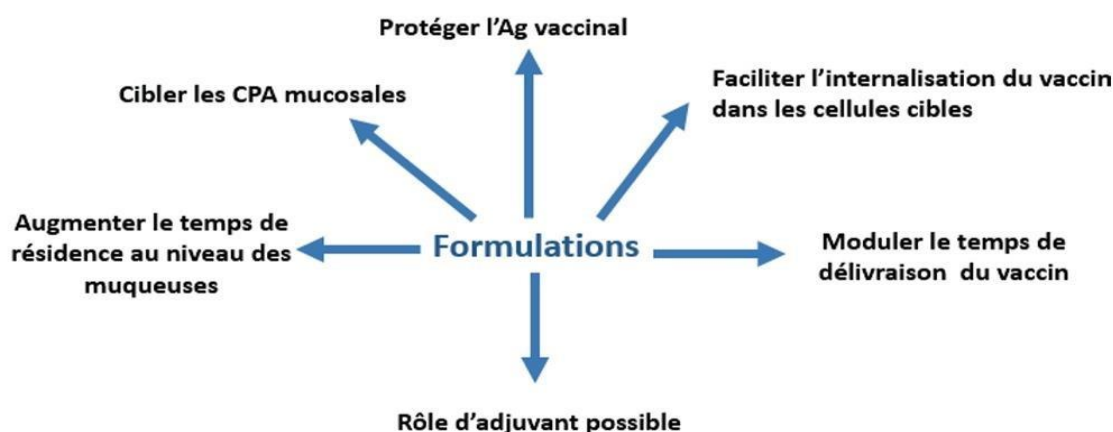


Figure7: Les systèmes nanoparticulaires : différents rôles possibles en vaccination d'après (Xu, Yuen, and Lam 2014).

Par définition, les nanoparticules sont des structures solides ayant une taille comprise entre 10 et 1000 nm (Soppimath *et al.* 2001) et qui sont constituées d'un matériau qui peut être soit organique (polymères synthétiques ou naturels, micelles, liposomes, dendrimères) soit inorganique (core métallique, silice mésoporeuse) (Richards, Maruani, and Chudasama 2017). Dans ce chapitre nous décrirons uniquement celles qui sont les plus couramment utilisées en vaccination intranasale. (Richards, Maruani, and Chudasama 2017).

4.1.1.5. Nanoparticules polymériques les plus couramment utilisées en vaccination IN **Polymères polysaccharidiques :**

Le chitosan est un biopolymère cationique naturel obtenu par la N-désacétylation partielle de la chitine, un composant majeur de l'exosquelette d'insectes, de crustacés ou de champignons (Illum *et al.* 2001). de nombreuses études se sont intéressées aux nanoparticules de chitosan en tant que candidat potentiel pour la délivrance de vaccins intranasaux. Cet intérêt se justifie par les propriétés avantageuses de celles-ci pour la voie muqueuse comme montres dans la figure 08

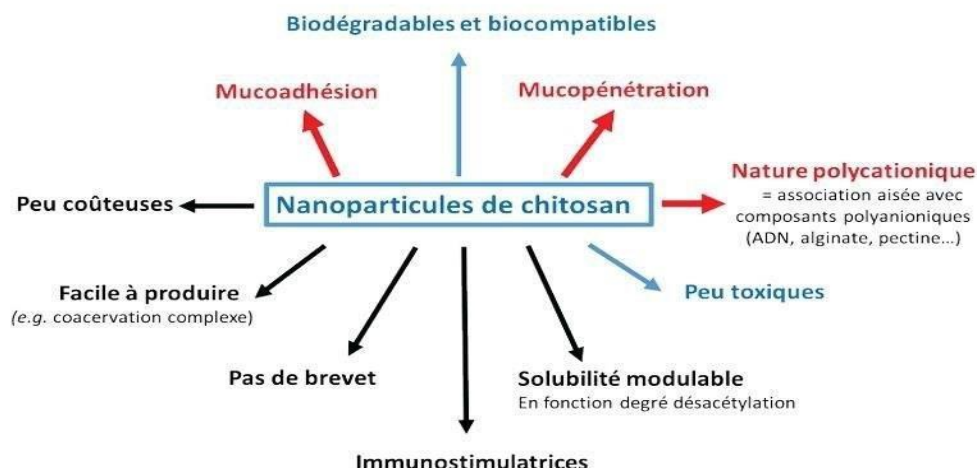


Figure 8: Propriétés importantes des nanoparticules de chitosan pour une utilisation en intranasal) Couvreur, P., Vauthier, C. 2006(.

4.2. Technique de Préparation vaccinale :

4.2.1. Inspection du vaccin et mélange :

Avant l'administration du vaccin, il faut vérifier son étiquette pour s'assurer qu'il s'agit du bon vaccin, et il faut s'assurer que la date de péremption du vaccin et du diluant (s'il y a lieu) n'est pas dépassée. Les vaccins et les diluants ne devraient pas être utilisés si la date de péremption est dépassée. Les flacons de vaccins devraient être inspectés avant que le vaccin soit administré pour déceler toute irrégularité, telle que particule, dommage ou contamination. Avant d'être administré, le vaccin doit être mélangé en faisant tourner la préparation avec précaution jusqu'à ce qu'on obtienne une suspension uniforme. À moins d'indications contraires du fabricant, il ne faut pas agiter le vaccin avant de l'utiliser. Les vaccinateurs doivent se conformer aux politiques et procédures juridictionnelles ou organisationnelles concernant la combinaison du contenu de flacons multi doses.) Bensalem & Sedrati ,2021(

4.2.2. Reconstitution du vaccin :

Le vaccin devrait être reconstitué selon les lignes directrices du fabricant, en utilisant seulement le diluant fourni à cette fin par celui-ci, et en respectant les politiques et procédures juridictionnelles ou organisationnelles. Le diluant doit être injecté contre la paroi du flacon et non directement dans la poudre du vaccin pour éviter que de la mousse ne se forme ou que la protéine du vaccin ne soit dénaturée. Avant d'être administré, le vaccin reconstitué doit être mélangé en faisant tourner la préparation avec précaution jusqu'à ce qu'on obtienne une suspension uniforme, à moins d'indications contraires du fabricant. Une fois le vaccin

reconstitué, il doit être administré selon le calendrier indiqué dans les renseignements sur le produit fourni par le fabricant .) Bensalem & Sedrati ,2021(

4.2.3 .Remplissage des seringues :

Les vaccinateurs doivent adopter des techniques aseptiques lorsqu'ils effectuent la reconstitution du vaccin et son aspiration dans la seringue. Avant d'aspirer le vaccin, il faut déboucher le flacon de vaccin, essuyer le bouchon avec un désinfectant adéquat (p. ex., alcool isopropylique) et attendre que le bouchon sec. Le pré remplissage des seringues est fortement découragé en raison de la stabilité incertaine du vaccin une fois dans les seringues, des risques de contamination, du potentiel accru d'erreurs d'administration et du gaspillage. Le pré remplissage des seringues peut être envisagé en milieu hospitalier si les vaccins sont manipulés et étiquetés dans la pharmacie ou lors des cliniques de vaccination afin que l'administration du vaccin à un grand nombre de personnes soit facilitée et efficace avant le pré remplissage, il faut examiner les données sur la stabilité des produits pré remplis pour une période donnée. Les vaccinateurs doivent se conformer aux politiques et procédures juridictionnelles ou organisationnelles en ce qui concerne le pré remplissage des seringues.) Bensalem & Sedrati ,2021(

4.2.4.Choix de la seringue et de l'aiguille pour les vaccins :

Une aiguille et une seringue stériles et différentes doivent être utilisées pour chaque injection. Il ne faut jamais mélanger différents vaccins dans la même seringue sauf indication contraire du fabricant. Il est préférable d'utiliser des aiguilles et des seringues à conception sécuritaire, qui sont d'ailleurs prescrites par la loi dans de nombreuses régions, pour réduire les risques de blessures. Cependant, il ne faut pas transférer les vaccins des seringues pré remplies du fabricant dans des seringues à conception sécuritaire, à moins que les règlements juridictionnels ou organisationnels ne l'exigent.

4.2.4.1.Choix de la seringue : Une seringue d'une capacité de 1 ml ou de 3 ml doit être utilisée selon le volume de la dose du vaccin.

4.2.4.2.Choix de l'aiguille : Le choix de l'aiguille est important, car l'agent immunisant doit atteindre les tissus pertinents (derme, tissu sous-cutané ou muscle) pour optimiser la réponse immunitaire et réduire les risques de réaction au point d'injection) Bensalem & Sedrati ,2021(

4.3.Défis liés aux vaccins à administration par voie muqueuse respiratoire :

Les barrières physico-chimiques de la muqueuse affectent considérablement l'efficacité d'absorption des vaccins. Les jonctions serrées et le mouvement ciliaire de l'épithélium muqueux entravent non seulement l'absorption efficace des vaccins, mais

entraînent également une élimination rapide de ces derniers en raison de leur court temps de résidence à la surface de la muqueuse (Li & Nair, 2022)(Qu & Zhang, 2025)

De plus, des composants naturels du mucus, tels que les anticorps, les protéases et les nucléases, peuvent dégrader ou détruire le vaccin, réduisant ainsi son efficacité. Par conséquent, lors de la conception des vecteurs de vaccins, il est essentiel de protéger efficacement les composants antigéniques et de prévenir leur dégradation enzymatique ou chimique afin de garantir une administration sûre aux cellules cibles³. Pour faire progresser les vaccins à administration muqueuse, il est nécessaire de prendre en compte les impacts potentiels d'autres mécanismes immunitaires au sein du système immunitaire muqueux, tels que la tolérance immunitaire induite par la muqueuse (par exemple, la tolérance orale ou nasale). Ces mécanismes jouent un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie avec de nombreux antigènes bénéfiques rencontrés par voie orale, tels que les aliments et le microbiote commensal (Li *et al.*, 2020)

Lors de l'exposition des antigènes au niveau des muqueuses, une tolérance immunitaire est plus susceptible d'être induite qu'une immunité protectrice efficace, ce qui impose le choix de formulations vaccinales et d'adjuvants adaptés.

Les adjuvants, qui renforcent l'immunité innée et favorisent l'induction de réponses des cellules effectrices, jouent un rôle clé dans l'amplification des réponses immunitaires muqueuses⁵. De plus, la complexité de la reconnaissance antigénique impose des exigences accrues à la conception des vaccins. Les formulations vaccinales à base de particules sont généralement plus efficaces que les antigènes solubles pour induire une immunité protectrice. Comparés aux antigènes solubles, les antigènes particuliers peuvent rester dans la couche muqueuse 3 à 5 fois plus longtemps, favorisant ainsi l'activation prolongée des cellules présentatrices d'antigènes (CPA)((Van der Ley & Schijns, 2023)

(Lei *et al.*, 2024) Cependant, les particules antigéniques de moins de 40 nm peuvent contourner le traitement local par les CPA en pénétrant dans la circulation lymphatique par voie paracellulaire (avec une vitesse de transport multipliée par cinq), induisant ainsi une tolérance immunitaire (Van der Ley & Schijns, 2023) (Diniz *et al.*, 2024) Outre les défis physico-chimiques et immunologiques, la sécurité demeure un enjeu majeur dans le développement des vaccins à administration muqueuse respiratoire.

La vaccination intranasale, bien qu'avantageuse pour induire une immunité locale, présente des défis de sécurité spécifiques du fait de la proximité anatomique de la cavité nasale avec le système nerveux central (SNC) via le bulbe olfactif. Ceci soulève des inquiétudes quant aux effets indésirables locaux potentiels, tels que la congestion nasale et l'anosmie

transitoire, ainsi qu'au risque théorique d'événements neurologiques, soulignant la nécessité d'évaluations de sécurité rigoureuses lors du développement vaccinal. (Nelson *et al.*, 2024) (Honda *et al.*, 2024)

De plus, les vaccins à vecteur adénoviral, en particulier ceux utilisant l'adénovirus humain de type 5 (Ad5), ont fait l'objet d'une surveillance étroite lors des essais cliniques. Par exemple, les études de phase Ib des vaccins à administration muqueuse respiratoire à vecteur Ad5 ont mis en évidence l'importance d'évaluer les profils de sécurité et d'immunogénicité au sein de populations diverses (Mettelman *et al.*, 2022)

La sécurité des adjuvants muqueux mérite également une attention particulière, car certaines formulations peuvent induire une forte activation immunitaire locale ou des effets systémiques.

Partie expérimentale

.MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.Matériel Utiliser

1.1.Aperçu sur les paramètres zootechniques de l'élevage avicole

1.1.1.Localisation de l'exploitation :

L'exploitation avicole étudiée est située dans la wilaya d'El Oued, commune de Bayadha, quartier El Araâir, et appartient à l'éleveur Saleh Bagui. Ce site présente des conditions favorables à l'élevage avicole, notamment en raison de son éloignement relatif des zones d'habitation, ce qui contribue à minimiser les risques de contamination extérieure et à garantir un isolement sanitaire adéquat.

Conception générale de l'exploitation La règle fondamentale en élevage avicole repose sur la pratique de la bande unique, impliquant un seul âge par exploitation, afin de respecter le principe du « Tout plein — Tout vide ». L'exploitation de **SALEH BAGUI** s'inscrit dans le respect de ce principe, garantissant ainsi la sécurité sanitaire du troupeau et l'optimisation des performances zootechniques.

Choix du site et conception des bâtiments Le choix du site au quartier **EL ARAAIR** ainsi que la conception des bâtiments visent à préserver au maximum l'élevage de toute source de contamination. Cette protection est renforcée par la mise en place de barrières sanitaires aux entrées de l'exploitation et sur l'ensemble de son périmètre ,l'expérimentation a duré du **5 avril au 10 mai 2026** .

Protection sanitaire et vide sanitaire La protection sanitaire exige la pratique du vide sanitaire. En effet, entre le départ d'une bande et la mise en place de la bande suivante, le bâtiment ainsi que le matériel doivent être soigneusement lavés et désinfectés selon un protocole rigoureux, comprenant le nettoyage des sols, des parois, du système de ventilation, ainsi que l'application de désinfectants homologués. (Source : www.hubbardbreeders.com)



Figure 9 : Les conditions expérimentales et l'élevage en plein champ du lot destiné à l'étude

1.2.La ventilation :

La ventilation a pour rôle d'assurer l'apport d'air frais aux volailles, de maintenir la température souhaitée à l'intérieur du bâtiment, d'évacuer l'excès d'humidité ainsi que d'éliminer les odeurs et les autres gaz nocifs. On distingue :

1.2.1 Ventilation mécanique :

Ce type de ventilation est destiné aux bâtiments avicoles de grande capacité et à forte densité d'élevage. Il nécessite l'intervention d'un professionnel qualifié pour l'installation d'un système performant capable d'assurer une oxygénation adéquate des volailles. En plus des ouvertures murales, ce procédé repose sur l'utilisation de ventilateurs industriels assurant une circulation efficace de l'air. (<https://www.animagora.fr/>)

1.3.La température :

La température cible est en fonction de l'espèce concernée et surtout de l'âge des oiseaux, Les jeunes oiseaux sont les plus exigeants car ils ont plus de difficultés à assurer leur Thermorégulation voici un tableau récapitulatif :

Tableau 04 : Normes des températures selon l'âge des volailles en jours.

(Amari *et al*,2020)

Age (jours)	Température sous chauffage (c°)	Température air de vie (c°)
0-----3	38	+28
3-----7	35	28
7-----14	32	28
14-----21	29	28
21-----28	29	22-----28
28-----35	29	20-----23
35-----42	29	18-----23
42-----49	29	17-----21

2.Matériel animal

Soixante-dix (70) poussins mâles et femelles, âgés d'un jour et pesant entre 35 et 45 grammes, ont été utilisés dans cette expérimentation. Les poussins ont été répartis en six groupes et placés dans un élevage avicole, à raison de dix sujets par groupe, chaque groupe étant muni d'une étiquette d'identification indiquant le nom du groupe et le traitement reçu.

Les volailles ont été élevées pendant une période d'élevage de 45 jours, durant laquelle l'eau et l'alimentation ont été fournies dans des conditions adéquates et contrôlées, avec une température comprise 35 °C.

3. Vaccin NEWCASTLE (Nobilis ND Clone30)

Préparation biologique contenant un virus atténué (vivant), administrée à la volaille pour stimuler son système immunitaire à produire des anticorps, dans le but de la protéger contre l'infection par la maladie de Newcastle avant qu'elle ne survienne

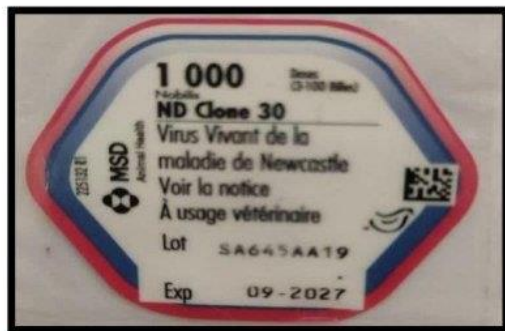


Figure 10: Nobilis NDclone30virus de la maladie Newcastle



Figure11 : Innovax®-ND-IBD, vivaant suspension et solvant pour suspension injectable chez les poulets.

4. Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide linéaire constitué de l'enchaînement d'unités de D-glucosamine (unités désacétylées) et d'unités de N-acétyl-D-glucosamine, liées entre elles par des liaisons glycosidiques ($\beta(1\rightarrow4)$). Ces unités sont distribuées de manière aléatoire, comme l'illustre.(Sun *et al.*, 2017)

Le chitosane est le deuxième biopolymère naturel le plus abondant et présente une grande biodégradabilité. Il est obtenu par désacétylation de la chitine, un procédé consistant à traiter les carapaces chitineuses des crevettes et d'autres crustacés à l'aide d'une base forte telle que l'hydroxyde de sodium. (Kumar *et al.*, 2017)

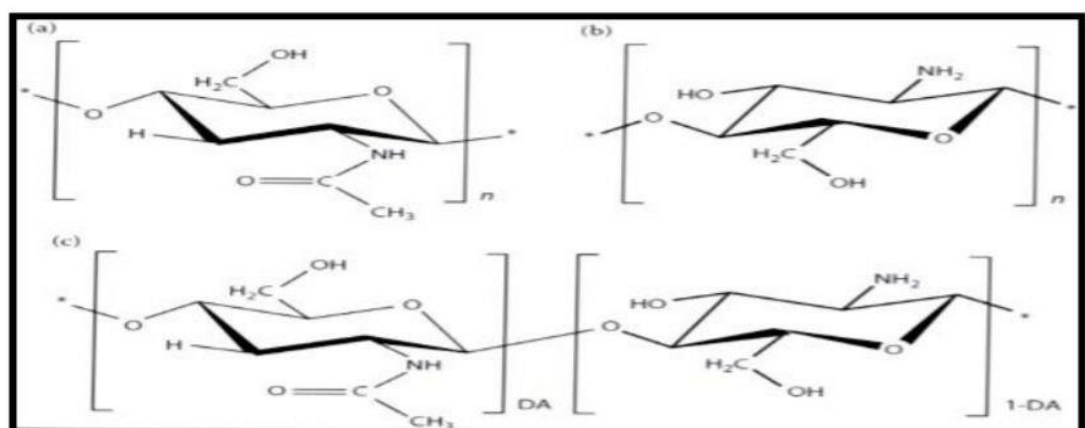


Figure12: Structure du chitosane partiellement désacétylé(b) Structure du chitosane (a) Structure de la chitine (Kumar *et al.*, 2017)

4.1. Produits chimique

1. Acide chlorhydrique
2. Hydroxyde de sodium
3. Peroxyde d'hydrogène
4. Saccharose
5. Acide acétique
6. Tripolyphosphate de sodium

4.2. Préparation des échantillon

1. Bécher de laboratoire
2. Micropipettes automatiques
3. Agitateur magnétique
4. Thermomètre de laboratoire
5. Barreau aimanté
6. Entonnoir de laboratoire
7. Papier filtre
8. Centrifugeuse de laboratoire
9. pH-mètre
10. Sonicateur (ultrasons)
11. Balance analytique
12. Spatule de laboratoire
13. Éprouvette graduée

4.3. Préparation de la poudre de Chitosan

Première étape :

Préparation de la matière première et réalisation des essais.

Les restes d'animaux sont lavés à l'eau froide, puis soumis à un processus de séchage.

Ces résidus sont ensuite découpés en petits fragments.

La conservation des reliquats animaux s'effectue à une température basse, généralement comprise entre 0°C et -10°C.

Deuxième étape : extraction de chitosan

Demineralization

Vingt grammes de résidus biologiques ont été soumis à un traitement préliminaire, impliquant un mélange de 95 mL d'acide chlorhydrique (HCl) et de 405 mL d'eau distillée. Cette phase a été conduite pendant une heure, à une température maintenue à 40 °C. À l'issue

de cette période, le matériau a été filtré, et le résidu a été soigneusement rincé à l'eau distillée sous agitation constante.

Deproteinization

La déprotéinisation, constituant la phase subséquente, a débuté par la préparation d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH). Pour cela, 40 g de NaOH ont été dissous dans 400 mL d'eau distillée. Les échantillons ont par la suite été immergés dans cette solution durant deux heures, période pendant laquelle une agitation continue et un chauffage à 80 °C ont été appliqués. Ensuite, un processus de filtration a été effectué sur les échantillons, suivi de lavages successifs à l'eau distillée. Ces lavages ont été maintenus jusqu'à l'obtention d'un pH neutre (pH = 7) du filtrat. Ces séquences opératoires ont finalement conduit à l'isolement de la chitine.

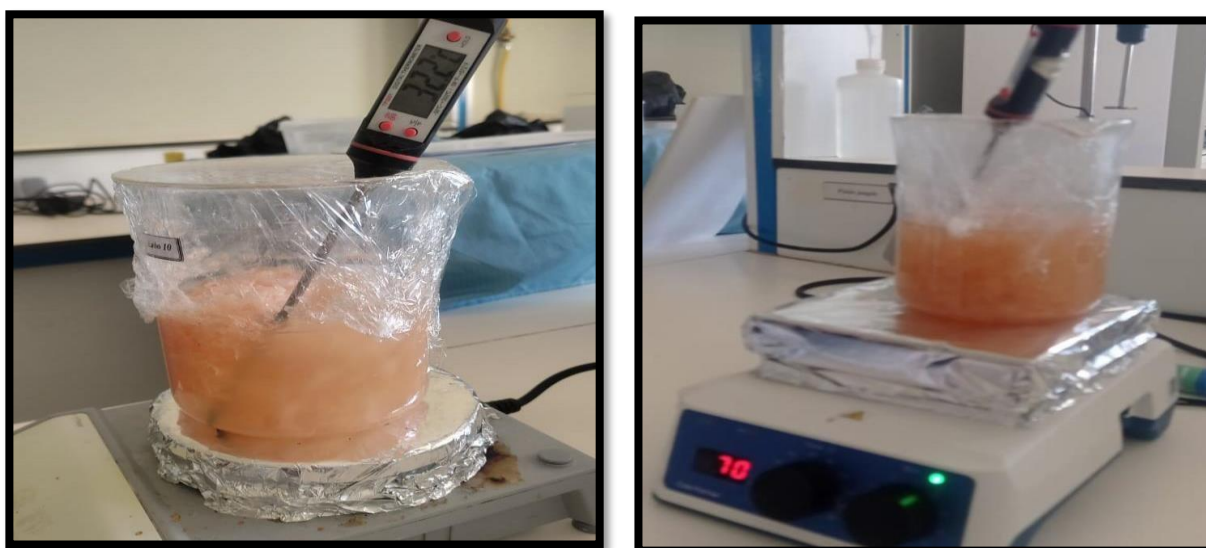


Figure 13 :Phase de fabrication du chitosane

Decolourisation

Pour l'élimination des pigments contenus dans la chitine, les échantillons sont soumis à un traitement à l'eau oxygénée. Cette opération s'effectue sur une durée de 50 minutes, sous agitation constante et à une température maintenue à 50 °C. Ce protocole est appliqué à trois reprises. Le matériau résultant est ensuite rincé à l'eau distillée jusqu'à ce que la solution de lavage présente un pH neutre.

Deacetylation

Afin de réaliser la désacétylation des groupes fonctionnels et d'isoler le chitosane, une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) d'une concentration de 50 % (m/v) est élaborée par dissolution du réactif dans 50 mL d'eau distillée.

Par la suite, les échantillons sont immergés dans cette solution réactive. Ce processus est maintenu pendant 4 heures, sous agitation constante et à une température régulée de 100 °C. Une fois cette étape achevée, les échantillons traités sont soumis à une filtration, suivie d'un lavage méticuleux à l'eau distillée. Cette opération se poursuit jusqu'à l'atteinte d'un pH neutre. Enfin, le séchage est effectué dans une étuve à 50 °C, permettant ainsi l'obtention du chitosane purifié. (Mohan *et al.*, 2022)



Figure14 : dé transformation de la chitine en chitosane par désacétylation alcaline

4.4. Détermination du rendement

Le rendement de la plante en extraits est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter (CARRÉ, 1953).

Le rendement qui est exprimé en pourcentage a été calculé par la formule suivante

$$R(\%) = \frac{\text{Masse du chitosane obtenu}}{\text{Masse initiale de la matière animale}} \times 100$$

- R (%) : rendement d'extraction du chitosane.
- Masse du chitosane obtenu (g) : masse finale de poudre de chitosane après extraction.
- Masse initiale de la matière animale (g) : masse de la matière première animale utilisée au départ..

5.Préparation de la formulation vaccinale

Première étape : Préparation de la solution de chitosane

Pour la première phase de l'expérimentation, une masse de 0,30 g de chitosane a été pesée avec précision, puis solubilisée dans 50 mL d'une solution d'acide acétique à 4 %, le volume

étant complété par de l'eau distillée. Par la suite, une sonication a été appliquée à l'aide d'un Ultrasonicator, jusqu'à l'obtention d'une solution d'aspect homogène.

Deuxième étape : Ajout du vaccin

Dans une seconde séquence, 0,15 g de vaccin ont été prélevés, puis introduits progressivement dans la solution de chitosane préparée antérieurement. Une étape de sonication a été renouvelée afin de garantir une dispersion adéquate du vaccin au sein du milieu.

Troisième étape : Préparation et ajout de la solution de TPP et de saccharose

En ultime étape, une solution a été préparée en dissolvant 0,15 g de tripolyphosphate de sodium (TPP) et 1 g de saccharose dans 50 mL d'eau distillée. Cette solution a ensuite été ajoutée de manière progressive au mélange précédent. Le système a été maintenu sous agitation pendant une heure à une température régulée de 37°C, période nécessaire à la formation des nanoparticules.

Quatrième étape : Séparation et séchage

Les nanoparticules synthétisées ont été isolées par centrifugation à une vitesse de 250 tours par minute. Le précipité recueilli a subséquemment été transféré dans un lyophilisateur où il a été traité pendant 48 heures. Cette procédure visait à obtenir une poudre sèche des nanoparticules.

6. Général schéma de l'étude

Cette étude expérimentale a été réalisée selon plusieurs étapes successives, débutant par l'extraction du chitosane à partir des carapaces de crevettes, suivie par la préparation d'une formulation vaccinale nanoparticulaire administrée par voie intranasale chez le poulet.

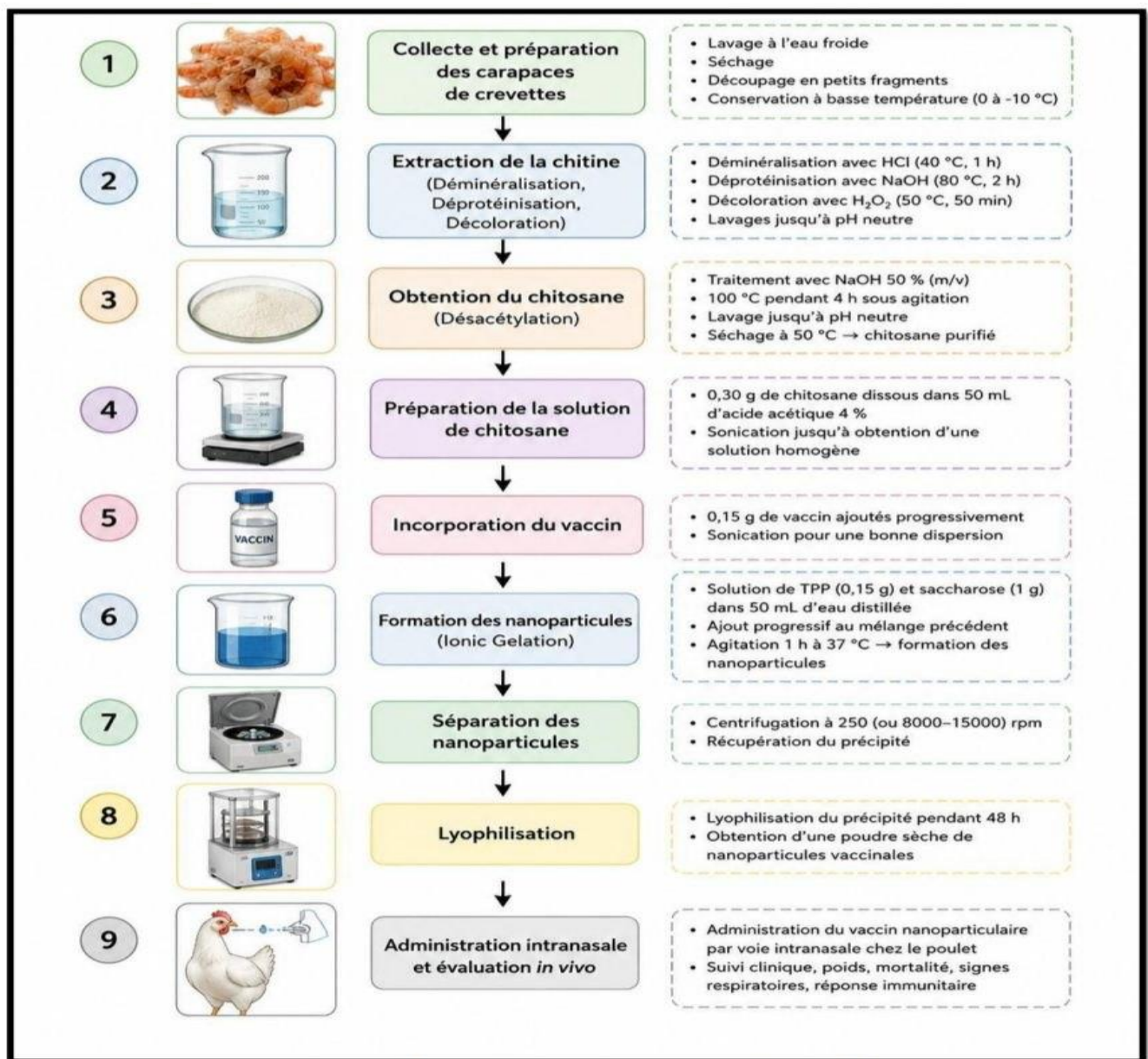


Figure15 : Récapitulatif des différentes étapes de préparation des nanoparticules de chitosane vaccinales et de leur administration intranasale chez le poulet.

6 . traitement des animaux :

Les poulets ont été répartis en six groupes, chaque groupe contenant dix poulets, sauf un groupe qui contenait vingt poulets.

Le premier groupe (VT) témoin: **10 poussins** était le groupe témoin (sain) et a reçu uniquement deux gouttes de solution saline par voie nasale, administrées quatre fois durant 45 jours.

Le deuxième groupe(VO) voie orale : **10 poussins** sont reçus Le vaccin contre la maladie de Newcastle par voie orale dans l'eau de boisson, administré quatre fois durant 45 jours

Le troisième groupe(VM) voie musculaire : **10 poussins** sont reçue 0,5 millilitre du vaccin contre la maladie de Newcastle par injection intramusculaire sous l'aile, au niveau du muscle pectoral, une seule fois durant les 45 jours

Le quatrième groupe : contenant **20 poussins**, a été subdivisé en trois groupes.

Le premier sous-groupe(V1) : composé de 6 poussins sont reçus deux gouttes du vaccin préparé contre la maladie de Newcastle avec du chitosane par voie nasale,

A concentration 0.015g/ml une seule fois durant les 45 jours, c'est-à-dire uniquement pendant la première semaine

Le deuxième sous-groupe (V2) : composé de 6 poussins sont reçus deux gouttes du vaccin préparé contre la maladie de Newcastle avec du chitosane par voie nasale, a concentration 0.015g/ml deux fois durant les 45 jours, c'est-à-dire pendant la première et la deuxième semaine seulement

Le troisième sous-groupe(V3) : composé de 8 poussins sont reçu deux gouttes du vaccin préparé contre la maladie de Newcastle avec du chitosane par voie nasale, a concentration 0.015g/ml trois fois durant les 45 jours, c'est-à-dire pendant la première, la deuxième et la troisième semaine seulement

Le cinquième groupe (VK)administre par chitosane : **10 poussins** sont reçus deux gouttes de chitosane par voie nasale, a concentration 0.3g/2 ml administrées quatre fois durant 45 jours.

Le cinquième groupe (VK)administre par concentration plus élevé : **10 poussins** sont reçus deux gouttes de chitosane par voie nasale, a concentration 0.6g/2 ml administrées quatre fois durant 45 jours.

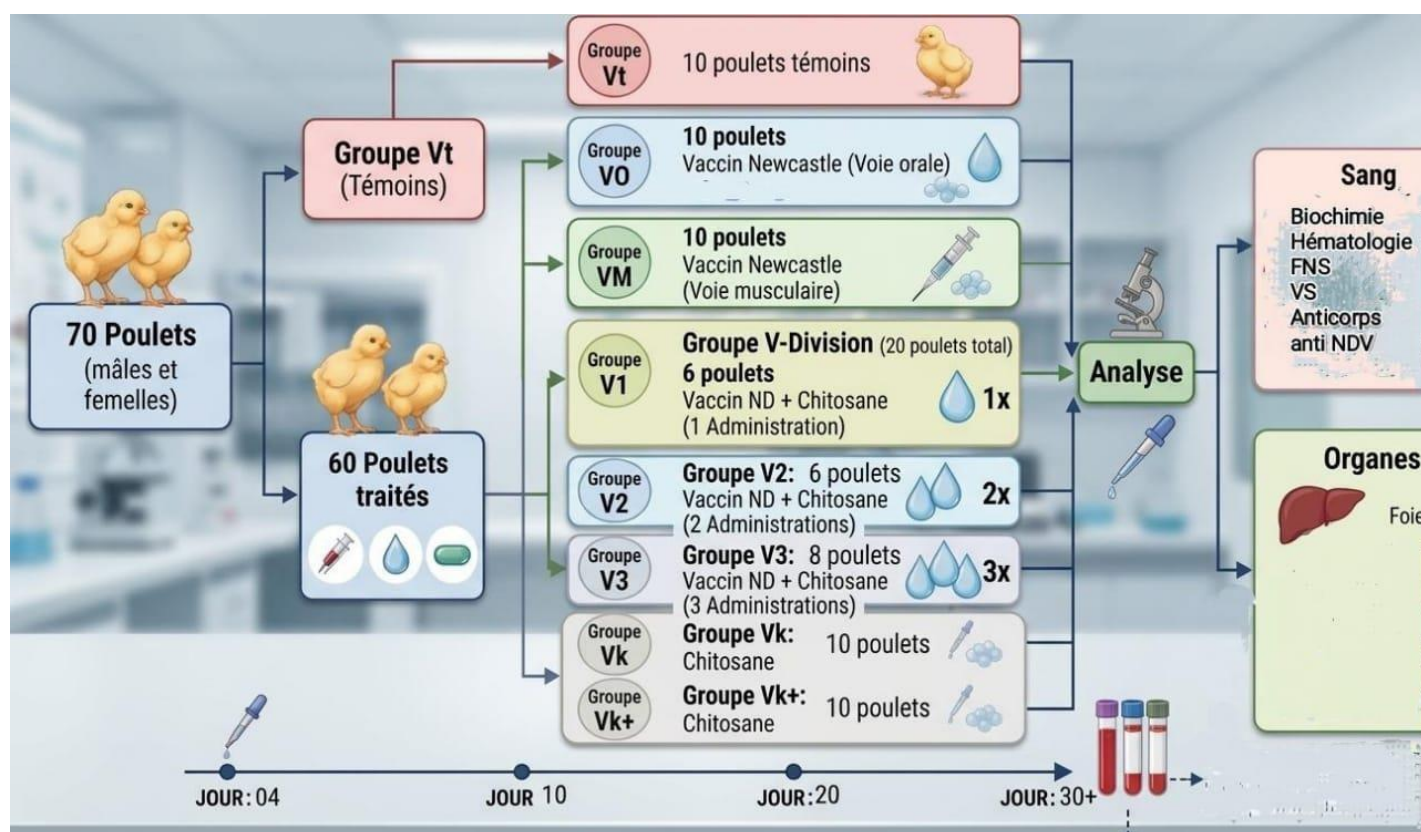


Figure16 : Expérimental de répartition des poulets, des traitements administrés et des analyses réalisées au cours de l'étude

8.Effets sur le poids :

À la fin de la période expérimentale au jour 35 , une mesure du poids vif a été effectuée sur l'ensemble des individus de l'échantillon, afin d'évaluer les différences de taux de croissance entre les différents groupes expérimentaux. Le poids vif a été retenu comme indicateur principal de l'efficacité productive, étant considéré comme l'un des critères zootechniques les plus importants utilisés pour évaluer les performances de croissance chez les volailles

9.Prélèvement de sang :

Les poulets ont été sacrifiés dans le 35^{ème} jour de la période d'élevage pour faire les analyses biochimiques , hématologiques et immunologiques. Les échantillons de sang ont été collectés dans des tubes EDTA et héparinés, puis soumis les dernières à une centrifugation à 3000 tours par minute pendant une durée de dix minutes. Le sérum ainsi obtenu a été récupéré et conservé à une température de 4 °C jusqu'à la réalisation des analyses biochimiques et biologiques.

9.1.Dosage des paramètres biochimiques et hematologique:

Les paramètres analysés comprennent la Numération Formule Sanguine (FNS), le bilan rénal (urée et acide urique), ainsi que le bilan hépatique incluant les transaminases (AST et

ALT) et la phosphatase alcaline (ALP). Les dosages ont été réalisés sur des échantillons de sérum à l'aide d'analyseurs automatiques de biochimie tels que le Cobas INTEGRA 400 Plus et le Technicon RA-1000. Les mesures ont été effectuées selon des protocoles standardisés spécifiques à chaque paramètre. Des kits de réactifs de biochimie sérique ont également été utilisés pour la réalisation des analyses. Les détails des méthodes analytiques utilisées pour les analyses biochimiques et hématologiques sont présentés dans les annexes.

9.1.1.Dosage des parametres hepatiques:

9.1.1.1.Méthode de dosage de l'activité de l'aspartate aminotransférase (AST)

Le dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (AST ou TGO) est selon une Méthode développée par Karmen et optimisée par Henry (Conforme aux recommandations de L'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :ASTL-Aspartate + 2-Oxoglutarate Oxaloacétate + L-Glutamate MDH Oxaloacétate + NADH + H⁺ L-Malate + NAD La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD et Proportionnelle à l'activité AST dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P Contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Henry, 1960)

9.1.1.2.Méthode de dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT)

Le dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALT ou TGP), est selon une Méthode développée par Wroblewski et La Due, et optimisée par Henry et Bergmeyer (conforme aux recommandations de l'IFCC). Le schéma réactionnel est le suivant :ALT L-Alanine + 2Oxoglutarate Pyruvate + L-Glutamate LDH Pyruvate + NADH + H⁺ L-Lactate + NAD⁺ La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD⁺ et Proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen, est mesurée à 340 nm. L'absence de P5P Contribue à une forte amélioration de la stabilité du réactif reconstitué (Bergmeyer., 1978).

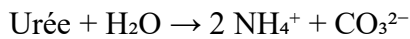
9.1.1.3.Méthode de dosage de l'activité de la phosphatase alcaline (PAL)

L'activité de la phosphatase alcaline a été déterminée suivant une méthode cinétique p-Nitrophénylphosphate DGKC. La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du Pnitrophénylphosphate (p NPP) à pH 10.4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en Fonction de la réaction suivante : PAL p-Nitrophénylphosphate + H₂O p-Nitrophénole +Phosphate. La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, Est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon

9.1.2.Dosage des paramètres rénales:

9.1.2.1. Méthodes de dosage de l'activité de l'Urée

Méthode Enzymatique Colorimétrique (Uréase) Cette méthode repose sur l'hydrolyse de l'urée par l'enzyme Uréase, avec production d'ions ammonium selon la réaction suivante :



Les ions ammonium produits sont ensuite mesurés par un second système enzymatique faisant appel à la Glutamate Déshydrogénase (GLDH) :



La consommation du NADH entraîne une diminution de l'absorbance à une longueur d'onde déterminée (340 nm), cette diminution étant proportionnelle à la quantité d'urée présente dans l'échantillon (Kaneko *et al.*, 2008)

9.1. 2.2 Méthodes de dosage de l'activité de l'acide urique

méthodes enzymatiques colorimétrique : elle consiste à oxyder les urates en allantoïnes en présence d'oxygènes. Cette réaction est catalysée par l'urate oxydase ou l'uricase et associée à la production d'H₂O₂ et de CO₂. Acide urique + O₂ + H₂O —————> Allantoïne + CO₂ + H₂O₂ Le peroxyde d'hydrogène formé après action de l'uricase peut être dosé par un deuxième système enzymatique faisant appel à une peroxydase Chromogène réduit incolore + H₂O₂ -----à chromogène oxydé coloré + H₂O La modification de l'absorbance à une longueur d'onde déterminée est proportionnelle à la quantité de l'acide urique présent dans l'échantillon (Boukhelkhal, s.d., P4)

9.2. Méthode mesure des anticorps anti ND ELISA

Un ELISA est un ensemble de réactifs standardisés et de plaques à micropuits fabriqués pour un test spécifique. Un ELISA IDEXX peut contenir tout ou partie des composants suivants : des plaques revêtues (plaques solides et/ou à bandelettes), un diluant d'échantillon, des contrôles, un concentré de lavage, un conjugué, un substrat et une solution d'arrêt. Les tests sont fabriqués par lots. Chaque composant de chaque lot est optimisé et fabriqué pour fonctionner en tant qu'unité. Les tests sont soumis à de nombreuses procédures de contrôle qualité réalisées par IDEXX, de nombreux laboratoires et organismes de référence mondiaux, et/ou le Département de l'Agriculture des États-Unis (USDA) avant d'être approuvés et mis en vente.

L'ELISA est un test rapide utilisé pour la détection et la quantification d'anticorps ou d'antigènes dirigés contre des virus, des bactéries et d'autres substances. Cette méthode peut être utilisée pour détecter de nombreux agents infectieux chez les ruminants, les équidés, les suidés et les volailles.

Dans la technologie ELISA, la phase solide peut être constituée d'une plaque en polystyrène à 96 puits. La fonction de la phase solide est d'immobiliser les antigènes ou les anticorps présents dans l'échantillon lors de leur fixation à cette phase. Après incubation, les

plaques sont lavées pour éliminer tout matériel non lié. Dans certains dosages, le conjugué est ensuite ajouté à la plaque et laissé à incuber.

Le conjugué est constitué soit d'un antigène, soit d'un anticorps couplé à une enzyme. Selon le format du dosage, la portion immunologiquement réactive du conjugué se lie soit à la phase solide, soit à l'échantillon. La portion enzymatique du conjugué permet la détection.

Les plaques sont lavées à nouveau, puis un substrat enzymatique (peroxyde d'hydrogène et un chromogène) est ajouté et laissé à incuber. Une coloration se développe en présence de l'enzyme liée, et la densité optique est mesurée à l'aide d'un lecteur de plaques ELISA.

•Remarque : Les étapes et les réactifs utilisés peuvent varier selon le test ELISA. Se référer à la notice du produit pour les informations spécifiques.

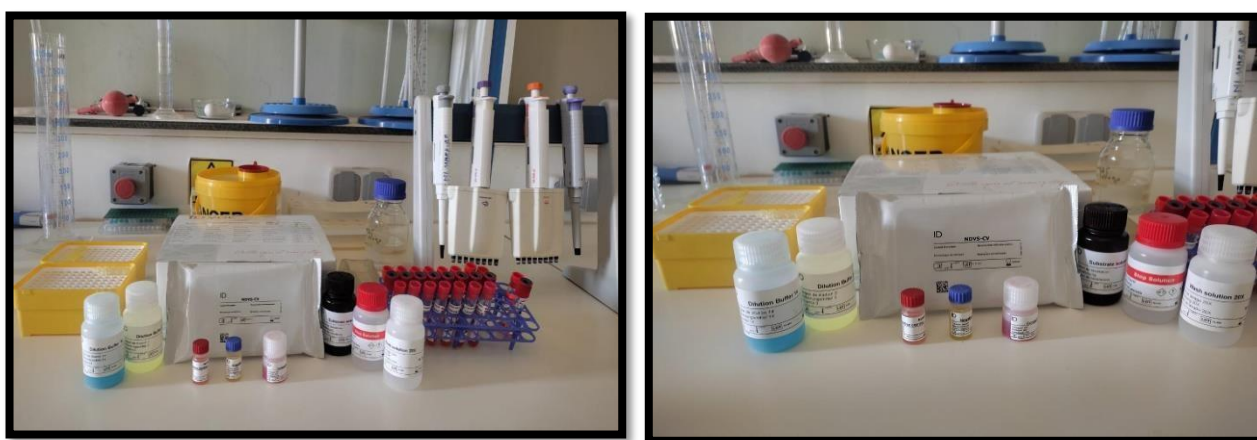


Figure17 :Composition et description du kit ELISA

9.2.1.Formats ELISA

ELISA indirect de capture d'antigène (sandwich)

Dans l'ELISA indirect de capture d'antigène, l'antigène présent dans l'échantillon est lié par l'anticorps fixé sur la plaque ainsi que par l'anticorps détecteur contenu dans la solution détectrice ajoutée. Les anticorps détecteurs ne sont pas marqués par une enzyme. Le conjugué ajouté lors de l'étape suivante peut se lier à l'anticorps de la solution détectrice.

Si le conjugué se lie à la solution détectrice, une réaction colorimétrique se produit. L'antigène est ainsi détecté de manière indirect

9.2.2.Composants de l'ELISA Plaques

revêtues

Les plaques à 96 puits sont en polystyrène et revêtues soit d'un antigène inactivé, soit d'un anticorps. Ce revêtement constitue le site de liaison pour les anticorps ou les antigènes

présents dans l'échantillon. Les anticorps ou antigènes non liés sont éliminés par lavage après incubation.

Diluant d'échantillon

La plupart des dosages nécessitent une dilution spécifique de l'échantillon. Les échantillons sont ajoutés au diluant d'échantillon et mélangés avant d'être déposés sur les plaques revêtues.

Contrôles

Le contrôle positif est une solution contenant un anticorps ou un antigène. Le contrôle négatif est une solution dépourvue d'anticorps ou d'antigène. Les contrôles permettent de normaliser ou de standardiser chaque plaque. Ils sont également utilisés pour valider le dosage et calculer les résultats des échantillons. Dans certains tests, les contrôles sont prédilués et prêts à l'emploi ; dans d'autres, ils doivent être dilués de la même manière que les échantillons. Il est impératif de suivre les instructions de la notice du produit.

Conjugué

Les conjugués ELISA sont des anticorps ou des antigènes marqués par une enzyme, réagissant spécifiquement avec les analytes de l'échantillon liés à la plaque. Le conjugué non lié est éliminé par lavage après incubation et avant l'ajout du substrat. La densité optique du substrat colorimétrique est directement proportionnelle à la quantité d'enzyme liée présente.

Substrat

Pour les conjugués à peroxydase, le substrat est un mélange de peroxyde d'hydrogène et d'un chromogène qui réagit avec la portion enzymatique du conjugué pour produire une coloration.

Concentré de lavage

Le concentré de lavage est une solution tamponnée contenant un détergent, utilisée pour éliminer les matériaux non liés des plaques. Il est impératif de suivre les instructions de la notice du produit pour diluer la solution de lavage avant utilisation.

Solution d'arrêt

La solution d'arrêt interrompt la réaction enzyme-substrat et, par conséquent, le développement de la coloration.

➤ Remarque : D'autres réactifs peuvent être inclus selon le test, notamment un diluant de conjugué, un détecteur, etc.

Tous les composants sont pourvus d'une date de péremption. Les tests IDEXX sont fabriqués par lots selon des normes de qualité strictes. Chaque composant ou réactif d'un lot de

test est optimisé pour fonctionner avec les autres réactifs du même lot. Cela inclut les mesures de sensibilité, de spécificité et de répétabilité . Il est donc primordial de ne pas mélanger des réactifs provenant de lots différents. En règle générale, les plaques, le conjugué et les contrôles du test sont conservés ensemble.

9.2.3.Équipements pour les Tests ELISA

Les équipements destinés aux tests ELISA sont largement disponibles sur le marché. Les lecteurs, les laveurs et les pipettes existent en versions manuelles ou automatisées. Parmi les facteurs influençant le choix des équipements, on peut citer le nombre et les types de tests et d'échantillons, la formation technique du personnel ainsi que les considérations financières. Vous trouverez ci-dessous un aperçu des principaux équipements utilisés pour la réalisation des tests ELISA

Pipettes

- À canal unique, à volume fixe et à volume ajustable (1–20 µL, 10–100 µL, 20–200 µL, etc.)

- Multicanaux, à 8 et 12 canaux
- Unités de distribution semi-automatisées
- Systèmes entièrement automatisés capables de traiter plusieurs plaques simultanément

Diluteurs

- À canal unique
- Multicanaux
- Unités de distribution automatisées

Systèmes de lavage

- Systèmes manuels permettant le lavage d'une rangée ou d'une colonne à la fois
- Systèmes semi-automatisés prenant en charge une bandelette ou une plaque à la fois
- Systèmes entièrement automatisés capables de traiter plusieurs plaques simultanément

Lecteurs de microplaques ELISA

- Lecteurs manuels lisant un puits ou une rangée à la fois
- Lecteurs semi-automatisés lisant une plaque à la fois
- Systèmes entièrement automatisés capables de traiter plusieurs plaques simultanément

Autres équipements

- Chambre humide (non requise pour tous les tests ELISA)
- Couvercles adhésifs pour microplaques, destinés aux essais à longues durées d'incubation afin de limiter l'évaporation (non requis pour tous les tests ELISA)
- Incubateur ou incubateur à agitateur de plaques (non requis pour tous les tests ELISA)



Figure 18 : Étape de lecture des résultats à l'aide du lecteur ELISA

9.2.4. Manipulation et Préparation des Composants du Test

La plupart des microplaques sont conditionnées individuellement avec un dessiccant. Si une plaque solide partiellement utilisée est remise en stock, aspirez tout le liquide résiduel des puits utilisés et recouvrez-les d'un film adhésif d'étanchéité. Conservez la portion inutilisée de la plaque avec plusieurs dessiccants dans un nouveau sachet refermable. Si une plaque à bandelettes est utilisée, laissez la plaque entière revenir à température ambiante, puis prélevez uniquement les bandelettes nécessaires. Conservez le reste dans un sachet refermable contenant un dessiccant.

Les tests ELISA peuvent être sensibles aux températures extrêmes. Veillez à maintenir une température de laboratoire comprise entre 18 °C et 26 °C. Évitez de réaliser les tests sous ou à proximité des bouches de ventilation, car cela peut entraîner un refroidissement, un réchauffement et/ou une évaporation excessifs. De même, n'effectuez pas les tests en plein soleil, car cela peut provoquer une chaleur et une évaporation excessives. Les pailles froides peuvent affecter vos résultats ; pour remédier à ce problème, placez plusieurs épaisseurs de papier absorbant ou tout autre matériau isolant sous les microplaques durant l'incubation.

Assurez-vous que le diluant d'échantillon et le concentré de lavage sont revenus à température ambiante (18–26 °C) avant utilisation. Ces réactifs se trouvent généralement dans

les flacons les plus grands du kit et nécessitent davantage de temps pour s'équilibrer thermiquement. Si le concentré de lavage présente encore des cristaux après avoir atteint la température ambiante, homogénéisez-le par retournements successifs.

La plupart des tests sont formulés avec des contrôles prédilués et sont reconstitués. Cependant, certains nécessitent que vous les diluiez de la même manière que vos échantillons. Les contrôles doivent être déposés sur la plaque selon la même méthode et au même moment que les échantillons.

Si le test nécessite la préparation d'une solution de conjugué « de travail », veillez à suivre scrupuleusement les instructions. Ne préparez que la quantité immédiatement nécessaire et ne conservez pas la solution restante pour une utilisation ultérieure. Si les conjugués sont contaminés ou mal conservés, ils peuvent perdre leur activité enzymatique ou présenter une augmentation apparente de la coloration de fond. La plupart des tests fournissent un conjugué prêt à l'emploi.

Nos tests ELISA incluent un substrat prêt à l'emploi. L'activité chimique du substrat sera altérée s'il est exposé à la lumière ou mis en contact avec du métal. Protégez cette solution en la conservant dans un récipient opaque jusqu'au moment de son utilisation.

Assurez-vous d'utiliser la solution d'arrêt fournie avec le test. Respectez toutes les précautions de sécurité mentionnées dans la notice du produit. La solution d'arrêt doit être à température ambiante avant utilisation. Si elle présente des cristaux après avoir atteint la température ambiante, homogénéisez-la par retournements successifs. La solution d'arrêt peut cristalliser à des températures basses. Avant utilisation, assurez-vous qu'elle est entièrement dissoute et qu'elle présente un aspect limpide.



Figure 19: Plaque ELISA avant et après réaction colorimétrique

Les Résultats :

1. Le rendement de chitosane :

La formule ci-dessous présente les résultats du rendement du chitosane extrait à partir de source de crustacés. Les résultats ont montré que la valeur du rendement est estimée à 10,68 %,

ce qui est légèrement inférieur à la valeur obtenue dans l'étude antérieure de Ilham (2023, 2024), dont le rendement était estimé à $39 \pm 0,1$ % **R%= 5.3429 g / 50 g**

$$R= 10.68\%$$

2.Effet sur le poids corporel des poulets

Le poids corporel des poulets des différents groupes traités et témoins:

Les résultats obtenus montrent des différences statistiquement significatives entre les groupes expérimentaux ($p \leq 0,001$). Le groupe témoin négatif (Vt) a enregistré le poids corporel le plus faible avec une valeur de $1400 \pm 0,5$ g, présentant une différence très hautement significative par rapport à la majorité des groupes traités (c, $p < 0,001$).

Le groupe témoin positif (VO) a présenté un poids de $1980 \pm 0,5$ g, significativement supérieur au groupe Vt (***). Le groupe V3 a enregistré le poids le plus élevé parmi tous les groupes avec $3500 \pm 0,5$ g (***c), suivi du groupe Vm avec $2720 \pm 0,5$ g (***c), puis du groupe Vk+ avec $2700 \pm 0,5$ g (***c) et du groupe Vk avec $2566 \pm 0,5$ g (***c).

Le groupe V1 a affiché un poids de $1900 \pm 0,5$ g (***c), légèrement inférieur au témoin positif. En revanche, le groupe V2 avec $2000 \pm 0,5$ g n'a montré aucune différence statistiquement significative par rapport au groupe témoin positif (NS).

Ces résultats suggèrent que les différents traitements appliqués ont exercé un effet positif et significatif sur la croissance pondérale des poulets, particulièrement pour le groupe V3 qui a présenté le gain de poids le plus important. L'absence de différence significative observée pour le groupe V2 par rapport au témoin positif indique que ce traitement n'a pas apporté de modification notable du poids corporel dans les conditions expérimentales établies. **3.Effet sur la numération formule sanguin:** On a dosé la numération formule sanguin (FNS) pour évaluer l'effet de vaccin développé chez les volailles traité Les résultats.

3.1 Première résultat des analyses :

Tableau 05: Effet des différents traitements expérimentaux sur les paramètres hématologiques (NFS) chez les poulets.

Groupe	Hemoglobine (g / dl)	Globules blancs (10^3 / μ L)	Globules rouges (10 / μ L)	Hématocrite (%)	
V (T)	7.0 ± 0.5^c	11.0 ± 0.5^c	3.57 ± 0.5^b	$30,0 \pm 0,5^c$	
V (O)	$8.9 \pm 0.5^{\{***\}}$	$28.5 \pm 0.5^{\{***\}}$	$2.51 \pm 0.5^{\{***\}}$	$32,8 \pm 0,5^{\{***\}}$	
V (m)	$8.2 \pm 0.5^{\{***\}} c$	$22.6 \pm 0.5^{\{***\}} c$	$2.58 \pm 0.5^{\{***\}} NS$	$31,0 \pm 0,5^{\{***\}} c$	
V (I)	$8.6 \pm 0.5^{\{***\}} NS$	$27.9 \pm 0.5^{\{***\}}$ NS	$2.58 \pm 0.5^{\{***\}} NS$	$31,2 \pm 0,5^{\{***\}} c$	

V (2)	$7.7 \pm 0.5^{\{***\}} b$	$27.5 \pm 0.5^{\{***\}} b$	$2.08 \pm 0.5^{\{***\}}$ NS	$27,0 \pm 0,5^{\{***\}} c$	
V (3)	$6.2 \pm 0.5^{\{*\}} c$	$28.6 \pm 0.5^{\{***\}}$ NS	$1.81 \pm 0.5^{\{***\}} a$	$23,5 \pm 0,5^{\{***\}} c$	
V (k)	$16.6 \pm 0.5^{\{***\}}$ c	$22.7 \pm 0.5^{\{***\}}$ c	$2.57 \pm 0.5^{\{**\}} NS$	$29,1 \pm 0,5^{\{*\}} c$	
V (k+)	$9.2 \pm 0.5^{\{***\}}$ NS	$32.4 \pm 0.5^{\{***\}}$ c	$2.44 \pm 0.5^{\{**\}} NS$	$33,1 \pm 0,5^{\{***\}}$ NS	

Hémoglobine (g/dl) :

Les résultats montrent que le taux d'hémoglobine du groupe témoin négatif VT était de $7,0 \pm 0,5$, représentant le niveau de base en l'absence de toute stimulation vaccinale. Après vaccination avec le témoin positif V0, il a augmenté à $8,9 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), indiquant que le vaccin standard améliore le transport de l'oxygène dans le sang en élevant le taux d'hémoglobine.

Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $8,6 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), sans différence significative par rapport à V0 (NS), ce qui confirme que cette concentration atteint la même réponse physiologique que le vaccin de référence en matière d'hémoglobine

Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $7,7 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (b), ce qui indique que cette concentration élève l'hémoglobine sans toutefois atteindre le niveau de référence. En revanche, la troisième concentration V3 a enregistré la valeur la plus basse $6,2 \pm 0,5$ avec une différence significative par rapport à VT ($p \leq 0,05$), différant de V0 par la lettre (c), ce qui suggère que cette concentration abaisse l'hémoglobine en dessous du niveau basal, reflétant un effet négatif sur le transport de l'oxygène

Le groupe chitosane VK a atteint $16,6 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT, différant de V0 par la lettre (c), indiquant que le chitosane seul élève l'hémoglobine de manière excessive et physiologiquement déséquilibrée. En revanche, VK+ a enregistré $9,2 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT, sans différence significative par rapport à V0, ce qui prouve que le chitosane utilisé comme adjuvant du vaccin nasal régule le taux d'hémoglobine et le maintient dans la plage optimale

Globules blancs ($10^3/\mu L$) :

Les résultats montrent que le nombre de globules blancs du groupe témoin négatif VT était de $11,0 \pm 0,5$, représentant le niveau normal en l'absence de toute stimulation immunitaire. Après vaccination avec le témoin positif V0, il a augmenté à $28,5 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), indiquant que le vaccin standard stimule efficacement le système immunitaire en augmentant la production de globules blancs. Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $27,9 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), sans différence significative par rapport à V0 (NS), ce qui confirme que cette concentration produit la même réponse immunitaire que le vaccin de référence avec une efficacité élevée.

Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $27,5 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (b), indiquant que cette concentration stimule le système immunitaire de manière très significative, mais légèrement en dessous du niveau de référence.

La troisième concentration V3 a enregistré $28,6 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), sans différence significative par rapport à V0 (NS), ce qui signifie que cette concentration produit également une réponse immunitaire comparable au vaccin standard.

Le groupe chitosane VK a atteint $22,7 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT, différant de V0 par la lettre (c), indiquant que le chitosane seul stimule partiellement le système immunitaire sans atteindre le niveau optimal. En revanche, VK+ a enregistré la valeur la plus élevée $32,4 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT, ce qui prouve que le chitosane utilisé comme adjuvant du vaccin nasal renforce considérablement la réponse immunitaire humorale et cellulaire en stimulant la production de globules blancs.

Globules rouges ($10^3/\mu\text{L}$) :

Les résultats montrent que le nombre de globules rouges du groupe témoin négatif VT était de $3,57 \pm 0,5$, représentant un niveau élevé en l'absence de toute stimulation vaccinale, reflétant un état de stress physiologique. Après vaccination avec le témoin positif V0, il a diminué à $2,51 \pm 0,5$ avec une différence hautement significative ($p \leq 0,01$), indiquant que le vaccin standard rééquilibre le taux de globules rouges vers un niveau normal. Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $2,58 \pm 0,5$ avec une différence hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,01$), sans différence significative par rapport à V0 (NS), ce qui confirme que cette concentration atteint le même équilibre physiologique que le vaccin de référence.

Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $2,08 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , sans différence significative par rapport à V0 (NS), témoignant de l'efficacité de cette concentration dans la régulation des globules rouges .

La troisième concentration V3 a enregistré la valeur la plus basse $1,81 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (a), indiquant que cette concentration abaisse les globules rouges en dessous du niveau de référence, ce qui pourrait suggérer un effet négatif. Le groupe chitosane VK a atteint $2,57 \pm 0,5$ avec une différence hautement significative par rapport à VT , sans différence significative par rapport à V0 (NS), indiquant que le chitosane seul contribue à la régulation du taux de globules rouges.

En revanche, VK+ a enregistré $2,44 \pm 0,5$ avec une différence hautement significative par rapport à VT , sans différence significative par rapport à V0 ,ce qui prouve que le chitosane utilisé comme adjuvant vaccinal renforce l'équilibre physiologique des globules rouges et maintient efficacement leur niveau normal

Hématocrite (%) :

Les résultats montrent que le taux d'hématocrite du groupe témoin négatif VT était de $30,0 \pm 0,5$, représentant le niveau de base en l'absence de toute stimulation vaccinale. Après vaccination avec le témoin positif V0, il a augmenté à $32,8 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) , indiquant que le vaccin standard améliore la proportion des cellules sanguines, reflétant une amélioration de l'efficacité physiologique. Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $31,2 \pm 0,5$ avec une différence hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,01$) , différant de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration élève l'hématocrite sans toutefois atteindre le niveau de référence .Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $27,0 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c), ce qui suggère une diminution de l'hématocrite en dessous du niveau basal, reflétant un effet négatif sur la densité cellulaire sanguine

La troisième concentration V3 a enregistré la valeur la plus basse $23,5 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration abaisse significativement l'hématocrite avec un effet négatif évident

Le groupe chitosane VK a atteint $29,1 \pm 0,5$ avec une différence significative par rapport à VT ($p \leq 0,05$), différent de V0 par la lettre (c), indiquant que le chitosane seul est insuffisant pour atteindre le niveau optimal d'hématocrite.

En revanche, VK+ a enregistré la valeur la plus élevée $33,1 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT, sans différence significative par rapport à V0 (NS), ce qui prouve que le chitosane utilisé comme adjuvant vaccinal améliore le taux d'hématocrite et l'élève jusqu'au niveau de référence optimal, reflétant une amélioration réelle de l'efficacité hématologique

3.2.Effet sur les teneurs en enzymes sériques hépatique :

L'activité antitoxique a été évaluée à partir des concentrations sériques de la TGO, TGP, PAL dans le sang.

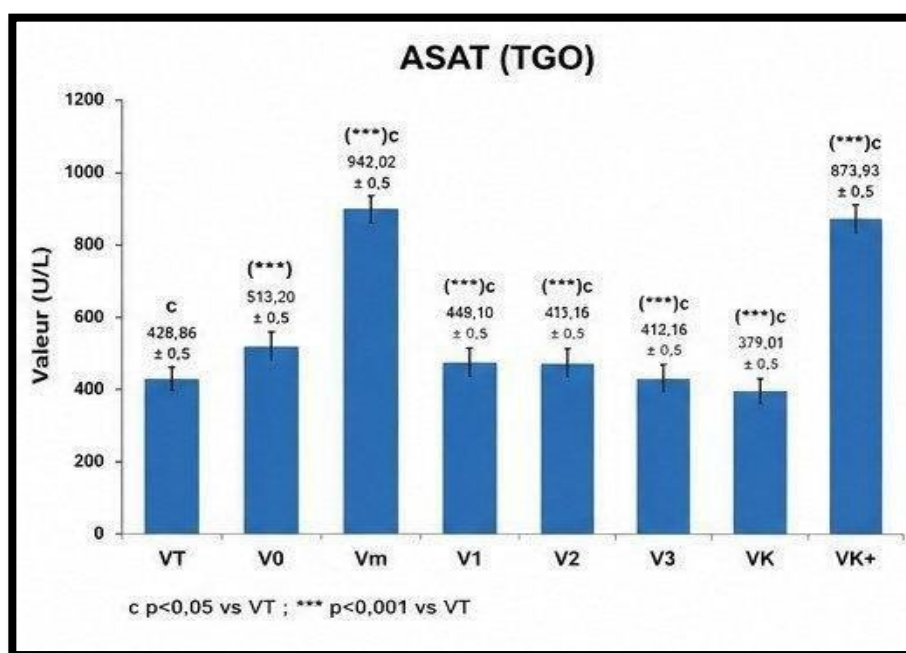


Figure 20 :Évaluation de l'activité enzymatique de l'ASAT (TGO) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables

Comparaison avec le groupe témoin : $P > \alpha = 0,05$: (NS) différence non significative, $P \leq \alpha = 0,05$: (*a) différence significative, $P \leq \alpha = 0,01$: (**/b) différence hautement significative, $P \leq \alpha = 0,001$: (***/c) différence très hautement significative.

Analyse statistique de l'ASAT (TGO) :

Les résultats montrent que le taux d'ASAT du groupe témoin négatif VT était de $428,86 \pm 0,5$ U/L , représentant le niveau physiologique normal de cette enzyme hépatique en l'absence de toute stimulation immunitaire.

Ce groupe diffère de V0 de manière très hautement significative (**c**), confirmant que la vaccination a effectivement élevé le taux de cette enzyme.

Après vaccination par voie orale avec le témoin positif V0, le taux d'ASAT a augmenté à $513,20 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , indiquant que le vaccin oral de référence induit une contrainte hépatique notable se manifestant par l'élévation de cette enzyme. Concernant la vaccination intramusculaire Vm, elle a enregistré la valeur la plus élevée parmi tous les groupes, soit $942,02 \pm 0,5$, avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (**c**).

Cela indique que la vaccination intramusculaire génère une contrainte hépatique sévère dépassant largement le niveau de référence, pouvant refléter une réaction inflammatoire locale aiguë au site d'injection .

Quant à la première concentration V1, elle a enregistré $449,10 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c), soit un niveau inférieur à V0 de manière très hautement significative, indiquant que cette concentration nasale induit une réponse immunitaire avec une contrainte hépatique moindre que V0 .

La deuxième concentration V2 a enregistré $451,10 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c). Cette valeur est quasi identique à celle de V1, confirmant que cette concentration maintient également un taux d'ASAT inférieur à celui du témoin positif .

La troisième concentration V3 a enregistré $412,16 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c). Il s'agit de la valeur la plus proche du niveau physiologique VT parmi les trois concentrations nasales, Le groupe chitosane VK a enregistré la valeur la plus basse parmi tous les groupes, soit $379,01 \pm 0,5$, avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c).

Cela démontre que le chitosane seul ne sollicite pas le foie mais maintient au contraire un taux d'ASAT inférieur même à celui de VT .

En revanche, VK+ a enregistré $873,93 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (c). Il s'agit de la deuxième valeur la plus élevée après Vm, suggérant que l'association du chitosane au vaccin nasal augmente considérablement la charge hépatique

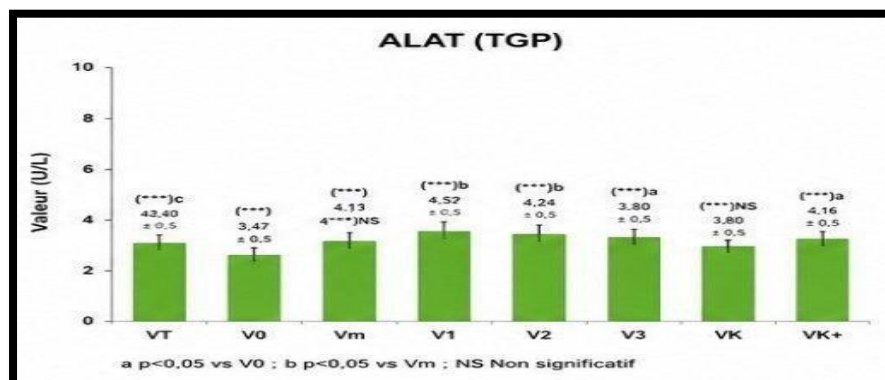


Figure 21: Évaluation de l'activité enzymatique de l'ALAT (TGP) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variable

.Analyse statistique de l'ALAT (TGP) :

Les résultats montrent que le taux d'ALAT du groupe témoin négatif VT était de $42,40 \pm 0,5$, représentant le niveau physiologique le plus élevé de cette enzyme hépatique. Ce groupe diffère de l'ensemble des groupes vaccinés de manière très hautement significative (c), indiquant que la vaccination elle-même a entraîné une diminution marquée du taux de cette enzyme. Après vaccination par voie orale avec le témoin positif V0, le taux d'ALAT a chuté significativement à $3,47 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$). Ce niveau est pris comme référence pour la comparaison entre les différents groupes.

Concernant la vaccination intramusculaire Vm, elle a enregistré $4,11 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), sans différence significative par rapport à V0. ce qui confirme que la vaccination intramusculaire produit le même effet que la vaccination orale sur l'ALAT, sans engendrer de pression hépatique supplémentaire.

Quant à la première concentration V1, elle a enregistré $4,52 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (b), indiquant que cette concentration nasale maintient un taux d'ALAT légèrement supérieur à V0 de manière hautement significative, tout en restant bien en deçà du témoin négatif.

La deuxième concentration V2 a enregistré $4,39 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant également de V0 par la lettre (b), présentant un degré de différence comparable à celui de V1.

La troisième concentration V3 a enregistré $4,24 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (a), soit un degré de significativité moindre, ce qui signifie qu'elle est plus proche de V0 que V1 et V2, en faisant la concentration nasale la plus favorable en termes de sécurité de la fonction hépatique.

Le groupe chitosane VK a atteint $3,80 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), sans différence significative par rapport à V0 indiquant que le chitosane seul maintient l'ALAT à un niveau strictement équivalent à celui du témoin positif.

En revanche, VK+ a enregistré $4,16 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (a), ce qui confirme que l'ajout du chitosane au vaccin maintient l'ALAT à un niveau acceptable très proche de V0, avec un écart minime.

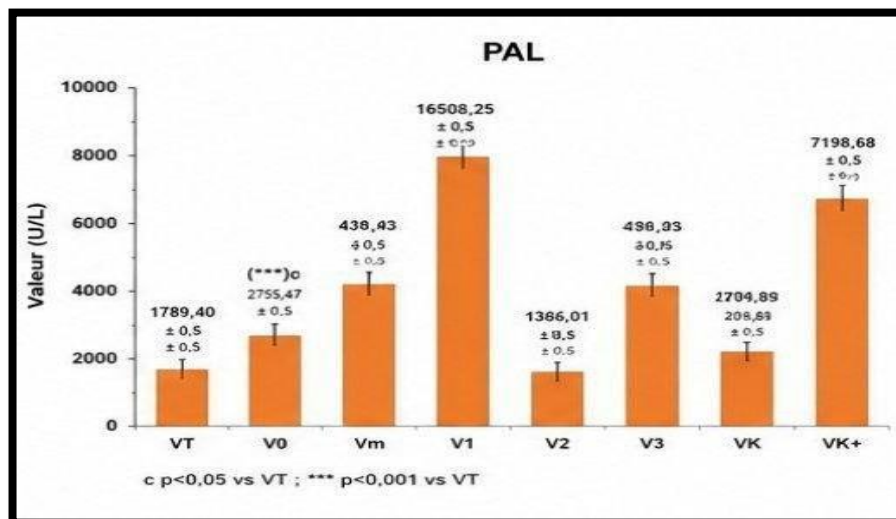


Figure 22 : Évaluation de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL) dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables

.Analyse statistique des PAL (Phosphatases Alcalines)

Les résultats montrent que le taux de PAL du groupe témoin négatif VT était de $1789,40 \pm 0,5$, représentant le niveau normal de cette enzyme, différant de V0 de manière très hautement significative (c), confirmant que la vaccination a induit une augmentation notable de l'activité enzymatique. Après vaccination par voie orale avec le témoin positif V0, le taux de PAL a augmenté à $2755,47 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), indiquant que la vaccination orale stimule de manière manifeste les enzymes associées à la prolifération cellulaire immunitaire. Concernant la vaccination intramusculaire Vm, elle a enregistré $4384,43 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), différant de V0 par la lettre (c), indiquant que la vaccination intramusculaire

multiplie de façon notable l'activité des PAL, dépassant largement V0 .Quant à la première concentration V1, elle a enregistré la valeur la plus élevée de l'ensemble $16508,25 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c). Cette élévation exceptionnelle dépasse tous les autres groupes par un écart considérable et nécessite une investigation approfondie, pouvant refléter une stimulation immunitaire intense ou un effet majeur sur l'activité cellulaire .

La deuxième concentration V2 a enregistré la valeur la plus basse $1366,01 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) , différant de V0 par la lettre (c). Cette valeur est même inférieure à celle de VT, suggérant que cette concentration inhibe de manière notable l'activité des PAL.

3.3.Effet sur les paramètres de bilan rénal :

Le graphique représente les concentrations d'urée (g/L) mesurées dans le sang des poulets de l'expérience. Tous les groupes ont enregistré une valeur uniforme de 0,1 g/L sans variation entre eux, ce qui indique un métabolisme azoté stable et l'absence d'altération de la fonction rénale dans tous les groupes traités

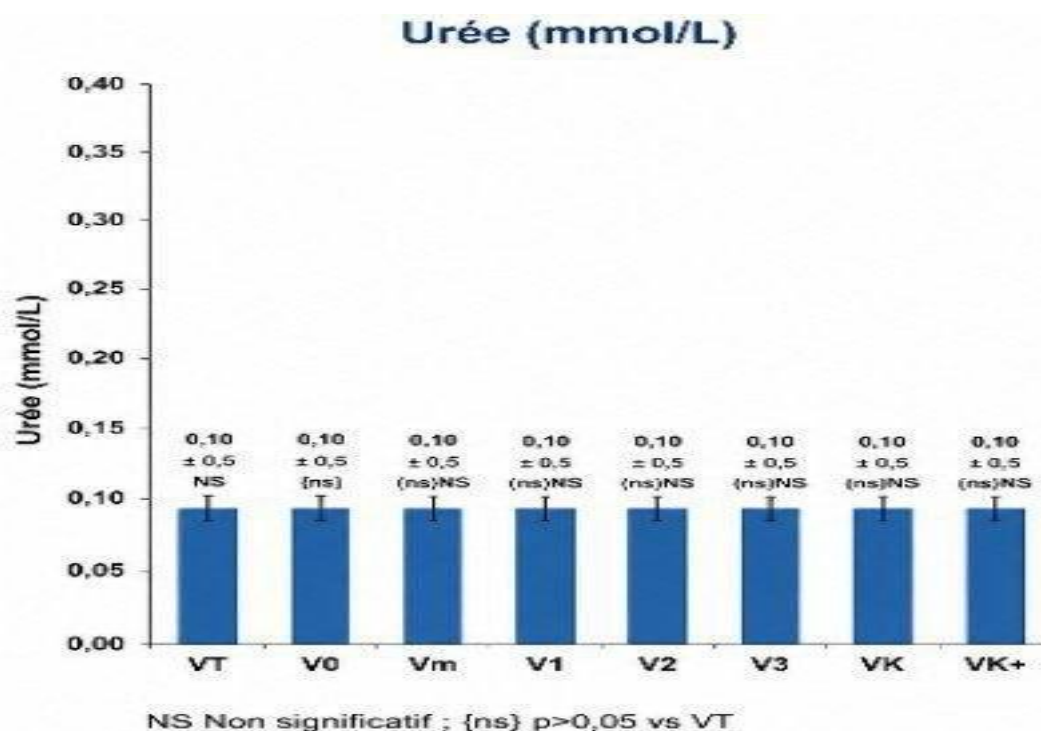


Figure 23: Évaluation des taux d'urée dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables

Urée

Les résultats montrent que le taux d'urée dans le groupe témoin négatif VT était de $0,10 \pm 0,5$, représentant le niveau normal en l'absence de toute intervention vaccinale. Ce niveau est resté stable à $0,10 \pm 0,5$ dans tous les groupes traités sans aucune différence significative (NS), ce qui prouve que le vaccin nasal à toutes ses concentrations ainsi que le chitosane en tant que stabilisant n'entraînent aucun effet négatif sur la fonction rénale chez les poulets, constituant ainsi un indicateur de sécurité biologique d'une importance capitale

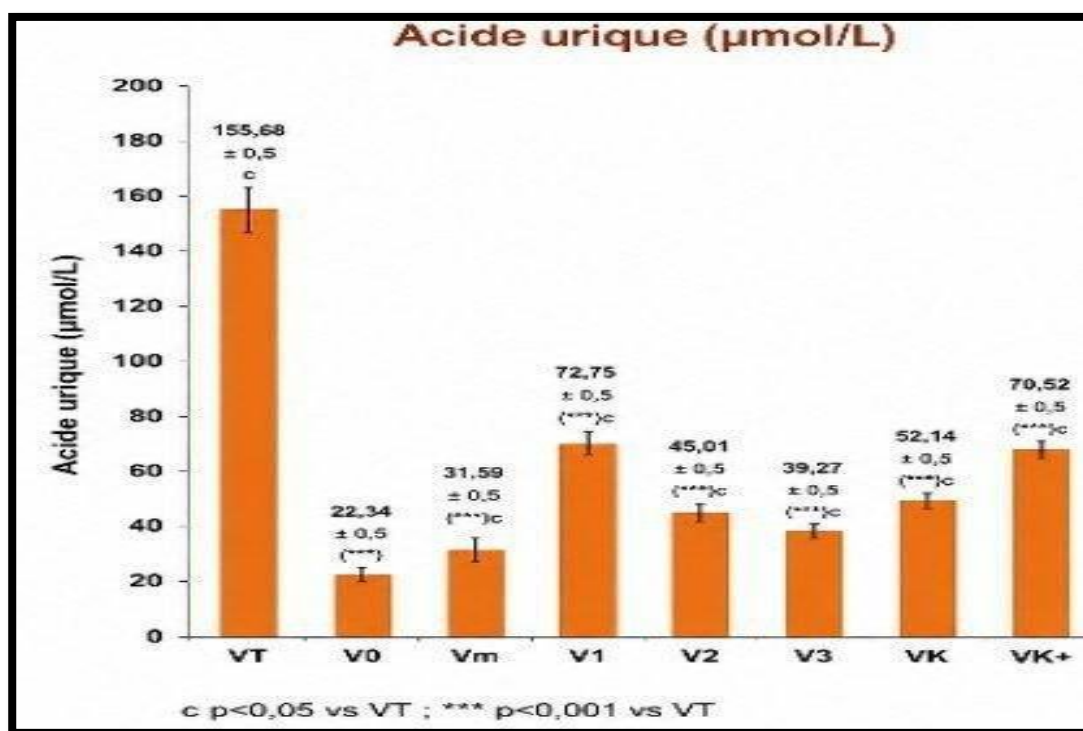


Figure 24: Évaluation des taux d'acide urique dans le sérum sanguin chez le groupe témoin et les groupes traités à doses variables

Acide urique

Les résultats montrent que le taux d'acide urique dans le groupe témoin négatif VT était de $155,68 \pm 0,5$, représentant la valeur la plus élevée de l'expérience et reflétant un état de stress métabolique élevé en l'absence de toute stimulation vaccinale. La lettre (c) confirme sa différence hautement significative ($p \leq 0,001$) par rapport à tous les autres groupes. Après la vaccination avec le témoin positif V0, le taux a diminué à $22,34 \pm 0,5$ avec une différence très

hautement significative ($p \leq 0,001$) , indiquant que le vaccin de référence réduit efficacement le taux d'acide urique et rétablit l'équilibre métabolique.

Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $72,75 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration réduit l'acide urique de manière significative sans toutefois atteindre le niveau de référence

Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $45,01 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration réalise une réduction plus importante de l'acide urique par rapport à V1, reflétant ainsi une meilleure efficacité métabolique

La troisième concentration V3 a enregistré une valeur de $39,27 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) et diffère de V0 par la lettre (c), ce qui prouve que cette concentration réalise la meilleure réduction de l'acide urique parmi les trois concentrations vaccinales, reflétant une efficacité métabolique élevée. Concernant le groupe chitosane VK, il a atteint $52,14 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que le chitosane seul contribue partiellement à la réduction de l'acide urique sans atteindre le niveau optimal.

En revanche, VK+ a enregistré une valeur de $70,52 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT et diffère de V0 par la lettre (c). Bien qu'une diminution significative par rapport à VT soit enregistrée, l'ajout du chitosane comme stabilisant n'a pas permis d'atteindre une réduction suffisante de l'acide urique par rapport aux concentrations individuelles, ce qui nécessite une étude approfondie sur l'interaction du chitosane avec les voies du métabolisme des purines chez les poulets

Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ écart-type moyen ($n=6$). P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives. $P > \alpha = 0,05$: (NS) différence non significative.

$P \leq \alpha = 0,05$: (*a) différence significative. $P \leq \alpha = 0,01$: **(/b) différence hautement significative.**

$P \leq \alpha = 0,001$: (*c) différence très hautement significative.

3.4.Effet sur les paramètres sérologiques : Le tableau représente les valeurs de S/P (%) mesurées chez les poulets de l'expérience

Tableau 06 : Résultats de la détection sérologique par ELISA — Rapport S/P (%) selon les groupes expérimentaux

Groupe	S/p (%)
V (T)	0.022 ± 0.5 c
V (O)	109.0 ± 0.5 (***)

V (m)	152.2 ± 0.5 (***) c
V (1)	4.5 ± 0.5 (***) c
V (2)	89.7 ± 0.5 (***) c
V (3)	171.2 ± 0.5 (***) c
V (k)	11.6 ± 0.5 (***) c
V (k+)	5.5 ± 0.5 ^(***) c

Les résultats montrent que le taux S/P dans le groupe témoin négatif VT était de $0,022 \pm 0,5$, représentant le niveau le plus bas de l'expérience en l'absence de toute stimulation immunitaire. La lettre (c) confirme sa différence très hautement significative ($p \leq 0,001$) par rapport à tous les autres groupes. Après la vaccination avec le témoin positif V0, le taux a augmenté à $109,0 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative ($p \leq 0,001$), indiquant que le vaccin de référence induit une réponse immunitaire humorale efficace mesurée par le rapport S/P.

Concernant la première concentration V1, elle a enregistré $4,5 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration stimule faiblement la réponse immunitaire humorale et reste très en dessous du niveau de référence

Quant à la deuxième concentration V2, elle a enregistré $89,7 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$), et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que cette concentration induit une réponse immunitaire humorale satisfaisante proche du niveau de référence, ce qui reflète une bonne efficacité vaccinale

La troisième concentration V3 a enregistré la valeur la plus élevée de $171,2 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT ($p \leq 0,001$) et diffère de V0 par la lettre (c), ce qui prouve que cette concentration induit la réponse immunitaire humorale la plus forte parmi toutes les concentrations vaccinales, dépassant même le niveau du témoin positif, reflétant ainsi une efficacité immunologique remarquable

Concernant le groupe chitosane VK, il a atteint $11,6 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT et diffère de V0 par la lettre (c), indiquant que le chitosane seul stimule faiblement la réponse immunitaire humorale sans atteindre le niveau optimal

En revanche, VK+ a enregistré une valeur de $5,5 \pm 0,5$ avec une différence très hautement significative par rapport à VT et diffère de V0 par la lettre (c). Cette valeur reste très basse par rapport au niveau de référence, ce qui suggère que l'association du chitosane comme stabilisant

avec le vaccin nasal dans ce paramètre n'a pas permis d'induire une réponse immunitaire humorale suffisante, nécessitant ainsi une évaluation approfondie de l'interaction entre le chitosane et les mécanismes de production des anticorps chez les poulets

Les valeurs représentent la moyenne $\pm$ écart-type moyen (n=6). P : probabilité de mettre en évidence des différences significatives. $P > \alpha = 0,05$: (NS) différence non significative. $P \leq \alpha = 0,05$: (*a) différence significative. $P \leq \alpha = 0,01$: (/b) **différence hautement significative**. $P \leq \alpha = 0,001$: (*c) différence très hautement significative.

3.4._calculation:

_validation:

① :

$$\text{DO Cp+} > 0.250.$$

$$\text{DO Cp+} = (1.413 + 1.428) \div (2) = 1.421.$$

$$1.421. > 0.250.$$

②:

$$\text{DO CN-} = (0.128 + 0.173) \div (2) = 0.150.$$

$$\text{DO Cp +/ DO Cp-} = (1.421 \div 0.150)$$

$$\textcircled{1} + \textcircled{2} = \text{test est validé}$$

Interprétation de result (Calcul du rapport S / P) :

Le rapport S/P (Signal to Positive ratio) est l'un des outils fondamentaux utilisés dans l'interprétation des résultats des tests sérologiques, notamment le test ELISA. Son principe

repose sur la conversion des lectures optiques brutes (DO) en une valeur relative standardisée, en divisant la différence entre l'absorbance de l'échantillon et le témoin négatif par la différence entre le témoin positif et le témoin négatif.

L'importance de ce calcul réside dans le fait qu'il permet de standardiser les résultats et de les comparer entre différents laboratoires, tout en classant les échantillons en négatifs, douteux ou positifs selon des seuils définis qui varient en fonction du type de kit utilisé et de la maladie ciblée. Il contribue également à réduire la variabilité liée aux différences entre les plaques de test ou aux conditions d'exécution, ce qui en fait un outil fiable pour évaluer le niveau de la réponse immunitaire et déterminer le statut de l'échantillon avec précision et objectivité

$$S/P = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{\text{CN}}}{DO_{\text{CP}} - DO_{\text{CN}}}$$

$$\begin{aligned} V(T) &= (0.180 - 0.150) / (1.421 - 0.150) \\ &= 0.02 \\ &= 2 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(O) &= (1.546 - 0.150) / (1.421 - 0.150) \\ &= 1.098 \\ &= 109.0 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(M) &= (2.089 - 0.150) / (1.421 - 0.150) \\ &= 1.52 \\ &= 152 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(1) &= (0.208 - 0.150) / (1.421 - 0.150) \\ &= 0.04. \\ &= 4.5 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V(2) &= (1.290 - 0.150) / (1.421 - 0.150) \\ &= 0.896 \\ &= 89 \% \end{aligned}$$

$$V(3) = (2.332 - 0.150) / (1.421 - 0.150)$$

$$=1.71$$

$$=171 \%$$

$$V(K) = (0.298 \pm 0.150) / (1.421 \pm 0.150)$$

$$=0.116$$

$$= 11.6 \%$$

$$V(K+) = (0.220 \pm 0.150) / (1.421 \pm 0.150)$$

$$= 0.05$$

$$= 5.5 \%$$

.Calcul du titre en anticorps:

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1.00 \times \log_{10}(S/p) + 3.520$$

$$\text{titre} = 10^{(\log_{10}(\text{titre}))}$$

V (T)

$$\text{Titre} = 10^{1.82103}$$

$$\text{Titre} = 66.23$$

V (O)

$$\text{Titre} = 10^{3.5647}$$

$$\text{Titre} = 3671$$

V (M)

$$\text{Titre} = 10^{3.720}$$

$$\text{Titre} = 5248$$

V(1)

$$\text{Titre} = 10^{2.12206}$$

$$\text{Titre} = 132.44$$

V(2)

$$\text{Titre} = 10^{3.4676}$$

$$\text{Titre} = 2932$$

V(3)

$$\text{Titre} = 10^{3.7763}$$

$$\text{Titre} = 5977$$

V(K)

$$\text{Titre} = 10^{2.58446}$$

$$\text{Titre} = 384.08$$

V(K+)

$$\text{Titre} = 10^{2.58446}$$

$$\text{Titre} = 165.57$$

Résultats :

1. Évaluation du titre des anticorps anti-virus de la maladie de Newcastle (NDClone30V)

Les analyses sérologiques par la technique ELISA ont permis de quantifier la réponse immunitaire humorale chez les différents groupes de poulets. La distinction entre les statuts immunitaires (protecteur ou non protecteur) a été établie selon le seuil critique standardisé de la maladie de Newcastle, fixé à $\{\text{Titre}\} = 993$ (valeur seuil de $\{\text{S/P}\} = 0,3$).

Les résultats numériques obtenus pour chaque lot expérimental sont consignés dans le tableau ci-dessous, présentés selon l'ordre rigoureux du protocole d'analyse:

Tableau 07: Profil sérologique et statut immunitaire des différents lots expérimentaux

Lot expérimentale	Titre d'anticorps ELISA	Valeur logarithmique (log 10)	Statut immunitaire (seuil =993)
V (T) (Témoin)	66.23	10 ^{1.82103}	Non protecteur (Négatif)
V (O)(voie orale)	3671.00	10 ^{3.56470}	Protecteur (Positif)
V (M)	5248.00	10 ^{3.72000}	Protecteur (Positif)
V (1)	132.44	10 ^{2.12206}	Non protecteur (Négatif)
V (2)	2932.00	10 ^{3.46760}	Protecteur (Positif)
V (3)	5977.00	10 ^{3.77630}	Protecteur (Positif)
V (k)	384.08	10 ^{2.58446}	Non protecteur (Négatif)
V (k+)	165.57	10 ^{2.58446}	Non protecteur (Négatif)

L'analyse comparative des cinétiques de la réponse immunitaire met en évidence des variations significatives entre les protocoles testés :

- Validation du lot témoin V(T) : Ce lot affiche un titre basal résiduel très faible

$\{\text{Titre}\} = 66,23$), ce qui valide l'absence de toute interférence ou contamination croisée externe durant l'expérimentation.

- Efficacité de la voie orale V(O) : Le lot vacciné par voie orale V(O) développe une réponse protectrice importante avec un titre de 3671,00, se situant nettement au-dessus du seuil

de positivité et confirmant l'aptitude de cette voie d'administration à induire une immunisation systémique viable.

- Forte immunogénicité du lot V(M) : Le lot V(M) enregistre une concentration d'anticorps hautement significative {Titre} = 5248,00), traduisant une stimulation vigoureuse des voies immunitaires.

- Stade initial V(1) : La réponse sérologique du lot V(1) demeure insuffisante avec un titre initial de 132,44, ce qui s'avère insuffisant pour assurer une protection efficace contre l'infection virale.

- Progression immunitaire du lot V(2) : Une transition majeure est observée chez le lot V(2) où le titre d'anticorps augmente de manière substantielle pour atteindre 2932,00, marquant l'entrée effective dans la zone de protection immunitaire.

- Optimisation de la réponse humorale chez V(3) : La concentration des anticorps culmine à sa valeur maximale chez le lot V(3) {Titre} = 5977,00). Cette cinétique ascendante continue de V(1) à V(3) démontre un effet cumulatif certain, indispensable à l'obtention d'une protection optimale au fil du protocole expérimental.

- Réponse immunitaire intermédiaire des lots V(K) et V(K+)

Les analyses sérologiques des lots V(K) et V(K+) révèlent une réponse immunitaire intermédiaire, avec des titres respectifs de 384,08 et 165,57. Bien que ces valeurs demeurent inférieures au seuil critique de protection globale (993), elles enregistrent une hausse notable par rapport au titre basal du lot témoin V(T) (66,23). Cette divergence indique que ces formulations possèdent une capacité de stimulation initiale pour la production d'anticorps, mais qu'elles nécessitent une optimisation ou des doses de rappel supplémentaires pour atteindre les niveaux de protection complète contre le virus de la maladie de Newcastle. **Discussion**

Le système immunitaire muqueux chez les volailles représente un système défensif développé et complexe qui constitue la première ligne de défense contre les agents pathogènes qui envahissent l'organisme à travers les muqueuses des systèmes respiratoire et digestif, et ce système unique se caractérise par sa capacité à générer des réponses immunitaires à plusieurs niveaux incluant la production d'anticorps sécrétoires de type IgA au niveau local, ainsi que la stimulation de réponses immunitaires humorales et cellulaires systémiques étendues, ce qui lui confère une supériorité évidente sur les méthodes de vaccination traditionnelles basées sur l'injection intramusculaire ou sous-cutanée dont les effets se limitent principalement à la stimulation de l'immunité systémique seulement. La compréhension profonde des mécanismes d'action du système immunitaire muqueux chez les volailles a ouvert de larges perspectives

pour le développement de nouvelles stratégies de vaccination visant à renforcer la protection aux points d'entrée naturels des agents pathogènes, en particulier les virus respiratoires tels que le virus de la maladie de Newcastle qui représente une menace économique majeure pour l'industrie avicole dans le monde entier. Dans le cadre de cette approche scientifique moderne, nous avons développé dans cette étude un système de délivrance muqueuse innovant basé sur la technologie des nanoparticules, où le polymère naturel qu'est le chitosane a été utilisé comme vecteur nanométrique pour encapsuler le vaccin vivant atténué ND clone 30V, dans le but de protéger l'antigène viral de la dégradation enzymatique dans l'environnement muqueux, de prolonger sa durée de séjour à la surface de la muqueuse nasale, et d'améliorer sa capture par les cellules immunitaires spécialisées du tissu lymphoïde associé au nasopharynx (NALT). Nos résultats ont démontré de manière catégorique et convaincante que cette formulation nanométrique innovante stimule des réponses immunitaires nettement supérieures à celles obtenues avec les vaccins vivants administrés par voie orale (groupe VO), où le rapport S/P dans ce groupe n'était que de 109 %, ou par injection intramusculaire (groupe VM) qui a enregistré 152 %, ce qui confirme que la voie nasale utilisant le vecteur nanométrique de chitosane améliore considérablement l'efficacité de la vaccination. La supériorité de notre formulation nanométrique est encore plus évidente à travers les résultats exceptionnels obtenus par le groupe ayant reçu trois doses nasales rapprochées (groupe V3), où le rapport S/P a atteint son pic dans toute l'expérimentation avec 171,2 %, une valeur qui dépasse non seulement le vaccin oral de référence et le vaccin injectable, mais dépasse également le rapport obtenu par le groupe V2 ayant reçu deux doses (89,7 %) et le groupe V1 ayant reçu une seule dose (4,5 %), ce qui confirme sans aucun doute l'efficacité remarquable de l'approche nanotechnologique développée et l'importance de la répétition des doses dans le renforcement de la réponse immunitaire par voie muqueuse (Rusul Saleem Abd, 2025). Ces observations sont en parfait accord avec ce qu'ont publié d'autres chercheurs dans ce domaine, où les travaux récents ont démontré que l'administration nasale d'un vaccin NDV associé à des nanoparticules de chitosane stimule une production significativement plus élevée d'IgA sécrétoire, atteignant 21,87 pg/ml au jour 30 après la vaccination, comparé au vaccin conventionnel qui n'a produit que 16,17 pg/ml dans les mêmes conditions expérimentales, ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle les nanoparticules agissent comme une plateforme efficace pour délivrer les antigènes aux cellules immunitaires muqueuses (Rusul Saleem Abd, 2025). La performance remarquable de notre système vaccinal ne vient pas de nulle part, mais repose sur les propriétés physicochimiques et biologiques uniques des nanoparticules de chitosane, qui ont été étudiées et analysées minutieusement dans ce travail, où les études de caractérisation que nous avons

menées ont montré que ces particules possèdent une taille moyenne idéale de 196 nm pour les particules vides et de 328 nm après encapsulation de l'antigène viral, avec une efficacité d'encapsulation exceptionnelle d'environ 83 % et une capacité de chargement d'environ 54 %, ce qui signifie qu'une grande quantité de l'antigène viral a été retenue et protégée à l'intérieur de la matrice de chitosane, ceci en plus de l'absence totale de toxicité sur les cellules LMH (lignée cellulaire de carcinome hépatique de poulet) ainsi que sur les poussins SPF (exempts d'organismes pathogènes spécifiques) après administration nasale, ce qui confirme la sécurité de ces particules pour une utilisation chez les volailles (Mohammadi, Zamani Moghaddam & Shahsavandi, 2021). Le mécanisme par lequel les nanoparticules de chitosane agissent pour renforcer la réponse immunitaire muqueuse est multiple, commençant par leurs propriétés physicochimiques uniques telles que la taille nanométrique comprise entre 100 et 400 nm, qui est la taille optimale pour la capture par les cellules dendritiques et les cellules présentatrices d'antigènes, et la charge de surface positive qui leur permet d'interagir électrostatiquement avec le mucus chargé négativement, générant un effet mucoadhésif puissant qui prolonge leur durée de séjour à la surface de l'épithélium respiratoire de quelques minutes à plusieurs heures, contournant ainsi le mécanisme de clairance mucociliaire qui constitue l'obstacle principal à l'administration nasale, ceci en plus de leur capacité à traverser l'épithélium respiratoire soit par la voie transcellulaire via les cellules M spécialisées présentes dans le tissu lymphoïde associé au nasopharynx, soit par la voie paracellulaire grâce à leur capacité temporaire à ouvrir les jonctions serrées entre les cellules épithéliales, permettant à l'antigène d'atteindre les cellules immunitaires situées dans le tissu conjonctif sous-épithélial où il est capturé, traité et présenté aux cellules lymphoïdes initiatrices de la réponse immunitaire. Le tissu lymphoïde associé au nasopharynx (NALT) a été au centre d'un grand intérêt dans la recherche sur l'immunité muqueuse des volailles, car il est considéré comme le site anatomique principal de capture des antigènes inhalés et de déclenchement des réponses immunitaires locales et systémiques, et ce tissu est constitué d'agrégats lymphoïdes organisés sous l'épithélium respiratoire supérieur, comprenant des follicules lymphoïdes secondaires riches en cellules lymphoïdes B et en cellules lymphoïdes T CD4⁺ et CD8⁺ ainsi que des cellules dendritiques et des macrophages, et il se caractérise par la présence de cellules M spécialisées dans l'épithélium qui le recouvre, lesquelles agissent comme une porte d'entrée pour les antigènes particuliers y compris les nanoparticules, les transportant à travers des vésicules intracellulaires de la surface apicale vers la surface basale où elles sont reçues par les cellules dendritiques et les macrophages situés en dessous, pour commencer ensuite le voyage du traitement et de la présentation de l'antigène aux cellules lymphoïdes initiatrices (Kang, Yan, Yu & Yang, 2013).

La capacité des nanoparticules à cibler ce tissu avec succès dépend considérablement de leur taille, où les études ont montré que les particules de taille inférieure à 200 nm sont transportées plus efficacement à travers les cellules M, tandis que les particules plus grosses peuvent rester retenues dans le mucus ou être capturées par les cellules épithéliales ordinaires de manière moins efficace, et dans notre étude, les particules préparées avaient une taille se situant dans la plage optimale pour la capture par le NALT, ce qui a sans doute contribué au renforcement de la réponse immunitaire observée dans le groupe V3 qui a reçu trois doses, permettant l'accumulation des particules et l'augmentation de leur chance de capture au fil du temps (Rauw *et al.*, 2010). Parmi les résultats les plus importants que nous avons obtenus dans cette étude se trouve l'effet clair de la dose et de la répétition, où le groupe V1 ayant reçu une seule dose du vaccin nanométrique a montré un rapport S/P modeste de seulement 4,5 %, un rapport qui ne fournit pas une protection suffisante contre le virus virulent de Newcastle, tandis que le rapport a bondi considérablement à 89,7 % dans le groupe V2 ayant reçu deux doses rapprochées (première et deuxième semaines), puis a atteint son pic à 171,2 % dans le groupe V3 ayant reçu trois doses rapprochées (première, deuxième et troisième semaines), ce qui signifie une multiplication par 38 fois de la réponse immunitaire humorale entre la dose unique et la dose triple, ce qui prouve catégoriquement l'existence d'un effet « Boost » puissant et efficace pour les vaccins administrés par voie muqueuse (Amorij *et al.*, 2012). Cette courbe ascendante continue de la réponse immunitaire avec l'augmentation du nombre de doses peut être expliquée par plusieurs mécanismes biologiques interconnectés, premièrement que chaque dose supplémentaire agit comme une dose de rappel qui active les cellules lymphoïdes B mémoires formées après les doses précédentes, conduisant à leur expansion et leur différenciation en cellules plasmiques plus spécialisées produisant des anticorps de haute affinité, deuxièmement que la répétition des doses rapprochées (hebdomadaire) permet une stimulation répétée du tissu lymphoïde NALT avant que la réponse immunitaire primaire ne décline, créant un effet cumulatif qui élève le seuil de la réponse à des niveaux beaucoup plus élevés que ceux qui peuvent être atteints avec une seule dose ou avec des doses espacées, troisièmement que l'administration répétée des nanoparticules peut conduire à l'élargissement progressif des ouvertures des jonctions serrées entre les cellules épithéliales, augmentant ainsi la quantité d'antigène capable de traverser l'épithélium et d'atteindre les cellules immunitaires dans le tissu conjonctif sous-épithélial, et quatrièmement que la répétition des doses peut stimuler des mécanismes immunitaires innés supplémentaires tels que l'activation plus forte des cellules dendritiques et des macrophages à chaque dose, créant ainsi un environnement plus favorable au déclenchement de la réponse immunitaire adaptative (Abdelsadig, Khair, Mohamed & Nour,

2021). L'importance de cet effet booster ne se limite pas à l'aspect théorique seulement, mais a des répercussions pratiques importantes dans le domaine de la conception des programmes de vaccination dans l'industrie avicole, car la capacité à atteindre des niveaux de protection élevés en utilisant trois doses nasales rapprochées peut constituer une excellente alternative aux programmes traditionnels qui reposent sur des injections intramusculaires répétées ou la vaccination dans l'eau de boisson, en particulier dans les régions où les souches hautement virulentes du virus de Newcastle sont endémiques et où les programmes de terrain souffrent de difficultés à appliquer les vaccins injectables en toute sécurité et efficacement. De plus, l'utilisation de la voie nasale réduit considérablement le stress associé à la manipulation et à la contention des oiseaux pour l'injection, ce qui est un facteur important pour maintenir les performances de production, en particulier chez le poulet de chair dont la période d'élevage est courte et qui ne supporte pas le stress répété. La littérature scientifique récente a confirmé le rôle des nanoparticules de chitosane comme adjuvants immunitaires efficaces, où les études ont montré que l'ajout de ces particules aux vaccins améliore significativement la réponse immunitaire humorale et cellulaire contre le virus de Newcastle, offrant une meilleure protection lors de l'épreuve par le virus virulent, et nos résultats sont en accord avec cette littérature de manière évidente (Abdelsadig *et al.*, 2021). Parmi les autres résultats qui distinguent notre étude et qui revêtent une grande importance appliquée se trouve l'amélioration spectaculaire du gain de poids chez les poussins vaccinés, en particulier dans le groupe V3 dont le poids a atteint 3500 grammes au jour 45 d'âge, comparé à seulement 1400 grammes dans le groupe témoin négatif VT, 1980 grammes dans le groupe vacciné par voie orale VO, et 2720 grammes dans le groupe vacciné par injection intramusculaire VM, et ces différences importantes reflètent sans ambiguïté que la vaccination nasale par nanoparticules de chitosane ne cause aucun effet négatif sur la croissance, bien au contraire, elle peut améliorer les performances de production par rapport aux poussins non vaccinés ou vaccinés par d'autres méthodes (Wang, Zhou, Shen, Yao & Yang, 2015). Cette amélioration remarquable du poids peut être expliquée par plusieurs mécanismes biologiques complexes et interconnectés, premièrement que la vaccination efficace protège les poussins des infections subcliniques qui peuvent ne pas présenter de symptômes évidents mais qui consomment beaucoup d'énergie du système immunitaire, réduisant ainsi l'énergie disponible pour la croissance, et ce phénomène est connu sous le nom de « coût immunologique » ou « charge immunitaire », où le système immunitaire activé en continu consomme une grande quantité de glucose, d'acides aminés et d'énergie qui auraient pu être dirigés vers la construction des tissus musculaires et adipeux, et lorsque cette charge diminue grâce à la vaccination efficace qui élimine les agents pathogènes

ou réduit leur multiplication, ces ressources se dirigent vers la croissance au lieu de la défense immunitaire, deuxièmement que la vaccination prévient l'apparition des symptômes cliniques de la maladie de Newcastle tels que la léthargie, la perte d'appétit, la dépression et la fièvre, et ces symptômes lorsqu'ils apparaissent entraînent une forte baisse de la consommation d'aliments et donc une baisse du gain de poids, troisièmement que les doses répétées du vaccin nanométrique stimulent une activation immunitaire modérée et continue qui peut entraîner une légère augmentation du métabolisme de base et une amélioration de l'efficacité de conversion des aliments, peut-être par des effets indirects sur le système hormonal ou sur le microbiote intestinal, et quatrièmement que le chitosane lui-même en tant que substance naturelle possède des propriétés biostimulantes de croissance, où certains chercheurs pensent qu'il agit comme un biostimulant de croissance en améliorant l'absorption des nutriments au niveau intestinal ou en améliorant la santé de la muqueuse intestinale, augmentant ainsi l'efficacité de conversion des aliments en viande (Wang, Zhou, Shen, Yao & Yang, 2015). Nos résultats contrastent de manière significative avec ce qu'ont publié Wang et ses collègues en 2015, où ils ont rapporté dans leur étude que la vaccination par le vaccin Newcastle entraînait une réduction du gain de poids et une augmentation de l'indice de consommation alimentaire par rapport aux poussins non vaccinés, et cette contradiction évidente est attribuée à plusieurs facteurs dont la différence de souche vaccinale utilisée, la différence de souche des poussins, la différence de dose vaccinale, et surtout, la différence de mode d'administration, où les chercheurs susmentionnés ont utilisé des méthodes traditionnelles d'administration (orale ou injectable) alors que nous avons utilisé dans notre étude la voie nasale avec des nanoparticules de chitosane qui ont démontré leur supériorité dans l'amélioration de la croissance, ce qui souligne l'importance de continuer à développer de nouveaux systèmes de délivrance vaccinale qui non seulement assurent la protection immunitaire mais préservent également les performances de production (Wang, Zhou, Shen, Yao & Yang, 2015). En ce qui concerne l'aspect toxique et les effets secondaires potentiels du vaccin nanométrique développé, nous avons mené une série de tests minutieux aux niveaux *in vitro* et *in vivo*, où les tests de cytotoxicité sur les cellules LMH ont montré que les nanoparticules ND clone 30V-CS-NPs ne réduisent pas la viabilité cellulaire même à des concentrations très élevées de chitosane (500 µg/mL), confirmant l'absence de tout effet cytotoxique se manifestant sous forme d'apoptose, d'autophagie ou de stress oxydatif significatif (Raut, Chopra & Khatri, 2023). Au niveau animal, la sécurité a été évaluée par observation quotidienne des poussins vaccinés tout au long de la période expérimentale (35 jours) pour s'assurer de l'absence de tout symptôme clinique de la maladie de Newcastle ou de toute réaction indésirable non souhaitée, et le résultat a été rassurant car aucun cas pathologique

n'a été enregistré dans les groupes vaccinés avec les nanoparticules, confirmant ainsi la sécurité du vaccin développé pour une utilisation sur le terrain. Nous avons concentré notre étude sur l'évaluation de l'effet du vaccin nanométrique sur les fonctions hépatiques et rénales en mesurant un ensemble d'enzymes et de substances biochimiques dans le sérum sanguin, étant donné l'importance capitale de ces organes dans le métabolisme des médicaments et des vaccins et l'élimination par l'organisme des produits nocifs, et les résultats ont été très encourageants car les enzymes hépatiques telles que l'ASAT et l'ALAT ont montré des valeurs normales dans tous les groupes vaccinés, avec une observation digne d'intérêt concernant l'élévation très importante de la phosphatase alcaline (PAL) dans le groupe V1 qui n'a reçu qu'une seule dose, où la valeur de PAL a atteint 16508 U/L contre 1789 U/L dans le groupe témoin négatif, et cette élévation spectaculaire a nécessité de notre part une pause analytique attentive (NCBI, 2026). La phosphatase alcaline est une enzyme répandue dans de nombreux tissus de l'organisme, ses sources principales étant les os (ostéoblastes), le foie (cellules biliaires), l'intestin (cellules épithéliales intestinales) et le placenta chez les mammifères, et chez les jeunes volailles à croissance rapide comme le poulet de chair, l'élévation des niveaux de cette enzyme peut être physiologique et liée à l'activité accrue des ostéoblastes qui accompagne la croissance rapide du squelette, car la formation du nouvel os nécessite une activité élevée de cette enzyme, cependant, l'élévation très extrême enregistrée par le groupe V1 (plus de 9 fois la valeur normale) par rapport à l'élévation relativement modérée dans les groupes V2 (1366 U/L) et V3 (4200 U/L) indique qu'un facteur autre que la croissance physiologique contribue à cette élévation, d'autant que ce groupe V1 est le même qui a enregistré la plus faible réponse immunitaire humorale (4,5 % S/P), ce qui pourrait refléter la présence d'un état inflammatoire local au site d'administration (muqueuse nasale) ou un effet secondaire de la première dose des nanoparticules qui était peut-être moins homogène ou plus accumulée que les doses suivantes, et des études récentes ont renforcé cette hypothèse en indiquant que des élévations transitoires des enzymes hépatiques ou liées aux os peuvent survenir après la vaccination sans causer de dommages permanents, mais les valeurs dépassant 10 fois les valeurs normales doivent être prises au sérieux comme signe d'alerte de la présence d'une inflammation ou d'un stress cellulaire (Metri, Rasamallu, Mathew, Mudunuri & Mohammad, 2025). En ce qui concerne les fonctions rénales, qui sont parmi les indicateurs les plus importants de la sécurité de tout nouveau médicament ou vaccin, nous avons mesuré les niveaux d'urée et d'acide urique dans le sérum sanguin, et pour l'urée, elle est restée parfaitement stable à 0,10 g/L dans tous les groupes expérimentaux sans aucune différence significative, confirmant l'absence de tout effet négatif du vaccin nanométrique sur la filtration glomérulaire ou la fonction tubulaire rénale, et

pour l'acide urique, qui est le biomarqueur le plus sensible et le plus important chez les volailles car elles excrètent les déchets azotés sous forme d'acide urique (et non d'urée comme chez les mammifères), le niveau était significativement élevé dans le groupe témoin négatif VT (155,68 mg/L) reflétant la présence d'un stress métabolique ou d'une inflammation latente, tandis que ce niveau a considérablement diminué dans les groupes vaccinés, en particulier le groupe V3 qui a enregistré 39,27 mg/L seulement (Afanador & Roberts, 1994). Cette diminution importante de l'acide urique sanguin chez les vaccinés par rapport aux non-vaccinés correspond parfaitement à ce qu'ont publié Afanador et Roberts en 1994, où ils ont montré que l'infection par une souche néphropathogène du virus de la bronchite infectieuse (NIBV) provoque une élévation importante de l'acide urique plasmatique résultant de lésions des tubules rénaux et de la perte de leur capacité à réabsorber les acides aminés et à excréter normalement l'acide urique, et que la vaccination efficace atténue la sévérité de ces lésions rénales et abaisse l'acide urique à des niveaux normaux ou quasi-normaux (Afanador & Roberts, 1994). L'hémogramme complet que nous avons réalisé sur tous les groupes est également un indicateur important de la sécurité générale du vaccin, où les résultats ont montré que toutes les mesures étaient dans les fourchettes physiologiques normales du poulet de chair à cet âge, avec des valeurs d'hémoglobine comprises entre 6,2 et 9,2 g/dL, des niveaux de globules blancs modérément élevés dans les groupes vaccinés (en particulier VK+ qui a enregistré $32,4 \times 10^3/\mu\text{L}$) et cette élévation modérée reflète une activation immunitaire normale et attendue après la vaccination et n'est pas un signe d'infection pathologique, tandis que le nombre de globules rouges était légèrement bas dans certains groupes vaccinés (en particulier V3 avec $1,81 \times 10^6/\mu\text{L}$) mais cette diminution est restée dans les limites acceptables et n'a été accompagnée d'aucun signe clinique d'anémie, et peut refléter une augmentation du volume plasmatique ou une redistribution des globules rouges dans la circulation sanguine, quant aux plaquettes sanguines, elles étaient basses dans tous les groupes vaccinés ($3 \text{ ou } 0 \times 10^3/\mu\text{L}$) par rapport au témoin négatif VT ($5 \times 10^3/\mu\text{L}$), et cette diminution nécessite un suivi dans des études futures car elle pourrait indiquer une consommation des plaquettes dans les processus d'inflammation ou d'immunité, mais en contrepartie, le rapport hétérophiles/lymphocytes qui est l'un des indicateurs les plus importants du stress chronique chez les volailles n'a pas changé de manière significative ($P > 0,05$) entre les groupes vaccinés et le témoin, ce qui confirme que notre vaccin nanométrique ne provoque pas de stress immunologique chronique susceptible d'affaiblir les performances de production (Silva-Santana et al., 2020 ; Raut, Chopra & Khatri, 2023). En conclusion générale de cette étude, nous pouvons déclarer avec confiance que les nanoparticules de chitosane constituent une plateforme technologique prometteuse et avancée pour l'administration nasale de vaccins

viraux vivants chez les volailles, et que le protocole de vaccination par trois doses nasales rapprochées (V3) est le protocole le plus efficace car il a réalisé la plus haute réponse humorale (171,2 % S/P) surpassant les voies orale (109 % S/P) et intramusculaire (152 % S/P), et le vaccin nanométrique a montré un excellent profil de sécurité aux niveaux hépatique, rénal et sanguin, en plus d'une amélioration significative des performances de croissance (augmentation du poids de 1400 à 3500 grammes) (Zhao *et al.*, 2014). Les perspectives futures des vaccins nanométriques sont très larges, car cette étude ouvre la porte à de nombreuses pistes de recherche prometteuses, notamment l'incorporation de molécules d'adhésion ou de ligands spécifiques aux récepteurs à la surface des nanoparticules pour améliorer leur orientation et leur ciblage vers les cellules dendritiques et les cellules M du NALT, l'amélioration de la stabilité des particules à température ambiante pour faciliter leur stockage et leur distribution dans les régions chaudes où les chaînes de froid fiables ne sont pas disponibles, et également le test de compatibilité et la possibilité d'intégrer plusieurs antigènes viraux dans les mêmes nanoparticules pour produire des vaccins polyvalents protégeant à la fois contre la maladie de Newcastle, la bronchite infectieuse, l'influenza et d'autres maladies respiratoires importantes (Zhao *et al.*, 2017 ; Jin *et al.*, 2019). Cette étude recommande également la réalisation d'épreuves de défi avec différentes souches virulentes du virus de Newcastle (de géotypes variés) pour évaluer le degré de protection croisée offert par le vaccin nanométrique, et pour mesurer la réduction de l'excrétion virale par les voies respiratoire et digestive après le défi, un indicateur important de la capacité du vaccin à limiter la propagation de l'infection entre les oiseaux sur le terrain. Enfin, nous espérons que ces résultats et analyses constitueront un ajout qualitatif à la bibliothèque scientifique dans le domaine de l'immunité muqueuse et des vaccins nanométriques, et nous espérons qu'ils contribueront au développement de programmes de vaccination plus sûrs, plus efficaces et plus économiques dans l'industrie avicole à travers le monde, réduisant ainsi les pertes économiques et améliorant la sécurité alimentaire et la santé publique.

Conclusion et perspective

Conclusion

En conclusion, ce travail de recherche s'inscrit pleinement dans la dynamique actuelle de modernisation des stratégies prophylactiques au sein du secteur avicole, un domaine stratégique dont le rôle dans la sécurité alimentaire mondiale et la stabilité socio-économique des populations ne cesse de croître. Dans un contexte marqué par la persistance de maladies virales hautement contagieuses, notamment la maladie de Newcastle et face aux limites structurelles des protocoles vaccinaux conventionnels, caractérisés par des contraintes logistiques importantes, un stress animal non négligeable ainsi qu'une efficacité parfois insuffisante en termes d'immunité locale, notre étude s'est orientée vers le développement d'une stratégie vaccinale innovante, hautement performante, reposant sur l'administration intranasale couplée aux apports de la nanotechnologie.

Dans cette perspective, le choix du chitosane comme biopolymère fonctionnel de vectorisation s'est révélé déterminant dans la conception de cette approche. Les résultats obtenus ont permis de confirmer, de manière cohérente et reproductible, la pertinence scientifique de cette orientation, le système nanoparticulaire développé a démontré une excellente capacité d'encapsulation de l'antigène viral, assurant ainsi sa stabilité structurale et sa protection contre les dégradations enzymatiques ainsi que contre les conditions physicochimiques défavorables du microenvironnement muqueux. Par ailleurs, les propriétés cationiques intrinsèques du chitosane ont favorisé une interaction bioadhésive renforcée avec l'épithélium nasal, prolongeant significativement le temps de rétention de la formulation au niveau de la muqueuse respiratoire et optimisant ainsi les mécanismes de capture antigénique par les cellules présentatrices d'antigènes.

Au-delà de ces performances galéniques, l'un des aspects les plus importants de ce travail réside dans l'évaluation toxicologique rigoureuse de la formulation développée, élément central dans toute approche biotechnologique destinée à l'usage vétérinaire. L'analyse approfondie des biomarqueurs biochimiques n'a révélé aucune altération significative des fonctions hépatiques ou rénales, les paramètres tels que les transaminases (TGP, TGO), la phosphatase alcaline (PAL), ainsi que les marqueurs rénaux (urée, créatinine) étant restés dans les intervalles physiologiques normaux chez l'ensemble des sujets traités. Ces résultats confirment non seulement l'absence de toxicité systémique, mais également la bonne biocompatibilité de la plateforme nanovaccinale, suggérant une innocuité satisfaisante même en cas d'exposition prolongée.

Sur le plan immunologique, les analyses sérologiques réalisées par la technique ELISA ont mis en évidence une réponse immunitaire robuste et cinétiquement bien structurée. La

formulation intranasale à base de chitosane a permis d'induire une réponse humorale systémique comparable à celle des vaccins administrés par voie injectable, tout en présentant un avantage déterminant en matière d'immunité locale. En effet, la stimulation de l'immunité muqueuse constitue un élément clé dans la lutte contre les infections respiratoires, puisqu'elle permet une neutralisation précoce du pathogène au niveau de sa porte d'entrée, limitant ainsi sa réplication, sa dissémination et son excrétion dans l'environnement avicole. Cette double activation immunitaire, systémique et locale, confère à la formulation une valeur ajoutée considérable sur le plan prophylactique.

En définitive, la formulation vaccinale basée sur les nanoparticules de chitosane administrées par voie intranasale représente une avancée significative dans le domaine de la vaccination vétérinaire moderne. Elle s'inscrit dans une logique d'innovation intégrative conciliant efficacité immunologique, sécurité toxicologique et praticité d'application sur le terrain. Cette approche ouvre également la voie à de nouvelles perspectives de recherche, notamment l'optimisation des systèmes de vectorisation mucoadhésifs, l'exploration d'autres antigènes viraux d'intérêt aviaire, ainsi que l'évaluation à long terme de la mémoire immunitaire induite, dans une optique d'amélioration continue des stratégies de contrôle sanitaire en élevage intensif.

Bibliographical references

Bibliographical references

(www.d-map.com, 2025)

)<https://dz.maptons.com/440862/>(

. Diniz, M. O., et al. (2022). Airway-resident T cells from unexposed individuals crossrecognize SARS-CoV-2. *Nature Immunology*, 23, 1324–1329. <https://doi.org/10.1038/s41590022-01292-1>

. Lei, H., et al. (2024). Intranasal delivery of a subunit protein vaccine provides protective immunity against JN.1 and XBB-lineage variants. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9, 311. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-02025-6>

. Li, M., et al. (2020). Mucosal vaccines: strategies and challenges. *Immunology Letters*,

217, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2019.10.013>

. Nelson, C. E., et al. (2024). IL-10 suppresses T cell expansion while promoting tissue-resident memory cell formation during SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques. *PloS Pathogens*, 20, e1012339. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012339>

. Zhao, K., Xie, Y., Lin, X., & Xu, W. (2022). The mucoadhesive nanoparticle-based delivery system in the development of mucosal vaccines. *International Journal of Nanomedicine*, 17, 4579–4598. <https://doi.org/10.2147/ijn.S359118>

10. Honda, T., et al. (2024). Intranasally inoculated SARS-CoV-2 spike protein combined with mucoadhesive polymer induces broad and long-lasting immunity. *Vaccines*, 12. <https://doi.org/10.3390/vaccines12070794>

Abdelsadig, A. A., Khair, S. A. M., Mohamed, A. B., & Nour, T. A. M. (2021). Immunogenicity and efficacy study on Newcastle disease vaccine using many adjuvants and chitosan nanoparticles. *Animal and Veterinary Sciences*, 9(3), 56-64.

Abdelsadig, A. A., Khair, S. A. M., Mohamed, A. B., & Nour, T. A. M. (2021). Immunogenicity and efficacy study on Newcastle disease vaccine using many adjuvants and chitosan nanoparticles. *Animal and Veterinary Sciences*, 9(3), 56-64.

Afanador, G., & Roberts, J. R. (1994). Effect of nephropathogenic infectious bronchitis viruses on renal function in young male broiler chickens. *British Poultry Science*, 35(3), 445–456. <https://doi.org/10.1080/00071669408417709>

Afanador, G., & Roberts, J. R. (1994). Effect of nephropathogenic infectious bronchitis viruses on renal function in young male broiler chickens. *British Poultry Science*, 35(3), 445-456.

- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., & Smith, M. (1998). *Crop evapotranspiration - Guidelines for computing crop water requirements*. FAO Irrigation and Drainage Paper No.56
- Amari, et al.)2020(. Normes des températures selon l'âge des volailles. [Référence citée dans le texte]
- Amorij, J. P., Kersten, G. F., Saluja, V., Tonnis, W. F., Hinrichs, W. L., Slutter, B., & Jiskoot, W. (2012). Towards tailored vaccine delivery: needs, challenges and perspectives. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 363-376.
- Animagora.)s. d.(. Ventilation mécanique en élevage avicole. Récupéré de [/https://www.animagora.fr](https://www.animagora.fr)
- Anonymous. (2017). By reverse genetics: The example of rescuing Newcastle Disease Virus. *Virology*, 509, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.05.020>
- Bendjouad (2023). *Estimating the Agricultural Production Function in the State of Mila*. Finance and Business Economics Review
- Bensalem, N., & Sedrati, C. (2021). La vaccination : Principes théoriques et outils pratiques. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Bergmeyer, H. U.)1978(. Méthode de dosage de l'ALT)ALAT/TGP(. [Conforme aux .[recommandations de l'IFCC]
- Branfield, S., Washington, A. V., & Manfredi, B.)2024(. Affordable method for hematocrit determination in murine models. *Current Protocols*, 4, e1018. <https://doi.org/10.1002/cpz1.1018>
- Calnek, B. W. (2001). Pathogenesis of Marek's disease virus infection. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 255, 25–55.
- .Carré.)1953(. Calcul du rendement d'extraction. [Référence citée dans le texte]
- Chapon, C. (2024). COVID-19 : vaccination par voie nasale [Thèse de doctorat]. Université Caen Normandie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques. <https://dumas.cesd.cnrs.fr/dumas-04938584v1>
- Chen, M., Yang, J., Saif, M., & Li, Y. (2009). Artificial neural network-based fault diagnosis methods: A review. In *Fault Tolerant Flight Control* (pp. 23–45). Springer.
- Coudert, P., & Donas, É. (2012). Connaître les maladies infectieuses des volailles (première partie). *Actualités Pharmaceutiques*, n° 518, 47–50
- Ezdiyadi, M., Abolfathi, A. A., Hoshyari, A., Jafari-Sales, A., & Farhadi, F. (2020). The study of some hematologic and biochemical parameters in chickens vaccinated with inactivated dual Newcastle-Influenza vaccine. *Turkish Journal of Veterinary Research*, 4(1), 17–22.
- GraphPad.)2022(. Ultimate guide to ANOVA. GraphPad Software.

<https://www.graphpad.com/guides/the-ultimate-guide-to-anova>

Henry, J. B.)1960(. Méthode de dosage de l'AST)ASAT/TGO(. [Conforme aux
. [recommandations de l'IFCC

Hubbard Breeders.)s. d.(. Guide de protection sanitaire et de vide sanitaire en élevage
avicole. Récupéré de www.hubbardbreeders.com

Jin, Z., Gao, S., Cui, X., Sun, D., & Zhao, K. (2019). Adjuvants and delivery systems
based on polymeric nanoparticles for mucosal vaccines. *International Journal of Pharmaceutics*,
572, 118731.

Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L.)2008(. *Clinical Biochemistry of Domestic
. Animals*)6th ed.(. Academic Press

Kang, H., Yan, M., Yu, Q., & Yang, Q. (2013). Characteristics of nasal-associated
lymphoid tissue (NALT) and nasal absorption capacity in chicken. *PLoS One*, 8(12), e84097.

Krutzik, S. R., Sieling, P. A., & Modlin, R. L. (2001). The role of Toll-like receptors in
host defense against microbial infection. *Current Opinion in Immunology*, 13, 104–108.

Kumar, et al.)2017(. Extraction et désacétylation du chitosane à partir des carapaces de
. crustacés. [Référence citée dans le texte]

Li, H., Zhang, Y., Liu, Y., & Wang, Y.)2024(. Age-related changes in hematological and
biochemical profiles of Wistar rats. *Laboratory Animal Research*, 40, Article 194.
<https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7>

Li, Z., Ingrande, J., & Ahrens, K.)2025(. Best practices for blood collection and
anaesthesia in mice and rats. *British Journal of Pharmacology*.
<https://doi.org/10.1111/bph.70029>

Lucius, K.)2023(. Novel and emerging markers of chronic or low-grade inflammation.
Journal of Interferon & Cytokine Research. <https://doi.org/10.1089/ict.2023.29075.klu>

McPherson, M. C., & Delany, M. E. (2016). Virus and host genomic, molecular, and
cellular interactions during Marek's disease pathogenesis and oncogenesis. *Poultry Science*,
95(2), 412–429. <https://doi.org/10.3382/ps/pew379>

Metri, S., Rasamallu, R., Mathew, C., Mudunuri, G. R., & Mohammad, S.)2025(.
Comprehensive review on biomarkers in hepatotoxicity: From conventional indicators to
.)3(omics-driven discoveries. *Biotechnology Research Asia*, 22

Metri, S., Rasamallu, R., Mathew, C., Mudunuri, G. R., & Mohammad, S. (2025).
Comprehensive review on biomarkers in hepatotoxicity: From conventional indicators to
omics-driven discoveries. *Biotechnology Research Asia*, 22(3).

Mohammadi, A. R., Zamani Moghaddam, A., & Shahsavandi, S.)2021(. Encapsulation of inactivated Newcastle disease virus onto the chitosan nanoparticles for use in mucosal immunity. Iranian Journal of Virology, 15(1), 32-39.

Mohammadi, A. R., Zamani Moghaddam, A., & Shahsavandi, S. (2021). Encapsulation of inactivated Newcastle disease virus onto the chitosan nanoparticles for use in mucosal immunity. Iranian Journal of Virology, 15(1), 32-39.

Mohan, et al.)2022(. Protocole de désacétylation du chitosane. [Référence citée dans le texte]

National Center for Biotechnology Information.)2026(. Serum alkaline phosphatase: Clinical and laboratory perspectives. NCBI Bookshelf.
[/https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459201](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459201)

National Center for Biotechnology Information. (2026). Serum alkaline phosphatase: Clinical and laboratory perspectives. NCBI Bookshelf.

Ouaret & Drias (2020). *Problematic and Risks of Agricultural Activity in Fragile Environments*. Bulgarian Journal of Soil Science.

Raut, S., Chopra, B. S., & Khatri, N.)2023(. Haematological profile of various inbred strains of mice maintained at IMTech Centre for Animal Resources and Experimentation (iCARE). Toxicology International, 30, 651–657

Raut, S., Chopra, B. S., & Khatri, N. (2023). Haematological profile of various inbred strains of mice maintained at IMTech Centre for Animal Resources and Experimentation (iCARE). Toxicology International, 30, 651-657.

Rauw, F., Gardin, Y., Palya, V., Anbari, S., Gonze, M., Lemaire, S., van den Berg, T., & Lambrecht, B. (2010). The positive adjuvant effect of chitosan on antigen-specific cell-mediated immunity after chickens vaccination with live Newcastle disease vaccine. Veterinary Immunology and Immunopathology, 134(3-4), 249-258.

Rosalki, S. B.)1993(. Méthode cinétique de dosage de la phosphatase alcaline)PAL(. [Méthode DGKC]

Rusul Saleem Abd.)2025(. Enhancing the immune response of broilers using Newcastle disease vaccine-chitosan nanoparticles. South Asian Research Journal of Biology and Applied Biosciences, 7(3), 190-196.

Rusul Saleem Abd. (2025). Enhancing the immune response of broilers using Newcastle disease vaccine-chitosan nanoparticles. South Asian Research Journal of Biology and Applied Biosciences, 7(3), 190-196.

Shiri, J., & Kisi, O. (2011). Comparison of genetic programming with neuro-fuzzy systems for modeling pan evaporation. *Hydrological Sciences Journal*, 56(5), 903–917.

Silva-Santana, G., Bax, J. C., Fernandes, D. C. S., Bacellar, D. T. L., Hooper, C., Dias, A. A. S. O., Silva, C. B., de Souza, A. M., Ramos, S. B., Santos, R. A., Pinto, T. R., Assis, M. A. P., & de Almeida, M. A. O. (2020). Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 Mus musculus. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(4), 304–315. <https://doi.org/10.1002/ame2.12128>

Silva-Santana, G., et al. (2020). Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6 and B6D2F1 Mus musculus. *Animal Models and Experimental Medicine*, 3(4), 304-315.

Specht, D. F. (1991). A general regression neural network. *IEEE Transactions on Neural Networks*, 2(6), 568–576.

.Sun, et al. (2017). Structure et propriétés du chitosane. [Référence citée dans le texte]

The data presented in this section was gathered from reports issued by the National Agency for Water Resources (ANRH) in Algeria, as well as local studies on water management in the Mila region. For further details, refer to the agency's annual report (2022).

Traore, S., Kerh, T., Lin, Y. H., & Lu, M. H. (2010). Artificial neural network for modeling reference evapotranspiration complex process in arid regions. *International Journal of Biometeorology*, 54(1), 23–32.

Tsocanakis, A. (2023). Investigation du système immunitaire chez les oiseaux sauvages [Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)]. HAL. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04299746v1>

Van der Ley, P., & Schijns, V. E. (2023). Outer membrane vesicle-based intranasal vaccines. *Current Opinion in Immunology*, 84, 102376. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2023.102376>

Wang, X., Zhou, Q., Shen, J., Yao, J., & Yang, X. (2015). Effect of difference doses of Newcastle disease vaccine immunization on growth performance, plasma variables and immune response of broilers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6, 20. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0019-y>

Wang, X., Zhou, Q., Shen, J., Yao, J., & Yang, X. (2015). Effect of difference doses of Newcastle disease vaccine immunization on growth performance, plasma variables and immune response of broilers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 6, 20.

WeatherSpark. (n.d.). *Average Weather in Mila, Algeria Year Round*.

Website: <http://www.climate.gov>.

Zhao, K., Chen, G., Shi, X. M., Gao, T. T., Li, W., Zhao, Y., Zhang, F. Q., Wu, J., Cui, X., & Wang, Y. F. (2012). Preparation and efficacy of a live Newcastle disease virus vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles. *PLoS One*, 7(12), e53314.

Zhao, K., Li, S., Li, W., Yu, L., Duan, X., Han, J., & Jin, Z. (2017). Quaternized chitosan nanoparticles loaded with the combined attenuated live vaccine against Newcastle disease and infectious bronchitis elicit immune response in chicken after intranasal administration. *Drug Delivery*, 24(1), 1574-1586.

Zhao, K., Zhang, Y., Zhang, X., Li, W., Shi, C., Guo, C., Dai, C., Chen, Q., Jin, Z., Zhao, Y., Cui, H., & Wang, Y. (2014). Preparation and efficacy of Newcastle disease virus DNA vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 389402.

Annexes

Pour tous les types d'échantillons :

4. Préparer le Conjugué 1X en diluant Conjugué concentré 10X au 1/10^{ème} en Tampon de dilution 3.
5. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au moins 300 µL de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
6. Distribuer 100 µL de Conjugué 1X dans chaque puits.
7. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante (21°C ± 5°C).
8. Vider les puits. Laver 3 fois chaque puits avec au moins 300 µL de Solution de lavage 1X. Eviter le dessèchement des puits entre les lavages.
9. Distribuer 100 µL de Solution de révélation dans chaque puits.
10. Couvrir la plaque et incuber 15 min (± 2 min) à température ambiante (21°C ± 5°C) à l'obscurité.
11. Distribuer 100 µL de Solution d'arrêt dans chaque cupule, dans le même ordre qu'en étape 9, pour arrêter la réaction.
12. Mesurer et enregistrer les densités optiques à 450 nm.

Validation

Le test est validé si :

- ✓ la valeur moyenne des densités optiques du Contrôle Positif (D_{CP}) est supérieure à 0,250.

$$D_{CP} > 0,250$$

- ✓ le rapport entre les valeurs de D.O. moyennes du Contrôle Positif (D_{CP}) et du Contrôle Négatif (D_{CN}) est supérieur à 3.

$$D_{CP} / D_{CN} > 3$$

Interprétation

Pour chaque échantillon, calculer le S/P et le titre en anticorps :

Calcul du rapport S/P

$$S/P = \frac{D_{\text{échantillon}} - D_{CN}}{D_{CP} - D_{CN}}$$

Calcul du titre en anticorps

$$\log_{10}(\text{titre}) = 1,00 \times \log_{10}(S/P) + 3,520$$

$$\text{titre} = 10^{\log_{10}(\text{titre})}$$

Les résultats sont interprétés de la façon suivante :

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire Newcastle
S/P ≤ 0,3	TITRE ≤ 993	Négatif
S/P > 0,3	TITRE > 993	Positif

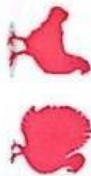
Note : Le logiciel de traitement de données ID Soft™ est disponible gratuitement. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.software@innovative-diagnostics.com

Ce logiciel permet de calculer les différents paramètres du kit (critères de validation, valeurs S/P, titres, détermination de l'âge de la vaccination, groupes) et propose une synthèse graphique des profils sérologiques des lots de volailles ainsi testés.

ID.vet

Système de management certifié
afn
ISO 9001

ID Screen® Newcastle Disease Indirect Conventional Vaccines



ELISA indirect pour la détection des anticorps dirigés

contre le virus de la Maladie de Newcastle

dans le sérum, plasma ou jaune d'œuf de poulet ou de dinde traité par vaccins conventionnels (atténués ou tués).

Usage *in vitro*

Février 2024

» Protocole pour les échantillons de jaune d'œuf maintenant inclus dans l'encart (auparavant fourni séparément)

NDVS-CV ver 0416 FR

0013273

Innovative Diagnostics, 310, rue Louis Pasteur – Grabels – FRANCE
Tel : + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : + 33 (0)4 67 45 36 95
www.innovative-diagnostics.com - E-mail : info@innovative-diagnostics.com

Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de Newcastle (NDV).

Il permet d'évaluer la quantité d'anticorps spécifiques présents dans les sérums, plasmas ou jaunes d'œuf de poulet ou de dinde.

Ce test peut être utilisé pour faire un suivi de vaccination par vaccins conventionnels (atténués ou tués).

Pour une utilisation dans d'autres espèces, veuillez nous contacter.

Description et principe

Les puits sont sensibilisés avec l'antigène NDV purifié. Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques de NDV, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poulet marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-NDV, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la Solution de révélation (TMB) est ajoutée.

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la Solution de révélation.
- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec l'antigène NDV purifié
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Conjugué concentré (10X)
Tampon de dilution 3
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

1. Le Conjugué, les Contrôles, et la Solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre $+2^\circ\text{C}$ et $+26^\circ\text{C}$.
3. Pour plus de détails sur les conditions de conservation des composants ouverts et/ou dilués, veuillez consulter www.innovative-diagnostics.com/fr/conditions-de-conservation.
4. Les Solutions de lavage concentrée et d'arrêt peuvent être utilisées dans l'ensemble de la gamme IDvet. Les Solutions de révélation et les Tampons de dilution portant les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 μL , 10 μL , 100 μL et 500 μL .
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Microplaque de pré-dilution format 96 puits
4. Eau distillée ou déionisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.
6. Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. Contient des composants pouvant être nocifs pour la peau et les yeux et pouvant entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le

contact avec la peau et les yeux. Utiliser une blouse de laboratoire protectrice, des gants à usage unique et des lunettes de sécurité. La Solution d'arrêt (acide 0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion.

3. Ne pas exposer la Solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
4. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Éliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Pour plus d'informations, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité, disponible sur demande à l'adresse info@innovative-diagnostics.com.

Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la Solution de lavage (1X) par dilution de la Solution de lavage concentrée (20X) dans de l'eau distillée/déionisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les cupules soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode, type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le Guide de Lavage IDvet, disponible sur demande.

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou en vortexant.

Les contrôles négatif et positif sont fournis prêt à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses. Les échantillons quant à eux, sont analysés à une dilution finale au $1/1500^{\text{ème}}$.

Pour les échantillons de sérum ou de plasma (pré-dilution au $1/50^{\text{ème}}$), suivre d'une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ dans la microplaque ELISA.

1. Dans une microplaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 μL de l'échantillon à analyser.
 - 245 μL de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, A, L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puit.

2. Dans la microplaque ELISA, ajouter :
 - 100 μL du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 μL du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 90 μL de Tampon de dilution 14 autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
 - 10 μL de chacun des échantillons pré-dilués tels que préparés ci-dessus.

3. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$).

Pour les échantillons de jaune d'œuf (pré-dilution au $1/5^{\text{ème}}$ et $1/50^{\text{ème}}$), suivre d'une dilution au $1/2$ dans la microplaque ELISA.

1. a) Pré-diluer les échantillons comme suit :
 - Mélanger 80 μL de Solution de lavage 1X avec 20 μL de jaune d'œuf.
 - Bien mélanger avant de tester par inversion ou en vortexant.

Note : Ces échantillons de jaune d'œuf dilués au $1/5^{\text{ème}}$ peuvent être stockés à -20°C pour des tests ultérieurs. Pas plus de 3 cycles de congélation-décongélation.

- b) Dans une microplaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 μL de chaque échantillon à tester.
 - 245 μL de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, A, L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : Il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puit.

2. Dans la microplaque ELISA, ajouter :
 - 100 μL du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 μL du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 50 μL de Tampon de dilution 14 dans autant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits de contrôle A1, B1, C1 et D1).
 - 50 μL de chacun des échantillons pré-dilués tels que préparés ci-dessus.

Avertissement : S'assurer que le mélange 50 + 50 μL est homogène pour éviter une augmentation du bruit de fond qui pourrait générer des résultats faussement positifs. En cas de doute, il est possible de réaliser le mélange dans des tubes en dehors de la plaque, puis de le vortexer avant d'ajouter les 100 μL dans la microplaque ELISA.

3. Couvrir la plaque et incuber 30 min ± 3 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

• Hémobiologie • Immunologie • Hormonologie • Biochimie • Microbiologie

NID : 2026524-001858

Patient (e) : TEST V1
Né (e) le : 22-5-2026 Age : 1 jour
Prélèvement du : 24/05/2026 08:57:50

24/05/2026 10:00:55
Carte d'identité N: 



Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécéd
UREE SANGUINE (Mindray Bs-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT(GOT) (Mindray Bs-240R)	<u>449.61</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) (Mindray Bs-240 PRO)	4.52	U/L	<45.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mindray Bs-240R)	72.75	mg/L	36.00 - 82.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Mindray Bs-240 PRO)	<u>16 508.25</u>	U/L	48.00 - 406.00	



Information générale

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de Newcastle (NDV).

Il permet d'évaluer la quantité d'anticorps spécifiques présents dans les sérums, plasmas ou jaunes d'œuf de poulet ou de dinde.

Ce test peut être utilisé pour faire un suivi de vaccination par vaccins conventionnels (atténués ou tués).

Pour une utilisation dans d'autres espèces, veuillez nous contacter.

Description et principe

Les puits sont sensibilisés avec l'antigène NDV purifié. Les échantillons à tester et les contrôles sont distribués dans les puits. Les anticorps spécifiques de NDV, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-poulet marqué à la peroxydase (HRP) est distribué dans les puits. Il se fixe aux anticorps anti-NDV, formant un complexe antigène-anticorps-conjugué-HRP.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la Solution de révélation (TMB) est ajoutée.

La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester.

- en présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après ajout de la Solution de révélation.

- en l'absence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

La lecture est réalisée à 450 nm.

Composants du kit

Réactifs*
Microplaques sensibilisées avec l'antigène NDV purifié
Contrôle Positif
Contrôle Négatif
Tampon de dilution 14
Conjugué concentré (10X)
Tampon de dilution 3
Solution de lavage concentrée (20X)
Solution de révélation
Solution d'arrêt (0,5 M)

* La composition du kit est indiquée sur l'étiquette de dessus de kit.

1. Le Conjugué, les Contrôles, et la Solution de révélation doivent être stockés à 5°C ($\pm 3^\circ\text{C}$).
2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.
3. Pour plus de détails sur les conditions de conservation des composants ouverts et/ou dilués, veuillez consulter www.innovative-diagnostics.com/fr/conditions-de-conservation.
4. Les Solutions de lavage concentrée et d'arrêt peuvent être utilisées dans l'ensemble de la gamme IDvet. Les Solutions de révélation et les Tampons de dilution portant les mêmes numéros de lot sont interchangeables.

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Pipettes de précision mono ou multi-canaux capables de délivrer des volumes de 5 μL , 10 μL , 100 μL et 500 μL .
2. Embouts de pipette à usage unique.
3. Microplaque de pré-dilution format 96 puits.
4. Eau distillée ou déminéralisée.
5. Système de lavage manuel ou automatique.
6. Lecteur de microplaques à 96 puits.

Remarques et précautions d'emploi

1. Ne pas pipeter à la bouche.
2. Contient des composants pouvant être nocifs pour la peau et les yeux et pouvant entraîner une sensibilisation par contact avec la peau. Éviter le

contact avec la peau et les yeux. Utiliser une blouse de laboratoire protectrice, des gants à usage unique et des lunettes de sécurité. La Solution d'arrêt (acide 0,5 M) peut être nocive en cas d'ingestion.

3. Ne pas exposer la Solution de révélation à une lumière vive ni à des agents oxydants.
4. Tous les réactifs doivent être décontaminés avant élimination. Éliminer les produits conformément à la réglementation en vigueur.

Pour plus d'informations, veuillez-vous référer à la fiche de données de sécurité, disponible sur demande à l'adresse info@innovative-diagnostics.com.

Préparation de la Solution de lavage

Si nécessaire, ramener la Solution de lavage concentrée (20X) à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.

Préparer la Solution de lavage (1X) par dilution de la Solution de lavage concentrée (20X) dans de l'eau distillée/déminéralisée.

La qualité de l'étape de lavage peut impacter les résultats. S'assurer que les cupules soient complètement vides entre les lavages. En cas d'utilisation d'un laveur automatique, il est crucial de paramétrer correctement l'appareil (mode Type et hauteur d'aspiration). Pour plus d'information, veuillez consulter le "Guide de Lavage IDvet", disponible sur demande.

Mode opératoire

Ramener tous les réactifs à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou en vortexant.

Les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi. NE PAS ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles A1, B1, C1 et D1 – les contrôles ne doivent pas être dilués pour les analyses. Les échantillons quant à eux, sont analysés à une dilution finale au $1/500^{\text{ème}}$.

Pour les échantillons de sérum ou de plasma (pré-dilution au $1/50^{\text{ème}}$, suivre d'une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ dans la microplaque ELISA).

1. Dans une microplaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1 et ajouter :
 - 5 μL de l'échantillon à analyser.
 - 245 μL de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, A1, EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : Il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puit.

2. Dans la microplaque ELISA, ajouter :
 - 100 μL du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
 - 100 μL du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 90 μL de Tampon de dilution 14 avant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits contrôles A1, B1, C1 et D1).
 - 10 μL de chacun des échantillons pré-dilués tels que préparés ci-dessus.

3. Couvrir la plaque et incuber 30 minutes (± 3 min) à température ambiante ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$).

Pour les échantillons de jaune d'œuf (pré-dilution au $1/5^{\text{ème}}$ et $1/50^{\text{ème}}$, suivre d'une dilution au 1/2 dans la microplaque ELISA).

1. a) Pré-diluer les échantillons comme suit :
 - Mélanger 80 μL de Solution de lavage 1X avec 20 μL de jaune d'œuf.
 - Bien mélanger avant de tester par inversion ou en vortexant.

Note : Ces échantillons de jaune d'œuf dilués au $1/5^{\text{ème}}$ peuvent être stockés à -20°C pour des tests ultérieurs. Pas plus de 3 cycles de congélation-décongélation.

1. b) Dans une microplaque de pré-dilution, réserver les puits A1, B1, C1 et D1, et ajouter :
 - 5 μL de chaque échantillon à tester.
 - 245 μL de Tampon de dilution 14 dans chacun des puits, A L'EXCEPTION des puits A1, B1, C1 et D1.

Note : Il est recommandé de respecter l'ordre indiqué du dépôt afin de visualiser l'ajout des échantillons dans chaque puit.

2. Dans la microplaque ELISA, ajouter :
 - 100 μL du Contrôle Négatif dans les puits A1 et B1
 - 100 μL du Contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
 - 50 μL de Tampon de dilution 14 dans avant de puits qu'il y a d'échantillons à analyser (SAUF dans les puits de contrôle A1, B1, C1 et D1).
 - 50 μL de chacun des échantillons pré-dilués tels que préparés ci-dessus.

Avertissement : S'assurer que le mélange 50 + 50 μL est homogène pour éviter une augmentation du bruit de fond qui pourrait générer des résultats faussement positifs. En cas de doute, il est possible de réaliser le mélange dans des tubes en dehors de la plaque, puis de le vortexer avant d'ajouter les 100 μL dans la microplaque ELISA.

3. Couvrir la plaque et incuber 30 min ± 3 min à 21°C ($\pm 5^\circ\text{C}$).

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

NID : 2026519-001570

• Hémobiologie • Immunologie • Hormonologie • Biochimie • Microbiologie •

20/05/2026 09:16:56
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST VK+
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:18:46

Immuno-hématologie				
	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
Immuno-hématologie				
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S)				
Première heure	0	mm	<10	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

NID : 2026524-001861

• Hémobiologie • Immunologie • Hormonologie • Biochimie • Microbiologie •

24/05/2026 09:53:58
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST K⁺
Né (e) le : 24-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 24/05/2026 09:02:33

Biochimie sanguine				
	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
* UREE SANGUINE (Mindray Bx-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT(GOT) (Mindray Bx-240P)	<u>873.93</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) (Mindray Bx-240 PRO)	4.16	U/L	<45.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mindray Bx-240P)	70.52	mg/L	36.00 - 82.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Mindray Bx-240 PRO)	<u>7 198.68</u>	U/L	48.00 - 406.00	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026519-001569

Patient (e) : TEST VK
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:18:14

19/05/2026 18:33:50
Carte d'identité N:

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS) (Méthode BC-720)				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	22.7	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	2.57	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	8.1	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	29.1	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	112.9	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	31.4	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.10	%		
Plaquettes	3	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	

032 12 43 34
0668 89 45 33
harzoulimohammed@gmail.com

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية

Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, NID 2026519-001569



19/05/2026 18:33:50
Carte d'identité N:



Patient (e) : TEST VK
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:18:14



Immuno-hématologie				
	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
Immuno-hématologie				
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S)				
Première heure	0	mm	<10	
Biochimie sanguine				
	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
BILIRUBINE TOTALE (Mendray-Enzym modifiée)	5.82	mg/L	<10.00	
* UREE SANGUINE (Mendray Bs-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
* ASAT(GOT) (Mendray Bs-240)	<u>379.01</u>	U/L	<35.00	
* ALAT (GPT) (Mendray Bs-240 PRO)	3.80	U/L	<45.00	
BILIRUBINE DIRECT (Mendray Bs-240 PRO)	0.38	mg/L	<4.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mendray Bs-240)	52.14	mg/L	36.00 - 82.00	
Gamma Glutamyl Transférase (Enzyme sérique) (Mendray Bs-240 PRO)	26.36	U/L	0.00 - 55.00	
* PHOSPHATASES ALCALINES (Mendray Bs-240 PRO)	<u>2 094.89</u>	U/L	48.00 - 406.00	



مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية

Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiochimie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

20/05/2026 09:16:56
Carte d'identité N:

NID : 2026519-001570

Patient (e) : TEST VK+

Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours

Prélèvement du : 19/05/2026 12:18:46

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
<i>(Monday 16-7-20)</i>				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	32.4	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	2.64	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	9.2	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	33.1	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	125.4	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	34.9	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.09	%		
Plaquettes	0	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

•Hémobiologie •Immunologie •Hormonologie •Biochimie •Microbiologie

NID : 2026524-001858

Patient (e) : TEST V1
Né (e) le : 22-5-2026 Age : 1 jour
Prélèvement du : 24/05/2026 08:57:50

24/05/2026 10:00:55
Carte d'identité N:

Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécéd
UREE SANGUINE (Minibay Bx-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT(GOT) (Minibay Bx-240)	<u>449.61</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) (Minibay Bx-240 PRO)	4.52	U/L	<45.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Minibay Bx-240)	72.75	mg/L	36.00 - 82.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Minibay Bx-240 PRO)	<u>16 508.25</u>	U/L	48.00 - 406.00	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
3.34

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiochimie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026519-001567

20/05/2026 09:17:36
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST V3
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:17:16

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS) (Mindray BC-720)				
Globules blancs	8.8	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	1.81	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	6.2	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	23.5	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	130.0	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	34.3	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.09	%		
Plaquettes	3	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	

1/2

032 12 43 34
0668 89 45 33
harzoulimohammed@gmail.com

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, NID: 2026519-001567

20/05/2026 09:17:36
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST V3
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:17:16

Immuno-hématologie

Immuno-hématologie	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S) Première heure	0	mm	<10	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie, NID : 2026524-001860

24/05/2026 10:01:05
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST V3
Né (e) le : 24-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 24/05/2026 09:01:24

Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
URÉE SANGUINE <i>(Référence: Rx=240-730.00)</i>	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT (GOT) <i>(Référence: Rx=240-2400)</i>	<u>412.50</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) <i>(Référence: Rx=240-730.00)</i>	4.24	U/L	<45.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN <i>(Référence: Rx=240-2400)</i>	39.27	mg/L	36.00 - 82.00	
PHOSPHATASES ALCALINES <i>(Référence: Rx=240-2400)</i>	<u>4386.48</u>	U/L	48.00 - 406.00	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
الدكتور:

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiochimie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026519-001565

Patient (e) : TEST V1
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:11:54

20/05/2026 09:18:16
Carte d'identité N:

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS) (Minuterie: 30" - 20")				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	27.9	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	2.47	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	8.6	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	31.2	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	126.5	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	34.8	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.09	%		
Plaquettes	2	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	

032 12 43 34
0668 89 45 33
harzoulimohammed@gmail.com

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

20/05/2026 09:18:16
 Carte d'identité N:



Patient (e) : TEST V1
 Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
 Prélèvement du : 19/05/2026 12:11:54



Immuno-hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
Immuno-hématologie				
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S)				
Première heure	0	mm	<10	



مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026519-001566

20/05/2026 09:17:52
 Carte d'identité N:


 Patient (e) : TEST V2
 Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
 Prélèvement du : 19/05/2026 12:16:42



Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
<i>(Méthode BC™-720)</i>				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	27.5	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	2.08	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	7.7	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	27.0	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	129.7	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	36.8	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.09	%		
Plaquettes	3	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	



مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

19/05/2026 18:33:44
 Carte d'identité N: 

Patient (e) : TEST VO
 Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
 Prélèvement du : 19/05/2026 12:19:46

2026519-001572

Immuno-hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
Immuno-hématologie				
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S)				
Première heure	<u>134</u>	mm	<10	

Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
BILIRUBINE TOTALE (Molloy-Evelyn modifiée)	6.42	mg/L	<10.00	
UREE SANGUINE (Mindray Bs-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT(GOT) (Mindray Bs-240)	<u>513.20</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) (Mindray Bs-240 PRO)	3.47	U/L	<45.00	
BILIRUBINE DIRECT (Mindray Bs-240 PRO)	0.42	mg/L	<4.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mindray Bs-240)	<u>22.34</u>	mg/L	36.00 - 82.00	
Gamma Glutamyl Transférase (Enzyme sérique) (Mindray Bs-240 PRO)	16.96	U/L	0.00 - 55.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Mindray Bs-240 PRO)	<u>2 755.45</u>	U/L	48.00 - 406.00	



مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID: 2026519.001566

20/05/2026 09:17:52
 Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST V2
 Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
 Prélèvement du : 19/05/2026 12:16:42

Immuno-hématologie

Immuno-hématologie	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S) Première heure	0	mm	<10	



مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

.Hémobiologie. Immunologie. Hormonologie. Biochimie. Microbiologie. NID : 2026519-001571

20/05/2026 09:16:44
Carte d'identité N:

Patient (e) : TESTS VM
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:19:16

Immuno-hématologie

Immuno-hématologie	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S) Première heure	0	mm	<10	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

.Hémobiologie. Immunologie. Hormonologie. Biochimie. Microbiologie. NID : 2026524-001859

24/05/2026 09:53:50
Carte d'identité N:

Patient (e) : TEST VM
Né (e) le : 22-5-2026 Age : 1 jour
Prélèvement du : 24/05/2026 08:59:27

Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
UREE SANGUINE (Mondray Bx-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
ASAT(GOT) (Mondray Bx-240 P)	<u>942.02</u>	U/L	<35.00	
ALAT (GPT) (Mondray Bx-240 PRO)	4.11	U/L	<45.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mondray Bx-240 P)	<u>31.59</u>	mg/L	36.00 - 82.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Mondray Bx-240 P2)OR)	<u>4 364.53</u>	U/L	48.00 - 406.00	

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026530-002065

Patient (e) : T M
Né (e) le : 30-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 30/05/2026 09:41:52

30/05/2026 10:29:03
Carte d'identité N:

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
<i>(Nomenclature de l'OMS)</i>				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	11.0	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	4.57	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	10.8	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	35.9	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	<u>78.6</u>	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	<u>23.6</u>	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	30.1	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	73.70	%		
Plaquettes	<u>888</u>	10 ³ /uL	120 - 553	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	10.30	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	12.00	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	56.5	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	2.86	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	33.4	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	<u>1.69</u>	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	7.10	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	0.36	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	1.40	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	<u>0.07</u>	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	<u>1.6</u>	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	0.08	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	

032 12 43 34 0668 89 45 33 harzoulimohammed@gmail.com

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémobiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Virologie, Parasitologie, Cytologie

30/05/2026 10:29:03
Carte d'identité N: 

Patient (e) : T M
Né (e) le : 30-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 30/05/2026 09:41:52


Immuno-hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
Immuno-hématologie				
VITESSE DE SEDIMENTATION (V.S)				
Première heure	<u>20</u>	mm	<15	

Biochimie sanguine

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
BILIRUBINE TOTALE (Mindray-Bs-240 PRO)	7.79	mg/L	<10.00	
UREE SANGUINE (Mindray-Bs-240 PRO)	<u>0.10</u>	g/L	0.15 - 0.50	
CREATININE SANGUINE	<u>2.13</u>	mg/L	3.10 - 4.70	
ASAT (GOT) (Mindray-Bs-240 PRO)	<u>428.86</u>	U/L	<31.00	
ALAT (GPT) (Mindray-Bs-240 PRO)	<u>42.40</u>	U/L	<34.00	
ACIDE URIQUE SANGUIN (Mindray-Bs-240 PRO)	<u>155.68</u>	mg/L	23.00 - 61.00	
BILIRUBINE DIRECT (Mindray-Bs-240 PRO)	1.29	mg/L	<4.00	
Gamma Glutamyl Transférase (Enzyme sérique) (Mindray-Bs-240 PRO)	20.25	U/L	0.00 - 38.00	
PHOSPHATASES ALCALINES (Mindray-Bs-240 PRO)	<u>1 789.40</u>	U/L	75.00 - 316.00	



032 12 43 34
0668 89 45 33
harzoulimohammed@

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية

Laboratoire d'analyses médicales Ibn Roched

Hémodiologie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

NID : 2026519-001572



19/05/2026 18:33:44

Carte d'identité N:



Patient (e) : TEST VO

Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours

Prélèvement du : 19/05/2026 12:19:46



Hématologie

NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)

(Miniblog 800-120)

NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
• Globules blancs	28.5	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
• Globules rouges	2.51	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
• Hémoglobine	8.9	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	32.8	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	130.6	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	35.4	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.08	%		
Plaquettes	7	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	7.20	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	18.70	fL		

EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE

P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	



032 12 43 34

حي أول نوفمبر مقابل مستشفى الشطابن عمر الجيلاني الوادي

0668 89 45 33

harzoulmohammed@gmail.com

مخبر ابن رشد للتحاليل الطبية
Laboratoire d'analyses médicales **Ibn Roched**

Hémobiochimie, Immunologie, Hormonologie, Biochimie, Microbiologie

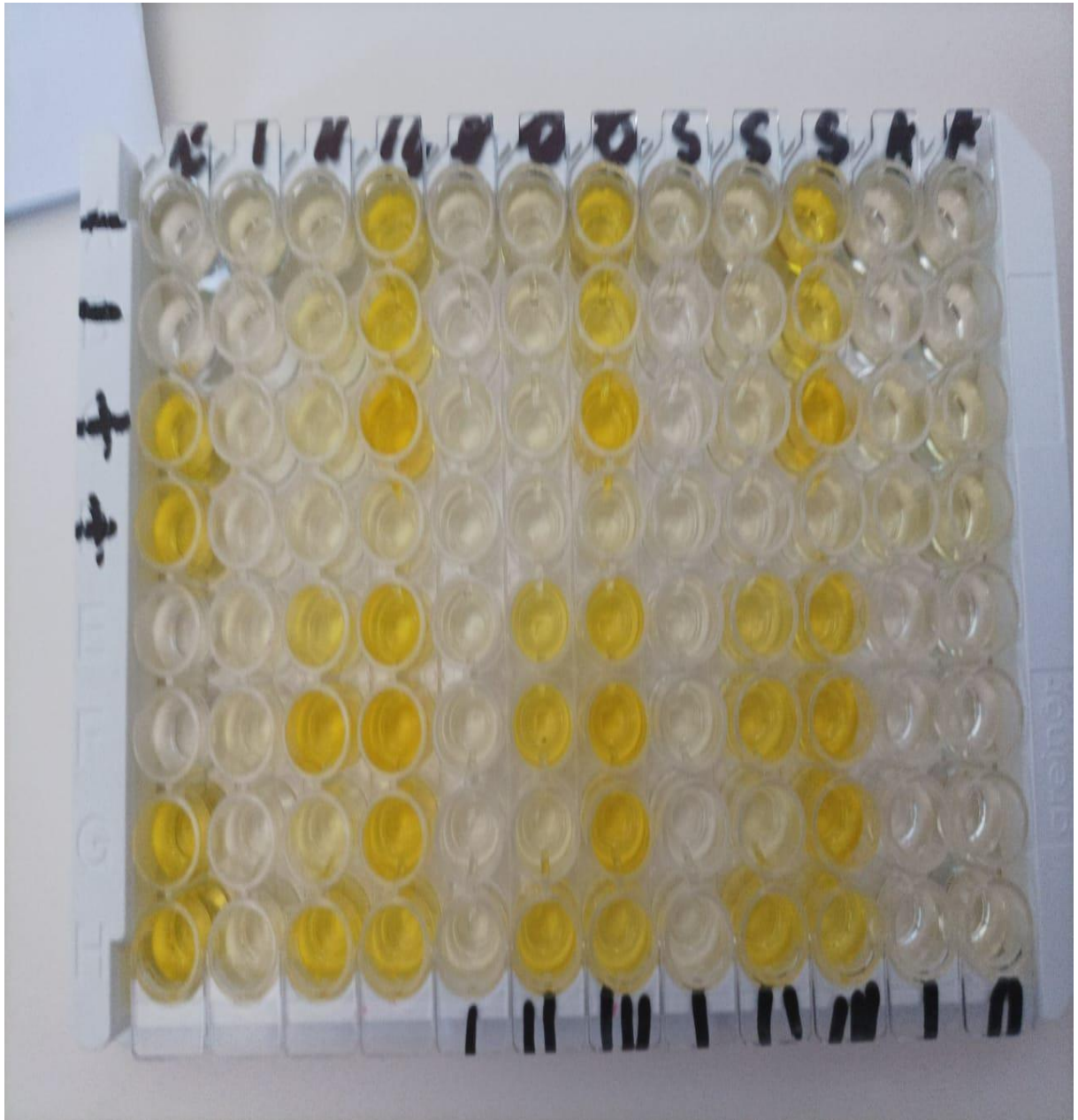
NID : 2026519-001571

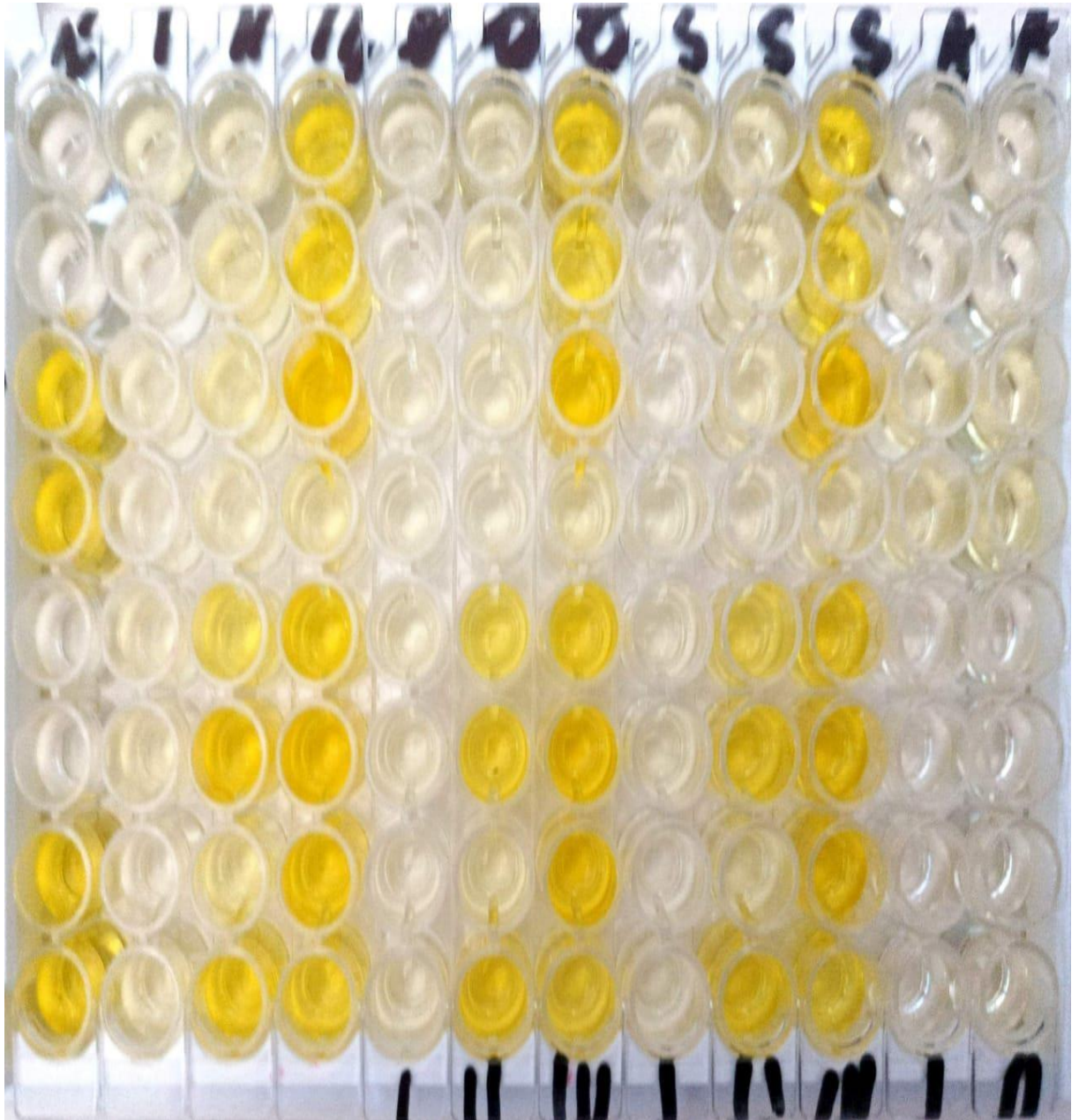
20/05/2026 09:16:44
Carte d'identité N:

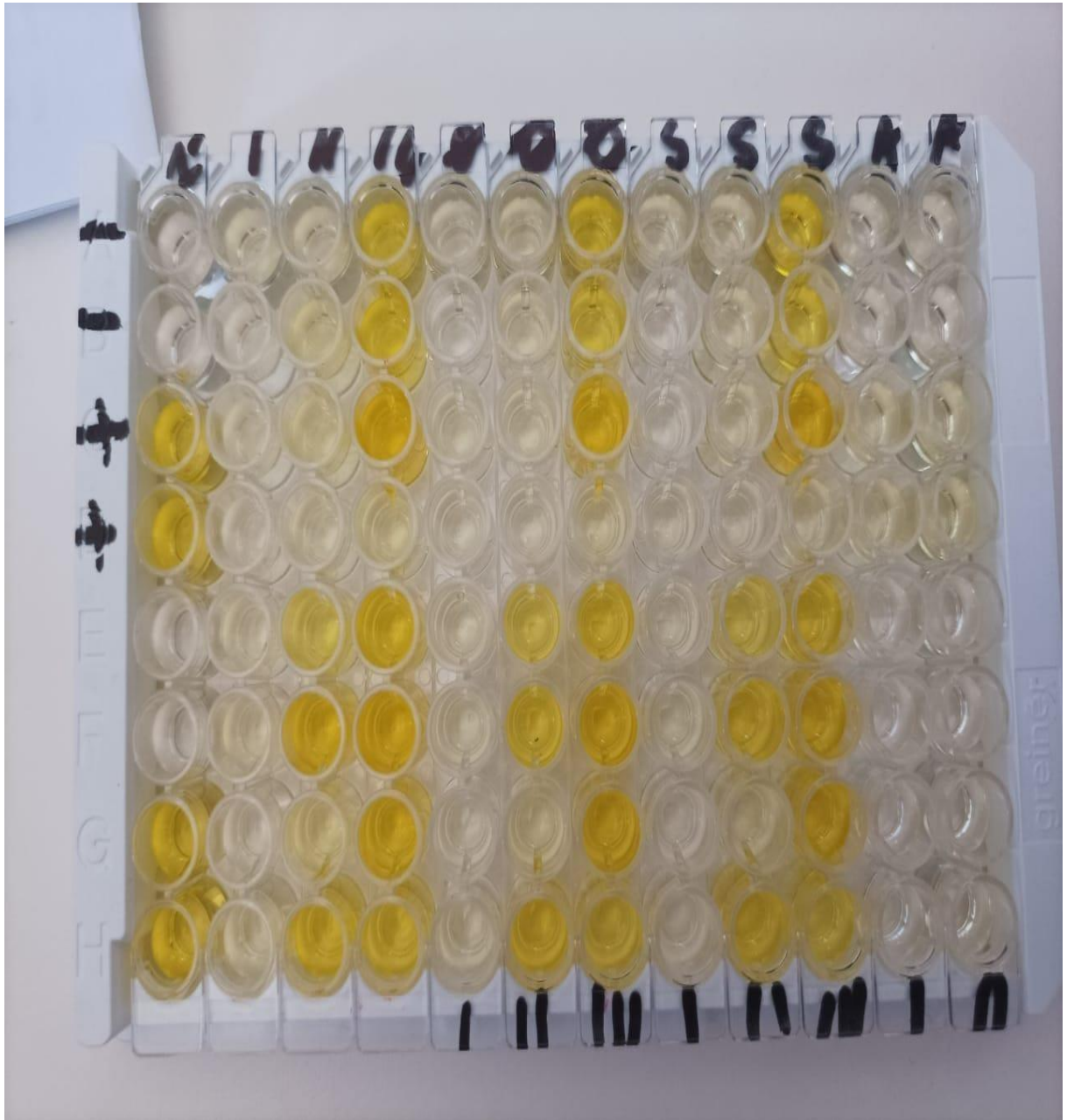
Patient (e) : TESTS VM
Né (e) le : 19-4-2026 Age : 29 jours
Prélèvement du : 19/05/2026 12:19:16

Hématologie

	Résultat	Unité	Valeurs Usuelles	Antécédents
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS) (Nfs: 20-20)				
NUMERATION-FORMULE SANGUINE (NFS)				
Globules blancs	<u>22.6</u>	10 ³ /uL	5.0 - 21.0	
Globules rouges	<u>2.58</u>	10 ⁶ /uL	3.20 - 5.20	
Hémoglobine	<u>8.2</u>	g/dL	9.0 - 16.6	
Hématocrite	31.0	%	30.0 - 54.0	
V.G.M	119.9	fL	82.0 - 126.0	
T.G.M.H	31.8	pg	26.0 - 38.0	
C.C.M.H	36.0	g/dL	25.0 - 37.0	
(RDW) Indice de distribution des GR	0.13	%		
Plaquettes	<u>3</u>	10 ³ /uL	120 - 497	
(MPV) Volume plaquettaire moyen	****	fL		
(PDW) Indice de distribution plaquettaire	****	fL		
EQUILIBRE LEUCOCYTAIRE				
P. Neutrophiles %	****	%	17.0 - 60.0	
P. Neutrophiles :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 6.50	
Lymphocytes%	****	%	20.0 - 70.0	
Lymphocytes :	****	10 ³ /mm ³	2.00 - 11.00	
Monocytes %	****	%	1.00 - 11.00	
Monocytes :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 2.00	
P. Eosinophiles %	****	%	1.00 - 5.00	
P. Eosinophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.10 - 0.60	
P. Basophiles%	****	%	0.0 - 1.0	
P. Basophiles :	****	10 ³ /mm ³	0.00 - 0.15	







	7	8	9	10	11	12
A	007 1.193	008 0.193	009 0.203	010 1.237	011 0.142	012 0.146
B	019 0.959	020 0.146	021 0.243	022 0.978	023 0.131	024 0.119
C	031 1.909	032 0.167	033 0.260	034 2.294	035 0.257	036 0.242
D	043 0.263	044 0.198	045 0.202	046 0.250	047 0.289	048 0.290
E	055 1.273	056 0.183	057 0.752	058 1.390	059 0.123	060 0.115
F	067 1.935	068 0.214	069 1.285	070 1.888	071 0.178	072 0.168
G	079 1.770	080 0.156	081 0.266	082 1.846	083 0.124	084 0.138
H	091 1.019	092 0.257	093 1.285	094 0.955	095 0.210	096 0.255

1-6<< Send Result Print Exit

	1	2	3	4	5	6
A	001 0.128	002 0.220	003 0.211	004 1.154	005 0.157	006 0.212
B	013 0.173	014 0.205	015 0.355	016 1.290	017 0.145	018 0.244
C	025 1.413	026 0.260	027 0.354	028 2.332	029 0.282	030 0.228
D	037 1.428	038 0.180	039 0.220	040 0.298	041 0.170	042 0.173
E	049 0.148	050 0.236	051 0.711	052 1.546	053 0.195	054 0.793
F	061 0.145	062 0.237	063 1.900	064 2.089	065 0.191	066 1.215
G	073 1.554	074 0.184	075 0.382	076 1.763	077 0.186	078 0.324
H	085 1.667	086 0.316	087 1.505	088 1.195	089 0.270	090 1.433

7-12>>

Send

Result

Print

Exit

	1	2	3	4	5	6
A	001 0.128	002 0.220	003 0.211	004 1.154	005 0.157	006 0.212
B	013 0.173	014 0.205	015 0.355	016 1.290	017 0.145	018 0.244
C	025 1.413	026 0.260	027 0.354	028 2.332	029 0.282	030 0.228
D	037 1.428	038 0.180	039 0.220	040 0.298	041 0.170	042 0.173
E	049 0.148	050 0.236	051 0.711	052 1.546	053 0.195	054 0.793
F	061 0.145	062 0.237	063 1.900	064 2.089	065 0.191	066 1.215
G	073 1.554	074 0.184	075 0.382	076 1.763	077 0.186	078 0.324
H	085 1.667	086 0.316	087 1.505	088 1.195	089 0.270	090 1.433

7-12>> Send Result Print Exit

