

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

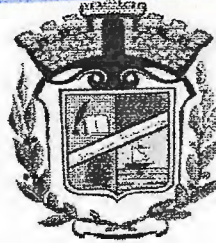
UNIVERSITE DE JIJEL

جامعة جيجل

FACULTE DES SCIENCES

Département De Biochimie Et

Microbiologie



كلية العلوم

دائرة البيوكيمياء و الميكروبيولوجيا

MB.03/05

MEMOIRE

01
01

En vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en Biologie
OPTION
Microbiologie

THEME

*L'effet modulateur de deux souches de bactéries lactiques
Lactobacillus Plantarum BJ0021
Et pédiococcus acidilactici
Sur le système immunitaire de l'espèce Gallus gallus:
Cas de la maladie du Newcastle .*

Membres du Jury :

Président : Melle. GHORAB I.
Examineur : Melle. BOUHAFIS
Encadreur : Mr. BOUDJERDA D.

Réalisé Par :

LEHTHET Hamida .
MEDJRAB Saliha .
SENINI Saida .



Promotion 2005

Chapitre II : L'immunité des volailles

II-1. le système immunitaire .	9
II-1-1. Les organes lymphoïdes.	9
II-1-1-1. Les organes lymphoïdes primaires .	9
II-1-1-2. Les organes lymphoïdes secondaires.	9
II-1-2-les cellules du système immunitaire :	11
II-1-2-1. les lymphocytes T .	11
II-1-2-2. les lymphocytes B .	11
II-1-2-3-Les macrophages :	12
II-1-2-4. Les granulocytes.	12
II-1-2-5. Les thrombocytes .	12
II-1-2-6. Les mastocytes.	12
II-1-2-7. Les cellules NK .	12
II-1-3. Les immunoglobulines.	13
II-1-3-1. les IgG .	13
II-1-3-2. Les Ig M .	13
II-1-3-3. Les IgA .	13
II-2. La protection immunitaire des volailles.	13
II-2-1. L'immunité non spécifique.	13
II-2-1-1. Les cellules phagocytaires.	13
II-2-1-2. Le complément.	13
II-2-1-3. Interféron.	13
II-2-1-4. La coquille de l'oeuf.	13
II-2-1-5. L'Albumen.	14
II-2-1-6. Température corporelle.	14
II-2-2. L'immunité spécifique.	14
II-2-2-1. L'immunité adoptive ou passive.	14
II-2-2-2. L'immunité active.	14
II-3. La défense antivirale.	14
Chapitre III : Les pathologies des volailles	
I-1. Facteurs influençant les pathologies aviaire .	16
III-1-1. Les facteurs biologiques .	16

III-1-1-1. les facteurs intrinsèques .	16
III-1-1-2. les facteurs extrinsèques .	16
III-1-2. Facteurs physiques.	17
III-1-3. Facteurs chimiques .	17
III-2. Les pathologies aviaires immunodépressives.	17
III-2-1. La maladie de Newcastle .	17
III-2-1-1. description et historique	17
III-2-1-2. Etiologie.	18
III-2-1-3. La pathogénie (Cinétique de l'infection) .	19
III-2-1-4. la contamination et la transmission de la maladie .	19
III-2-1-5. Les symptômes et les lésions.	19
III-2-1-6. Le diagnostic .	20
III-2-1-7. Le traitement .	20
III-2-1-8. La prophylaxie sanitaire et médicale .	20
III-2-1-9. L'incidence de la maladie.	21
III-2-2. Maladie de Gumboro (IBDV) .	21
III-2-3. Maladie de Marek.	22
III-2-4. Réticulo-endothéliose.	22
III-2-5. Entérite hémorragique du dindon (HEV) .	22
III-2-6. Anémie infectieuse du poulet (CAA) .	22
III-2-7. Les pasteurelloses.	22
III-2-8. Les salmonelloses.	22
III-2-9. Les colibacilloses.	22
III-2-10. Les maladies respiratoires chroniques (MRC) .	23
PARTIE EXPERIMENTAL	
II-1. But de l'expérimentation.	24
II-2. Matériels et méthodes.	24
II-2-1. Matériel.	24
II-2-1-1. Les animaux.	24
II-2-1-2. Les probiotiques et les souches bactériennes .	25
II-2-1-3. Le laits .	25
II-2-1-4. Les mangeoires.	26

II-2-1-5. Les abrévoires	26
II-2-1-6. L'aliment.	26
II-2-1-7. Le vaccins.	26
II-2-1-8. Les Milieux de culture .	26
II-2-1-9. Autres produits.	27
II-2-1-10. Autre matériels.	27
II-2-2. Méthodes.	28
II-2-2-1. Méthodes d'élevage.	28
II-2-2-2- Préparation et utilisation du probiotiques:	30
II-2-2-3. Préparation et utilisation de vaccin.	31
II-2-2-4. Le mode de prélèvement du sang.	32
II-2-2-5. L'examen microbiologique de l'intestin.	33
II-2-2-6. L'examen sérologique.	37
II-2-2-7. L'examen hématologique.	41
Résultats et discussion	
III- 1. Résultat et discussion de l'étude microbiologique.	43
III-2. Résultat et discussion de l'examen sérologique « HI » test .	45
III-3. Résultat et discussion de l'examen hématologique .	53
III-3-1. Le nombre des lymphocytes .	53
III-3-2. Le nombre des GB .	54
III-3-3. Le nombre des polynucléaires neutrophiles .	56
III-3-4. Le taux des polynucléaires Eosinophiles .	57
La discussion générale :	59
Conclusion	60
Références bibliographique	
Annexes	

Liste des abréviations

PH	Potentiel hydrogène
C°	Degré celssus
ATP	Adénosine triphosphate
E.Coli	Escherichia.Coli
Lb	Lactobacillus
Pc	Pediococcus
GB	Globules Blancs
Ag	Antigène
Ac	Anticorps
L	Litre
G/l	Gramme par litre
Kg	Kilogramme
H	Heure
min	Minute
nm	Nanomètre
ml	Millilitre
µl	Microlitre
Cm ²	Centimètre Carré
C	Cytosine
G	Guoinine
ADH	Argenine dihydrolase
LDC	Lysine décarboxylase
ODC	Ornithine décarboxylase
HI	Test d'inhibition d'hémogglutination
VP	Voges- proskauer
SFB	Bouillon Sélénite
DL	Lévogyre dextrogure
D°	Degré Dornic
Tr/min	Tour par minute

Jrs	Jours
Ser	Sérum
ARN	Acide Ribonucléique
AND	Acide disoxiribonucléique
HN	Hémagglutinine Neuraminidase
PMV ₁	Paramixovirus de type 1
Ig	Immunoglobuline
NK	Natural Killer
CODAC	Coopérative de développement de l'aviculture et de cuniculture
COHS	Contrôle officiel Hygiénique et sanitaire
MRLC	Maladies réputées légalement contagieuses

Liste des Tableaux

N°	Titre	
01	Les différents types des lymphocytes T et leurs rôle.	11
02	les différents granulocytes et leurs rôles	12
03	la répartition des poussins par lot	24
04	Les Principaux caractères de l'espèce <i>Lb.plantarum</i> BJ0021.	25
05	Les Principaux caractères de l'espèce <i>Pc. Acidilactici</i> .	25
06	composition de l'aliment source CODAC de JIJEL	26
07	Calendrier récapitulatif résumant le nombre de prélèvement concernant le dosage d'Ac anti-Newcastle.	28
08	Calendrier récapitulative résumant le nombre de prélèvement concernant l'examen hématologique.	28
09	Les tests d'identifications de deux souches bactériennes	44
10	Evaluation du taux d'anticorps en fonction de l'age du poussin	52
11	Evaluation de lymphocytes en fonction d'âge du poussin (nombre/mm ³ de sang) .	53
12	Evaluation de GB en fonction d'âge du poussin (nombre/mm ³ de sang)	55
13	Evaluation de polynucléaires neutrophiles en fonction de l'age du poussins	56
14	Evaluation de polynucléaires éosinophiles en fonction d'âge du poussin (%)	58

Liste des figures

01	les organes du système immunitaire chez le poussin	11
02	La défense anti-virale	15
03	coupe schématique d'un paramyxovirus	18
04	La représentation d'un lot .	29
05	Préparation des probiotiques	31
06	Le mode de prélèvement du sang	32
07	la galerie biochimique du genre Proteus	44
08	La galerie biochimique du genre Citrobacter .	44
09	Résultats de l'HI test au cours du 1 jour, 10 jours, 16 jour, 21 jour de lot témoin	47
10	Résultats de l'HI test au cours du 21 jour, 26 jour de lot témoin	47
11	Résultats de l'HI test au cours du 26 jour, 29 jour des trois lots .	48
12	Résultats de l'HI test au cours du 29 jour, 33 jour des trois lots .	48
13	Résultats de l'HI test au cours de 33 jour des trois lots .	49
14	Résultats de l'HI test au cours du 33 jour, 39 jour des trois lots .	49
15	Résultats de l'HI test au cours du 39 jour, 46 jour des trois lots .	50
16	Résultats de l'HI test au cours de 46 jour des trois lots .	50
17	Résultats de l'HI test au cours de 46 jour du troisième lot avec les témoins vérifiant l'apport de quatre unités agglutinatrices	51
18	l'évolution du log la moyenne du taux d'anticorps en fonction de l'age du poussin	51
19	Evolution du Nombre des lymphocytes en fonction de l'age des poussins (%)	54
20	Evolution du Nombre des globules blanc en fonction de l'age des poussins (nombre / mm ³ de sang)	55
21	Evolution du Nombre des polynucléaire neutrophiles en fonction de l'age des poussins (%)	57
22	Evolution du Nombre des polynucléaire éosinophiles en fonction de l'age des poussins (%)	58

Introduction :

Depuis une vingtaine d'années les conditions de productions animales sont telles que les élevages deviennent de plus en plus industrialisés :

Il faut produire beaucoup et obtenir la meilleure qualité possible.

L'industrialisation de l'élevage des animaux oblige donc à avoir recours à l'emploi d'additifs alimentaires pour augmenter la production tout en maintenant un bon état général de santé des animaux [9].

L'emploi commercial des probiotiques en élevages industriels des volailles est relativement nouveau comme pour les autres animaux, leur utilisation s'est développée à la suite des recherches effectuées sur le tractus gastro-intestinal qui ont permis une meilleure compréhension du rôle de la microflore et de son importance sur la santé et l'hygiène digestive des animaux [10].

De nombreuses études montrent que les bactéries lactiques utilisées comme probiotiques auraient un effet modulateur sur le système immunitaire de l'hôte agissant sur les composants du système immunitaire et c'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail consiste à étudier l'effet de l'administration de 2 bactéries lactiques : *Lactobacillus plantarum* et *Pediococcus acidilactici* sur la réponse immunitaire de l'espèce *Gallus gallus* après une vaccination : cas de la maladie de Newcastle.

Ce travail est divisé en deux parties : une partie bibliographique et une étude expérimentale qui vise à évaluer le taux d'anticorps après la vaccination des volailles contre la maladie de Newcastle Et cela en utilisant le test de l'inhibition de l'hémagglutination,, un examen hématologique complète notre étude.

Ce travail devrait nous fournir des réponses sur la vitesse et l'intensité de la réponse immunitaire des sujets qui ont reçu par os les bactéries lactiques.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I :
Les bactéries lactiques
et leurs rôle probiotique

I-1. Définition.

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes qui constituent un groupe hétérogène, possédant des caractéristiques physiologiques et morphologiques communs, leur principale caractéristique est le métabolisme exclusivement fermentaire qui le conduit à produire à partir du glucose des quantités importantes d'acide lactique (accompagné parfois dans certains cas d'autre métabolites (l'éthanol, co₂, autres acides organiques) [3].

I-2. Les caractères communs.

Les bactéries lactiques peuvent être sous forme de cocci ou de bâtonnet.

- Gram +.
- Immobiles et sporulées.
- Elles sont dépourvues de :

-Nitrate réductase

-Catalase.

-Cytochrome oxydase[18].

- Leur capacité de Biosynthèse est faible, ce qui explique leur polyauxtrophie pour divers acides aminés, des bases nucléiques, des Vitamines, et acides gras, les sels, les glucides fermentescibles [20].

- Généralement, ce sont aérotolérantes, mais certain espèces vivantes dans le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes[14].

- Selon le type de fermentation, les bactéries lactiques sont dites :

→*homofermentaires* : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.

→*hétérofermentaires* : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autre composés : l'Ethanol, co₂ et d'autre acide organique[34].

En effet leur caractère pathogène est en revanche extrêmement réduit puisque seules certaines espèces du genre *Streptococcus* et, dans certain conditions, *Enterococcus* peuvent être impliquées dans les infections humaines[3].

I-3. Nomenclature et classification.

La nouvelle classification des bactéries lactiques tient compte des apports modernes de la taxonomie moléculaire [13].

Selon le métabolisme fermentaire, les bactéries lactiques sont classées en 5 genres :

▪ Famille des *Streptococcaceae*

-Le genre *Lactococcus*.

-Le genre *Streptococcus*.

-Le genre *Pediococcus*.

-Le genre *Leuconostoc*.

▪ Famille les *Lactobacillaceae*.

-Le genre *Lactobacillus* [11].

On va détailler les deux genres : *pediococcus* et *Lactobacillus* qui nous interesse dans nctre étude.

I-3-1. Le genre *Lactobacillus* .

I-3-1-1. Les propriétés communs du genre .

Lactobacillus est le genre principale de la famille *Lactobacillaceae* , .Il est très ubiquitaire et les espèces sont souvent adaptées a un environnement spécifique[17].

Ce genre contient de nombreuses espèces de forme bâtonnet souvent groupés en chaînes, nécessitent une forte exigence en facteurs de croissance de 11 à 15 acides aminés suivant les différentes souches, possédant une meilleure résistance au pH acide (jusqu'à un pH=3.5) et a une concentration plus élevée d'acide lactique (27 g/L) [20].

I-3-1-2. Les subdivisions du genre *Lactobacillus* .

Les espèces du genre *Lactobacillus* est caractéeriées par l'hétérogénicité de la composition de leur ADN, le (G-C) % varie de 32% à 92%.

Ils ont été classé en 3 groupes par ORLA- jensen (1919) :

- *Thermobactérium* : homofermentaire et Thermophiles, contient 23 espèces.
- *Streptobacterium* : homofermentaire et mésophyle , contient 16 espèces.
- *Bétabactrium* : hétérofermentaire, soit mésophyle, soit thermophyles contient 22 espèces [20].

I-3-1-3. L'espèce *Lactobacillus plantarum* .

Elle est hétérofermentaire. incapable d'être cultivée à 45 °C mais capable de le faire à 15°C. leur teneur en (G-C)% varie de 33% à 46 % [4].

Chez *Lactobacillus plantarum*, un pyruvate oxydase provoque la libération de pyroxyde d'hydrogène à partir de glucose en anaérobiose [4].

Le genre *Lactobacillus plantarum* peut libérer le H₂O₂ à partir du lactose dans un milieu ou le glucose est épuisé [4].

I-3-2. Genre *pediococcus* .

I-3-2-1. Les propriétés communs du genre.

Les espèces du genre *pediococcus* est caractérisé par l'homogénéité de la composition de l'ADN est 42% [20].

I-3-2-2. La subbdivision du genre *pediococcus* .

La classification de BERGEY (1886) ressens 8 espèces dans le genre [21]

1-*Pediococcus damnosus*

2-*Pediococcus parvulus*

3-*Pediococcus inopinatus*.

4-*Pediococcus dextrinicus*

5-*Pediococcus acidilactici*.

6-*Pediococcus halophilus*.

7-*Pediococcus urinacequi*.

8-*pediococcus pentosaceus*.

Ces bactéries n'ont pas de pouvoir pathogène et elles correspondent au *Tetracoccus* de la classification de ORLA JENSEN [21].

I-3-2-3. L'espèce *pediococcus acidilactici* .

Elle est homofermentaire, incapable de cultiver à 35°C en milieu (18 % NaCl) leur teneur en (G.C)%, varie entre (35-44%) [11].

I-4. Rôle et action des bactéries lactiques .

I-4-1. Rôle dans la production des facteurs antimicrobiens .

I-4-1-1. Production des Bactériocine.

Les Bactériocines sont des protéines contenant 30 à 60 résidus l'acide aminés, ou des complexes protéiques sécrétés par des bactéries dans le milieu extracellulaire et ayant un effet bactériocine ou bactériostatique.

Leur mode d'action consiste à :

- Provoquer la sortie des petits composants hors de la cellule microbienne.
- Déprimer le gradient électrochimique de la membrane.

- Par fois à diminuer la quantité d'ATP intra bactérie [35].

Parmi les bactériocine sécrétées par les bactéries lactique les plus étudiés :

La Nisine et la diplococcine.

I-4-1-2. Production des composés antagonistes bactéricides

Ce sont les substances de nature protéique produites par les bactéries lactiques et capables d'activité bactéricide sur d'autre micro-organisme comme Plantacine A, Sakacine A, Lactocine 27 [20].

I-4-1-2. Production des composés divers.

1. Le pyroxyde d'hydrogène (H₂ O₂) ou les dérivés de l'oxygène (Co₂) .

Elles sont produit par les bactéries lactiques, peuvent exercer un effet inhibiteur sur certains flores d'altération au niveau de l'ADN notamment chez *E. coli* [14].

2. Le diacétyl (2-3-butanedione) .

Ce produit est capable d'inhiber des bactéries à GRAM (-) , des moisissures et des levures[31].

3. L'acétaldéhyde (CH₃ CHO) .

Il est produit par les bactéries lactiques hétérofermentaire, on estime qu'a des concentration de 10 à 100 ppm, il inhibe certain bactéries pathogène (*E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*)[35].

I-4-2. Rôle de l'acide lactique et le pH.

Le métabolisme principal des bactéries lactiques a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable.

L'effet du pH est renforcé par la forme sous laquelle se trouvent l'acide lactiques et les autres acides organiques produits lors des fermentations [34].

Le pouvoir antimicrobien de ces acide organiques repose sur :

• L'abaissement du pH favorise la croissance des micro-organismes les plus acidophiles et inhibe la croissance des bactéries pathogènes.

▪ La pénétration de l'acide indissocié dans le cytoplasme des autres cellules : la forme non dissociée de l'acide lactique qui est prédominante a pH acide et généralement plus toxique pour les cellules microbiennes [35].

I-4-3. Rôle d'utilisation comme probiotique .

Les bactéries lactiques sont utilisées comme des probiotique a cause de leur qualité propre :

- Leur caractère non pathogène.
- Leur absence de toxicité.
- Leur stabilité et leur bonne viabilité.
- Leur résistance au pH et l'acide lactique.

Parmi les *Lactobacillus* les plus utilisées :

Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* [20].

I-5-Les effets des probiotiques :

Un probiotique est un micro-organisme vivant (appelé aussi bactérie ou ferment) qui ingère en quantité suffisante, procure un effet bénéfique sur la santé de l'hôte, par opposition aux effets négatifs des antibiotiques [24].

Les probiotiques s'avérant une solution particulièrement intéressante dans la mesure où ils jouent à la fois un rôle sur le plan clinique et sanitaire en modifiant la microflore, mais aussi sur le plan nutritionnel [12].

I-5-1. L'effet nutritionnel.

Les bactéries probiotiques sont ajoutées comme ferments pour la fabrication des laits fermentés et les fromages, ils participent à l'élaboration de l'arôme et texture du produit ce sont surtout : *Lb. plantarum*, *Lb casei* ; *Lb acidophilus* Et par l'acidification du milieu et l'activité lipolytique, protéolytique stimuleraient la digestion des aliments [3].

I-5-2. L'effet clinique.

I-5-2-1. Bénéfice sur l'intolérance au lactose.

Depuis 1984, il est prouvé que l'on peut compenser le déficit en lactose source de diarrhée lors de l'ingestion de lait, par l'ingestion de yaourt contenant les 2 souches de la symbiose de référence S85 [24].

I-5-2-2. Bénéfice de la production des substances antimicrobiennes.

L'accumulation d'antibiotiques type acidophiline et reutéline synthétisés par certains cultures de probiotiques, inhibent certains germes pathogènes tel que : *S.typhimurium*, *Lactobacillus reuteri* [12].

I-5-2-3. Bénéfice sur la régulation de taux du cholestérol.

Ce Bénéfice se traduit par l'activité hypocholestérolémiant par l'action des souches probiotiques sur les acides biliaires et l'accumulation de cholestérol [12].

I-5-3. L'effet Sanitaire.

Le potentiel d'action positive des probiotiques au niveau des défenses de l'organisme se situe entre autres à trois niveaux :

- La flore intestinale.
- La barrière protectrice des cellules muqueuses de l'intestin.
- Le système immunitaire.

I-5-3-1. La flore intestinale.

En effet, leur action sanitaire repose sur le fait qu'elle prenne la place des micro-organismes dites : opportunistes à un âge ou l'animale ne possède pas encore ses propres défenses immunitaires [24].

I-5-3-2. La barrière protectrice des cellules muqueuses de l'intestin.

Les probiotiques peuvent modifier la couche de mucus qui recouvre la muqueuse intestinale et renforcer l'intégrité de cette Barrière cellulaire par ailleurs en stimulant la synthèse par les cellules muqueuses de substances bactéricides.

Il pourraient participer à la lutte contre les agressions par les bactéries pathogènes : l'attachement des probiotiques sur les sites de la muqueuse empêchant la fixation des germes [24].

I-5-3-3. Le système immunitaire.

Ce sont surtout les souches de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui sont capables d'induire une stimulation du système immunitaire de l'hôte sans réaction inflammatoire [6].

1. L'effet modulateur sur les cellules immunitaire.**▪ Les macrophages.**

Des effets immunomodulateurs de *Bifidobactéries* et *Lactobacilles* ont été observés chez l'animal dont l'administration de certaines souches est susceptible de stimuler l'immunité non spécifique notamment : L'activité des macrophages et la phagocytose.

Ces effets permettent d'expliquer une résistance accrue contre les infections [13] .

Des cellules de *Lb.casei* tuées par la chaleur protègent des souris de l'infection à *Mycobacterium fortuitum* en activent les fonctions des macrophages en particulier la production d'interleukine 1 [20].

2. La moelle osseuse.

Bien qu'il dispersée a travers tout le corps, la moelle osseuse est le tissu lymphoïde secondaire le plus important en volume et en production d'anticorps, par ailleurs, elle prend le relais d'organe primaire après l'involution de thymus et de la bource de Fabricius, en fournissant les cellules lymphoïdes et myolides ou autres organes secondaires. Elle est stimulée par les antigènes de la circulation générale [33].

3. Les nodules lymphatiques.

Les oiseau sont munis d'une multitude d'amas ou modules lymphatiques qui se développent par stimulation antigénique [24].

4. les tissus lymphoïdes du tube digestif.

le tissu lymphoïde du tube digestif des oiseaux est bien développé, il se compose de la Bource de Fabricius, des amygdales caecales, du diverticule de Meckel et des plaques de payer [27].

▪ Bource de Fabricius.

Outre son rôle d'organe lymphoïdes primaire, la Bource de Fabricius possède une activité d'organe lymphoïde périphérique, du fait de la présence de plasmocyte [33].

▪ Les amygdales caecales .

Il sont des culs de sac lymphoïdes située à la jonction iléocæcal, c'est le tissu intestinale le plus riche en lymphocytes B et T elles ont un rôle essentiel de sentinelle immunitaire [27].

▪ Les plaques de peyer.

Ils se retrouvent tout le long de l'iléon distal, facilement identifiable à l'œil nu par l'épaississement de la paroi intestinale et des villosités puis à l'absence des cellules caliciformes [25].

▪ Le diverticule de Meckel .

Il est considéré comme le troisième organe lymphopithelial des oiseaux il produit des plasmocytes qui synthétisent des anticorps [7].

5. le tissu lymphoïde paranasal .

Il est situé dans les régions paranasales et paraoculaires, la glande de Harder en est l'élément le plus important qui contient principalement des lymphocytes B et peu de lymphocytes T mais indispensables à la synthèse des Ac [33].

Les organes du système immunitaire chez le poussin sont décrits dans la figure n° 1 :

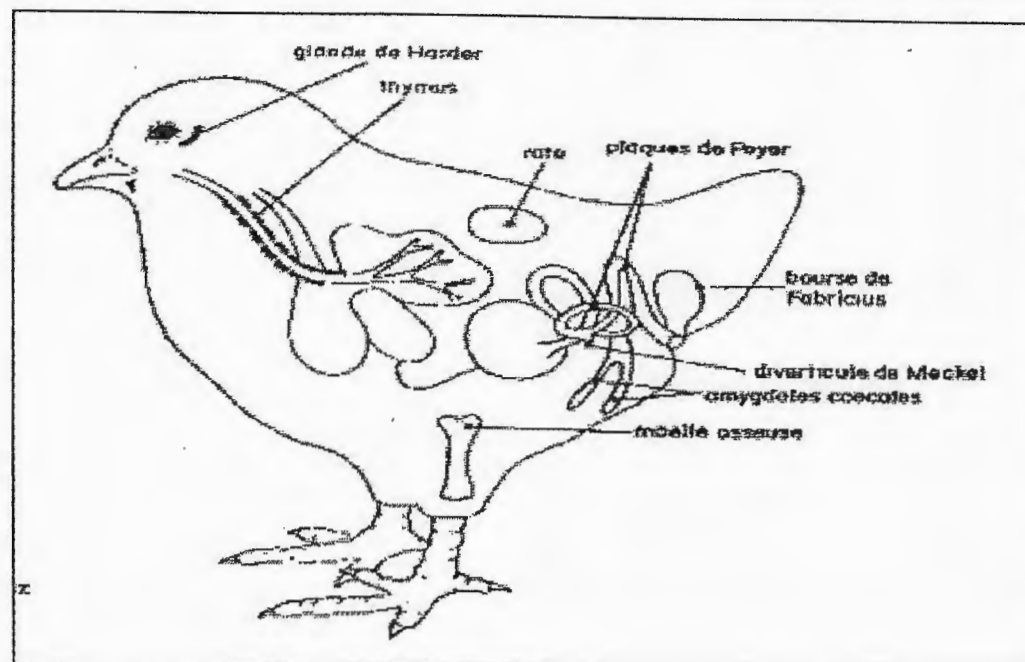


Figure N° 1 : les organes du système immunitaire chez le poussin . [37]

II-1-2-les cellules du système immunitaire :

Les cellules du système immunitaire circulent sans cesse dans toute l'organisme des oiseaux, la plupart colonisent les organes lymphoïdes, les autres se trouvent dans les différents organes et tissus [33] .

II-1-2-1. les lymphocytes T .

Les lymphocytes sont des thymo-dépendants constituent (60-70) % du totale des lymphocytes ils sont responsable des réaction d'immunité cellulaire et ont des fonctions très variées [33] .

Tableau N° 1 :Les différents types des lymphocytes T et leurs rôle. [33]

Cellules T	Le rôle
Cellules T ₄	-Stimuler et amplifier la production d'Ac par les lymphocytes B par l'intermédiaire des lymphokines.
Cellules T _s	-Ralentissement de l'activité des B et production d'Anticorps
Cellules T _c	-Responsable des réactions immunitaires à médiation cellulaire
Cellules T _{dh}	-Distinction des cellules tumorales -Intervient dans les réactions d'hypersensibilité.

II-1-2-2. les lymphocytes B .

Se sont les lymphocytes Burso-dépendants qui, elles sont responsables des réactions immunitaires humorales spécifiques ou production d'anticorps. [25]

II-1-2-3-Les macrophages :

Les macrophages sont issus des cellules souches de la moelle osseuse.

Il ont deux fonctions principales :

→ Phagocytose et élimination des Antigènes simples.

→ Phagocytose et présentation des Antigènes aux lymphocytes[33] .

II-1-2-4. Les granulocytes.

Les granulocytes sont l'une des cellules immunitaires, selon l'affinité tinctoriale de leurs granulations, on en distingue plusieurs types de ces cellules.

Tableau N° 2: les différents granulocytes et leurs rôles. [33]

Cellules	Le rôle
Hétérophiles	Important activité de phagocytose surtout lors de l'inflammation aiguë.
Eosinophiles	Phagocytose des complexes (Ag-Ac) et inactivant l'histamine
Basophiles	Jouent un rôle médiateur dans les réactions inflammatoires allergiques et anti-parasitaires
Mastocytes	Jouent le même rôle médiateur dans les réactions inflammatoires allergiques et anti-parasitaires

II-1-2-5. Les thrombocytes .

Les thrombocytes sont nucléés, jouent un rôle essentiel dans la coagulation sanguine et la phagocytose [27].

II-1-2-6. Les mastocytes.

Les mastocytes sont riches en médiateurs des réactions inflammatoires d'hypersensibilité, et ils participent à la réponse immunitaire antiparasitaire [25] .

II-1-2-7. Les cellules NK .

L'activité des cellules NK chez les oiseaux varie en fonction de l'âge , elle est faible pendant les premières semaines de la vie et augmente ensuite progressivement [25].

II-1-3. Les immunoglobulines.

D'après les caractères antigéniques et physiologiques, physico-chimiques le poids médullaire, le coefficient de sédimentation et la structure chimique on distingue chez les oiseaux 3 classes d'immunoglobulines : Les 7SIg, IgM et IgA ou IgA-like .

II-1-3-1. les IgG .

Les Ig G sont les seules Ig retrouvés dans le vitellus assurant une protection passive du poussins dès l'éclosion. Elles apparaissent de façon active d'ès 5-15 jours de vie et assurent une réponse immunitaire générale.

II-1-3-2. Les Ig M .

Les Ig M sont considéré la première ligne de défense en cas de septicémie. Elles apparaissent rapidement après une sollicitation antigénique en 2-3 jours [15]

II-1-3-3. Les IgA .

Les IgA sont les Ig sécrétoires que l'on trouve en forte concentration dans le duodénum qu'elles protègent des agressions bactériennes et virales ainsi que beaucoup d'autre muqueuses [25] .

II-2. La protection immunitaire des volailles.**II-2-1. L'immunité non spécifique.**

C'est la faculté de l'organisme de se défendre de façon générale contre des agresseurs particuliers et ce par différents moyens naturels [27].

II-2-1-1. Les cellules phagocytaires.

C'est le rôle essentiel des macrophages et microphages qui ingèrent et détruisent les virus, les bactéries et autres antigènes.

Certains substances sécrétées favorisant la phagocytose (les opsonines) [33] .

II-2-1-2. Le complément.

Le complément est important pour la défense humorale anti-infectieuse. Il est aussi un composant cytotoxique du plasma sanguin des oiseaux.

II-2-1-3. Interféron.

C'est une sécrétion humorale immunodépressive sur les systèmes burso et thymo-dépendants, il limite surtout la multiplication virale.

II-2-1-4. La coquille de l'oeuf.

La coquille et les membranes coquillières sont un filtre absolu contre les bactéries.

II-2-1-5. L'Albumen.

L'Albumen contient des substances naturellement antibactériennes (avidine, lysozyme).

1. **Avidine.** Complexe antivitaminique H qui inhibe les facteurs de croissance bactériens.

2. **Lysozyme.** il détruit les parois Bactériennes [33] .

II-2-1-6. Température corporelle.

L'augmentation de la température corporelle contraire la multiplication des virus, et des Bactéries. Autres moyens de défense naturels comme :

- La bile qui a une activité antibactérienne.
- La flore intestinale équilibrée s'oppose à l'installation de Bactéries pathogènes.
- Le pH du tube digestif maîtrise beaucoup de micro-organismes pathogènes.
- La peau intégrée se défend par la desquamation et sa flore de surface [33] .

II-2-2. L'immunité spécifique.

on distingue deux type d'immunité spécifique.

II-2-2-1. L'immunité adoptive ou passive.

Elle correspond aux anticorps transmis par la mère à l'œuf puis au poussin ou à l'administration du sérum hyperimmus. La plupart des Ac protégeant le poussin dès l'éclosion est les Ig G aussi les Ac locaux hérités du passage de l'œuf dans l'oviducte.

Ce sont les IgM, IgA présentes dans le liquide amniotique.

Cette immunité passive transmise par la mère persiste jusqu'à 2-3 semaines.[33]

II-2-2-2. L'immunité active.

C'est la protection active d'un organisme contre les agresseurs extérieurs : virus, Bactéries, champignons, parasites et autres produits d'origine Biologique.

Elle repose sur toute l'activation du système immunitaire et aboutit à la production d'anticorps circulants de cellules mémoires qui vivent pendant des années.[33]

II-3. La défense antivirale.

Les virus constituent un groupe d'organisme qui se multiplient dans une cellule hôte et qui provoquent des infections virales variées que les virus lui-même, la maladie de NewCastle qui nous intéresse constitue l'une de ces infections. Les antigène viraux sont en générale présents à la surface de la cellule, le macrophage transmet l'antigène à un lymphocyte T helper le contacte avec l'antigène a pour effet d'activer le lymphocyte

Th qui lui-même active les lymphocytes cytotoxiques « TC ». Ces derniers se lient aux cellules contenant les virus et les détruisent. Les virus sont alors libérés.

Parallèlement, les cellules Th sollicitent les lymphocytes B pour déclencher le processus décrit précédemment aboutissant à la production d'anticorps. Ceux-ci se fixent sur les virus les neutralisent [22] . Voir figure N° 2.

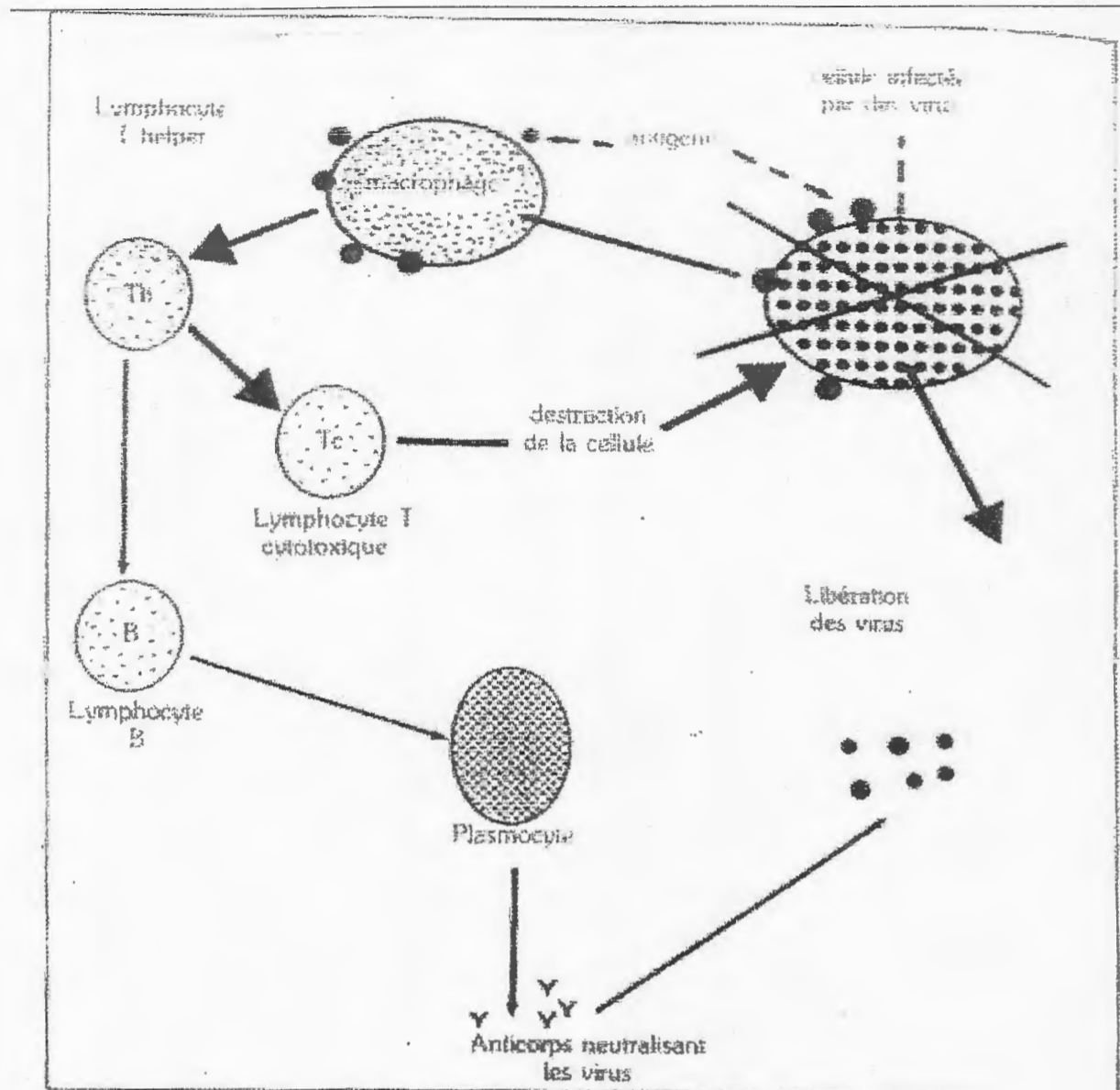


Figure N° 2 : La défense anti-virale [22] .

Chapitre III :
L'immunité des
volailles

III-1. Facteurs influençant les pathologies aviaire .

De nombreux facteurs peuvent être considérés souvent les principales responsables des pathologies des volailles. Ces derniers sont classés en facteurs biologiques, physiques ou chimiques.

III-1-1. Les facteurs biologiques .

Il peuvent être :intrinsèques ou extrinsèques

III-1-1-1. les facteurs intrinsèques .**1. l'anatomie et physiologie du tractus respiratoire.**

Le système respiratoire des oiseaux est caractérisé par l'absence des alvéoles fermées et l'existence des capillaires intercommunicant très étroits, la faible vascularisation des Sacs aériennes peut expliquer la fréquence des aérosacculites observée chez les oiseaux lors d'une affection respiratoire.

2. le statut immunitaire.

Il s'agit de l'immunité passive d'origine naturelle ou de l'immunité active en particulier celle obtenue par la vaccination contre les principale maladies respiratoire ou contre les maladies immunodépressives.

3. L'âge des oiseaux.

Est surtout important à considérer, en raison de la plus grande sensibilité des jeunes ou stress thermique pendant la période périnatale.

4. Facteurs génétiques.

Certains facteurs génétiques peuvent intervenir sur la réponse immunitaire ou sur la sensibilités aux agents stressants[25].

III-1-1-2. les facteurs extrinsèques .**1. les conditions d'élevage.**

Les conditions d'élevage peuvent être à l'origine d'un stress immunodépresseur : Surpopulation, mélange des oiseaux lors de la mise en place d'une bande, transport, arrêt de la distinction de l'aliment ou de l'eau de boisson, vaccination.

2. les agents contaminants.

Ils peuvent être responsables d'une immunodépression favorisant l'apparition d'un maladie respiratoire ou intervenir directement sur le tractus respiratoire. Soit autant que facteur étiologique primaire, soit en tant que facteur (étiologique) secondaire. Agissant en synergie avec l'agent spécifique pour aggraver la maladie[25].

III-1-2. Facteurs physiques.

se sont principalement.

*La poussières et les aérosols.

*La température.

*L'hygrométrie.

*La ventilation.

III-1-3. Facteurs chimiques .

Parmi les facteurs chimiques pouvant jouer un rôle dans la pathologie aviaire et principalement les maladies respiratoires, nous citeront l'action des gaz délétères (NH₃, CO₂, H₂ S principalement), mais d'autres agents chimiques d'origine alimentaire ou non, peuvent également intervenir.

Autres facteurs chimiques : comme l'utilisation de certains antibiotiques qui est parfois diminuer la réponse immunitaire .

Certains contaminants de l'environnement (mercure, pesticides....) peuvent également intervenir sur la réponse immunitaire ou provoquer des baisses de production [25].

III-2. Les pathologies aviaires immunodépressives.

Les plus étudiées sont celles des poulets et de dinde. Il s'agit surtout de maladies virales qui vont altérer de manière significative et spécifique la réponse cellulaire et/ou humorale de l'oiseau [27].

Mais il s'agit aussi des maladies bactériennes qui sont liées au pouvoir pathogène des bactéries qui provoquent des perturbations de l'équilibre physiologique d'un organisme et qui à partir de la, en altérant l'état de santé[33].

III-2-1. La maladie de Newcastle .

III-2-1-1. description et historique

La maladie de Newcastle sévit le plus souvent sous forme d'épizooties très meurtriers qui laissent derrière elles des reliquats enzootiques [32].

De plus, c'est une maladie virale infectieuse, très contagieuse, de distribution mondiale, cela expliqué que cette affection soit rangée parmi les MRLC : Maladies réputées légalement contagieuses soumis à la déclaration obligatoire[36].

Cette maladie à été diversement nommée :

Peste aviaire atypique, pseudopeste aviaire, pneumo-encéphalite et la maladie de Ranikhet (en l'Inde), elle a été souvent confondue avec la peste aviaire, mais l'appellation de Maladie de Newcastle qui a fini par être adoptée mondialement [23].

III-2-1-2. Etiologie.

l'agent étiologique de cette maladie est un *Paramyxovirus* de type (PMV1) de la famille des *paramyxoviridae* [33].

1. Morphologie du virus .

Les paramyxovirus sont des virus de (100-200) nm de diamètre, à ARN monocaténaire, pourvue d'une enveloppe dérivée de la membrane plasmique de la cellule.

Cette enveloppe hérissée de spicule de deux glycoprotéines différents :

- L'hémagglutinine-Neuraminidase (HN) qui est responsable de l'attachement du virus sur les récepteurs cellulaires. Ce glycoprotéine provoque l'agglutination des hématies de tous les oiseaux et les reptiles.
- La glycoprotéine F : qui induit la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire et permet la pénétration de la nucléocapside et l'ARN virale dans la cellule voir figure N°3 [33].

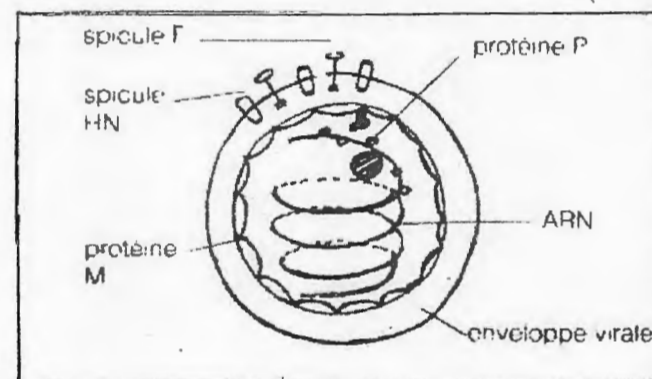


Figure N°3 : coupe schématique d'un *paramyxovirus*. [33]

III-2-1-3. La pathogénie (Cinétique de l'infection) .

Elle se manifeste par plusieurs étapes :

1. Multiplication locale .

Correspond à la multiplication du virus dans les cellules de la porte d'entrée du virus.

2. L'adsorption .

L'adsorption du virus sur les récepteurs membranaires de la cellule hôte est assurée grâce à la glycoprotéine HN des spicules de l'enveloppe virale.

3. La virémie .

C'est la multiplication du virus dans les formations lymphoïdes, lésion des parois vasculaires.

4. Localisation .

Le virus se multiplie dans un ou plusieurs tissus selon le tropisme de la souche.

5. Disparition .

Le virus disparaît peu à peu du sang et des organes des oiseaux infectés en quelques semaines à quelques mois [33].

III-2-1-4. la contamination et la transmission de la maladie .

La transmission s'effectue surtout par voie aérienne et par les agents infectants (dont les oiseaux malades et les oiseaux infectés inapparents), les rongeurs, le chat, et l'homme peuvent héberger le virus et l'excréter pendant quelques jours en plus de leur rôle de vecteur passif [36].

III-2-1-5. Les symptômes et les lésions.

Les symptômes et les lésions s'expriment après une incubation de quelques jours à quelques semaines, on distingue pour les symptômes :

1. La forme suraiguë.

Est caractérisée par la soudaineté de son apparition avec une mortalité de 50% - 100 % sans signes cliniques particuliers [25].

2. La forme aiguë.

Précédée d'une incubation rapide de (4-5) jours, se traduit par l'association de troubles respiratoires et nerveux. Les signes respiratoires de ronflement et de toux accompagnés d'une diarrhée verdâtre apparaissent les premiers.

En suite, viennent les signes nerveux : paralysies complètes ou paralysies des membres ou de la tête, ou contractions, hochement de tête, ou torticolis.

Chez les pondeuse, la ponte diminue brusquement s'accompagnant d'œufs décolorés et à l'albumen liquide, puis devient nulle et en très peu de temps [36].

3. La forme chronique .

Se traduit par des signes respiratoires non constants, l'absence de signes nerveux, des baisses de ponte relativement faibles, et une mortalité faibles ou nulle [36].

Pour les lésions, ils sont macroscopiques et microscopiques, celles varient à l'extrême en fonction du tropisme tissulaire et de la virulence de la souche

Les lésions les plus pathognomoniques de l'abattage du virus hautement virulent seraient les hémorragies des plaques de Peyer, et de minimes agrégats lymphoïdes le long de l'intestin [25].

III-2-1-6. Le diagnostic .

1. Le diagnostic clinique .

Il s'appuie sur l'isolement et l'identification de virus surtout s'il s'agit d'une première épizootie dans un élevage [36].

2. Le diagnostic virologique .

Ce type de diagnostic doit être mis en œuvre très précocement, on caractérise le pouvoir pathogène par des tests sur les œufs embryonnés .

3. Le diagnostic sérologique .

Trois techniques sont habituellement utilisées :

- **IHA** ou test d'inhibition de l'hémagglutination.
- **HAP** ou le test d'hémagglutination passive.
- La technique **ELISA** [3].

III-2-1-7. Le traitement .

Seules les complications bactériennes observées chez les animaux infectés par les souches peu pathogènes peuvent être traitées aux antibiotiques [25].

III-2-1-8. La prophylaxie sanitaire et médicale .

1. La prophylaxie sanitaire .

La mise en place de COHS (Contrôle officiel Hygiénique et sanitaire) des reproducteurs est indispensable mais elle ne s'oppose pas à une enzootie.

Si un foyer infectieux apparaît, les seuls moyens de lutte efficace sont :

- Abattage par gazage des oiseaux (destruction des cadavres et des œufs infectés).
- Désinfection des bâtiments et du matériel d'élevage (formol, soude).
- Destruction des litières.
- Interdiction de la zone contaminée pour éviter la propagation des virus par tous les vecteurs possibles [33].

Toutes ces mesures ne sont efficaces que si le diagnostic est très rapide, elles sont le plus souvent en échec par la grande facilité de dispersion du virus [33].

2. la prophylaxie médicale .

Les vaccins sont des préparations qui contiennent des micro-organismes ,des virus ou des toxines qui ont été traités afin qu'ils perdent leur pouvoir pathogène ou leur pouvoir toxique mais conservent leur pouvoir antigénique [30].

La lutte contre la maladie de Newcastle par vaccination comprend :

- Une primo-vaccination Hitchner B1, administrée aux poussins d'un jour, aux poulets de chair et aux pondeuses, par trempage du bec ou par nébulisation.
- Rappel à l'aide d'une souche un peu plus virulente : la Sota utilisée dans l'eau de boisson chez les poulets de chair et les pondeuses à 10-20 semaines. Elle confère une immunité supérieure à 70 % [36].
- Vaccin à virus inactivé, injecté aux lieux de l'utilisation des vaccins précédents [25].

III-2-1-9. L'incidence de la maladie.

Dans la plupart des pays du monde, la maladie de Newcastle affectant surtout les oiseaux sauvages et domestiques et particulièrement les gallinacés ou elle entraîne dans sa forme grave un taux de mortalité qui peut atteindre 100 % [23].

Cette maladie, en dehors de l'importance de la mortalité, une grave menace pour l'économie avicole. En effet, elle est responsable de l'augmentation de l'indice de consommation, de baisse de production, et pour les pondeuses, de la diminution du taux de ponte, ainsi que la mauvaise qualité des œufs qui ont alors un faible taux de fertilité et d'éclosabilité [36].

III-2-2. Maladie de Gumboro (IBDV) .

L'agent étiologique est un *birnavirus* et son effet immunodépresseur se manifeste principalement s'il infecte des poussins durant les deux premières semaines de vie.

Les lymphocytes B de la Bource de Fabricius étant la cible privilégiée de ces virus, il en résulte une immunodépressive des poulets qui deviennent vulnérables aux infections par des agents opportunistes et répondent faiblement à l'immunisation vis à vis des autres agents pathogène [27].

III-2-3. Maladie de Marek.

Cette infection dépend de la sensibilité génétique des poulets, de l'oncogénique de les souches virales et d'autres facteurs comme le stress. Le virus de la maladie de Marek peut perturber les profondément les fonction immunes, humorale et cellulaires [27].

III-2-4. Réticulo-endothéliose.

L'agent étiologique est le rétrovirus qui affect aussi bien la dinde que le poulet. L'immunodépression se traduit par des faibles titres d'anticorps post-vaccinaux vis à vis de certains virus et par une prédisposition accrue aux infections ou aux infestations comme la coccidiose [27].

III-2-5. Entérite hémorragique du dindon (HEV) .

Le virus de l'entérite hémorragique favorise les infections secondaires consécutives à l'effet immunodépresseur de ce virus qui se multiplie préférentiellement dans les cellules lymphoïdes [27].

III-2-6. Anémie infectieuse du poulet (CAA) .

L'agent responsable est un virus probablement apparenté aux *parvovirus*. Il est particulièrement lymphotrope, engendre des dégénérescences et appauvrit des lymphoïdes primaires et secondaires [27].

III-2-7. Les pasteurelloses.

Le choléra aviaire ou pasteurellose est une maladie infectieuse, virulent, inoculable, contagieuse, elle est due a *pasteurella multocida* [33].

III-2-8. Les salmonelloses.

Les salmonelloses aviaires sont des maladies infectieuses, contagieuses, transmissibles à l'homme dues à la multiplication dans l'organisme des oiseaux d'un germe qui est *Salmonella typhimurium* [23].

III-2-9. Les colibacilloses.

Plusieurs sérotypes spécifiques, d'*E.coli* sont responsables de troubles divers chez les oiseaux [26] .

Parmi Les infections aviaires à *E.coli* : Les colibacilloses, qui affectent essentiellement les jeunes oiseaux à cause de leur système immunitaire immature et de l'absence d'effet barrière de leur flore intestinale incomplète [23].

III-2-10. Les maladies respiratoires chroniques (MRC) .

Le MRC est un syndrome apparaissant chez le poulet infecté par *Mycoplasma gallisepticum* parfois par *Mycoplasma Synoviae*, son expression clinique est favorisée par les virus à tropisme respiratoire (maladies de Newcastle, Bronchite infectieuse...) et le virus de la maladie de Grumbo [28].

Partie Expérimental

II-1. But de l'expérimentation.

Ce travail consiste à étudier l'effet de deux probiotiques dans l'alimentation du poulet de chair. L'objectif recherché consiste à évaluer l'effet modulateur des souches de probiotique : *Lactobacillus plantarum* BJ0021 et *Pediococcus acidilactici* sur le système immunitaire de l'espèce *Gallus* dans le cas de la maladie de Newcastle par :

- Le contrôle de l'immunité post vaccinale dans l'élevage des poulet de chair par réalisation de "HI test" étant qui est un moyen de diagnostic indirect de la maladie de Newcastle
- L'évolution de quelques paramètres sanguins pour estimer l'action des probiotiques sur l'immunité des poulets.
- L'expérimentation s'est déroulée durant tout le cycle d'élevage (6 semaines et 4 jours) à savoir du 13/05/2005 jusqu'au 26/06/2005 avec une phase d'adaptation de 12 jours.

II-2. Matériels et méthodes.**II-2-1. Matériel.****II-2-1-1. Les animaux.**

L'étude a été conduite sur 101 poussins de qualité physique différente à savoir des poussins de souches ISA15 et des fokoques, 12 sujets sont morts dans la phase d'adaptation. un sujet est abatté Pour le contrôle microbiologique.

et le reste a été réparti sur trois lots mentionné dans le tableau N

Tableau N°3 : la répartition des poussins par lot

Lot	Nombre de sujet	Traitement
1er	29	Aucun
2ème	30	Probiotique (<i>Lactobacillus plantarum</i> BJ0021)
3ème	29	Probiotique (<i>Pediococcus acidilactici</i>)

II-2-1-2. Les probiotiques et les souches bactériennes .

Les cultures bactériennes utilisées comme probiotique sont :

Les souches de *Lactobacillus plantarum* BJ0021 isolée localement à partir du beurre traditionnel de JJEL, et la souche de *Pediococcus acidilactici* fournit par la firme française : L'ALLEMAND

II-2-1-3. Le laits .

Pour la préparation des probiotiques on a utilisé le lait écrémé fournit par la laiterie IGILAIT.

Tableau N°4 : Les Principaux caractères de l'espèce *Lb. plantarum* BJ0021.

<i>Lb. plantarum</i> BJ0021									
Gram	15 C°	45 C°	pH=5 .5	6.5% Nacl	Gluconate	Lactose	ADH	Acide lactique	Ribose
+	+	-	+	-	+	+	-	109.66 D°/24h	+

Tableau N°5 : Les Principaux caractères de l'espèce *Pc. Acidilactici* .

<i>Pc. Acidilactici</i>									
Gram	35 C°	40 C°	pH=4 .2	6.5% Nacl	Acétoine	Maltose	Acide lactique	Arabinose	Argénine
+	+	+	+	+	+	-	DL	+	+

II-2-1-4. Les mangeoires.

Au cours de notre étude nous avons utilisé des mangeoires de capacité de 15 Kg

II-2-1-5. Les abreuvoirs

Nous avons utilisé des abreuvoirs de capacité de 4 L ces derniers étaient placés de façon ce que les sujets n'aient pas à se déplacer trop pour aller boire.

II-2-1-6. L'aliment.

On a utilisé l'aliment de démarrage-Croissance et de finition qui est fabriqué et distribué par l'établissement CODAC (Coopération de l'aviculture et de cuniculture) qui se trouve à KAOUS dont la composition de ce dernier est consignée au tableau.

Tableau n 6 : composition de l'aliment source CODAC de JJEL

N°	Composants
1	Mais
2	Tourteau de Soja
3	Phosphate bicalcique
4	C.M.V. Chair
5	Calcaire
6	Son gros

II-2-1-7. Le vaccins.

Pour la vaccination, on a utilisé un flacon contenant un vaccin à virus vivant lyophilisé Hitchner B1 (1000 DOSE).

II-2-1-8. Les Milieux de culture .

Pour réaliser l'examen Bactériologique, on a utilisé :

- Le milieu SFB : d/c comme un milieu d'enrichissement.
- Le milieu HEKTOEN : pour la recherche des entérobactéries.
- Le milieu CITRATE de SIMMONS.
- Le milieu UREE-INDOLE et MANNITOL MOBILITE.
- Le milieu MOLLER : ADH, LDC, ODC.
- Le milieu CLARK et LUBS.
- Le milieu TSI.
- Le bouillon : M17, MRS ensemencé par les bactéries lactiques

M17 : Pour le *pediococcus acidilactici*.

MRS : Pour le *Lactobacillus plantarum* BJ0021.

II-2-1-9. Autres produits.

A la cour de notre travail, on a utilisé pour l'examen Bactériologique.

- Violet de gentiane, lugol, alcool, fuchsine : pour la coloration de GRAM.
- Réactif de KOVACS.
- VP₁ : solution alcoolique d'α-naphtol.
- VP₂ : Solution aqueuse de soude 16 %.
- Pour la préparation de probiotique, on a utilisé :
- Lait écrémé
- Pour la réalisation le test Hématologique, on a utilisé :
- L'agent hémolysant : EDTA
- les prises de sang ont été effectuées selon le calendrier dans le tableau N°8.
- Pour la réalisation du test sérologique HI, on a utilisé :
- L'anticoagulant Hépariné.
- Hématies Lavées à 1,2 %.
- Eau physiologique à 9 g pour mille de NaCl.
- Eau distillée.
- Antigène hémagglutinant représenté par le vaccin anti-Newcastle La Hitchner B1 (1000 DOSE).
- Les sérums : les prises de sang en vue de l'obtention de sérum ont été effectuées selon le calendrier dans le tableau N°7.

II-2-1-10. Autre matériels.

- Microscope optique.
- La centrifugeuse.
- Une balance.
- Les seringues et les tubes à hémolyse.
- Les épendophes pour récupérer les sérums.
- Les microplaques pour le test HI et les micropipettes.
- Nébulisateur manuel.
- Compteur.
- Les cellules HEMATIMETRE-MALASSEZ pour le comptage de GB.

Tableau N° 7 : Calendrier récapitulatif résumant le nombre de prélèvement concernant le dosage d'Ac anti-Newcastle.

Nombre des prélèvements	L'âge de poussin	Identification et nombre de tube		
		Lot témoin	Lot de <i>Lactobacillus plantarum</i> BJ0021	Lot de <i>pediococcus acidilactici</i>
1	1 jour	2 tubes	/	/
2	10 jours	1 tube	/	/
3	16 jours	3 tubes	/	/
4	21 jours	4 tubes	4 tubes	/
5	26 jours	/	/	4 tubes
6	29 jours	4 tubes	4 tubes	4 tubes
7	33 jours	4 tubes	4 tubes	4 tubes
8	39 jours	4 tubes	4 tubes	4 tubes
9	46 jours	4 tubes	4 tubes	4 tubes

Tableau N° 8. Calendrier récapitulatif résumant le nombre de prélèvement concernant l'examen hématologique.

Nombre des prélèvements	L'âge de poussin	Lot témoin	Lot de <i>Lb. plantarum</i> BJ0021	Lot de <i>p. acidilactici</i>
1	28 jours	3 tubes	3 tubes	3 tubes
2	35 jours	3 tubes	3 tubes	3 tubes
3	46 jours	3 tubes	3 tubes	3 tubes

II-2-2. Méthodes.

II-2-2-1. Méthodes d'élevage.

1. Mise en place des animaux.

Une partie de l'animalerie est divisé en trois lots de 21545 cm² de surface. Chaque lot est mené d'une seule mangeoire et un abreuvoir pendant la phase de démarrage puis deux abreuvoirs ensuite.



Figure N°4 : La représentation d'un lot .

2. Microclimat de l'animalerie.

▪ Température.

On a utilisé système de chauffage (37 C°) puis la température est contrôlée par des relevés quotidienne grâce à un thermomètre placé à l'animalerie ou s'est déroulé l'expérimentation.

▪ La ventilation.

Elle est assurée par un ventilateur et une ventilation statique assurée par les fenêtres de l'animalerie.

▪ L'éclairage.

L'éclairage est assuré par l'éclairage naturel pendant le jour plus une lampe électrique pendant la nuit

3. Mesure d'hygiène.

L'évacuation de la matière fécale et les résidus de l'aliment, ainsi que l'enlèvement de toute litière et plumes autour du local est effectué régulièrement afin de protéger les animaux des maladies diverses.

II-2-2-2- Préparation et utilisation du probiotiques:

1. Préparation des probiotiques .

200 ml de lait stérile estensemencé par levain *lactobacillus plantarum BJ0021* et incubé à 37 C° jusqu'à la coagulation (après trois heures) ainsi on obtient notre probiotique que l'on conservé à 4 °C

2. Administration .

▪ **dans l'eau de boisson .**

Chaque jours et à la même heure, 10 ml de probiotique par litre d'eau à été utilisé pour les sujets du lot à probiotique .

La même technique à été suivi pour la préparation du probiotiqueensemencé par *pediococcus acidilactici*.

▪ **dans l'aliment .**

Chacun 0,1 g de probiotique de la souche *pediococcus acidilactici* est mélangée avec 1 kg d'aliment et utilisé pour le troisième lot.

La figure N°5 illustre la méthode de préparation des probiotiques.

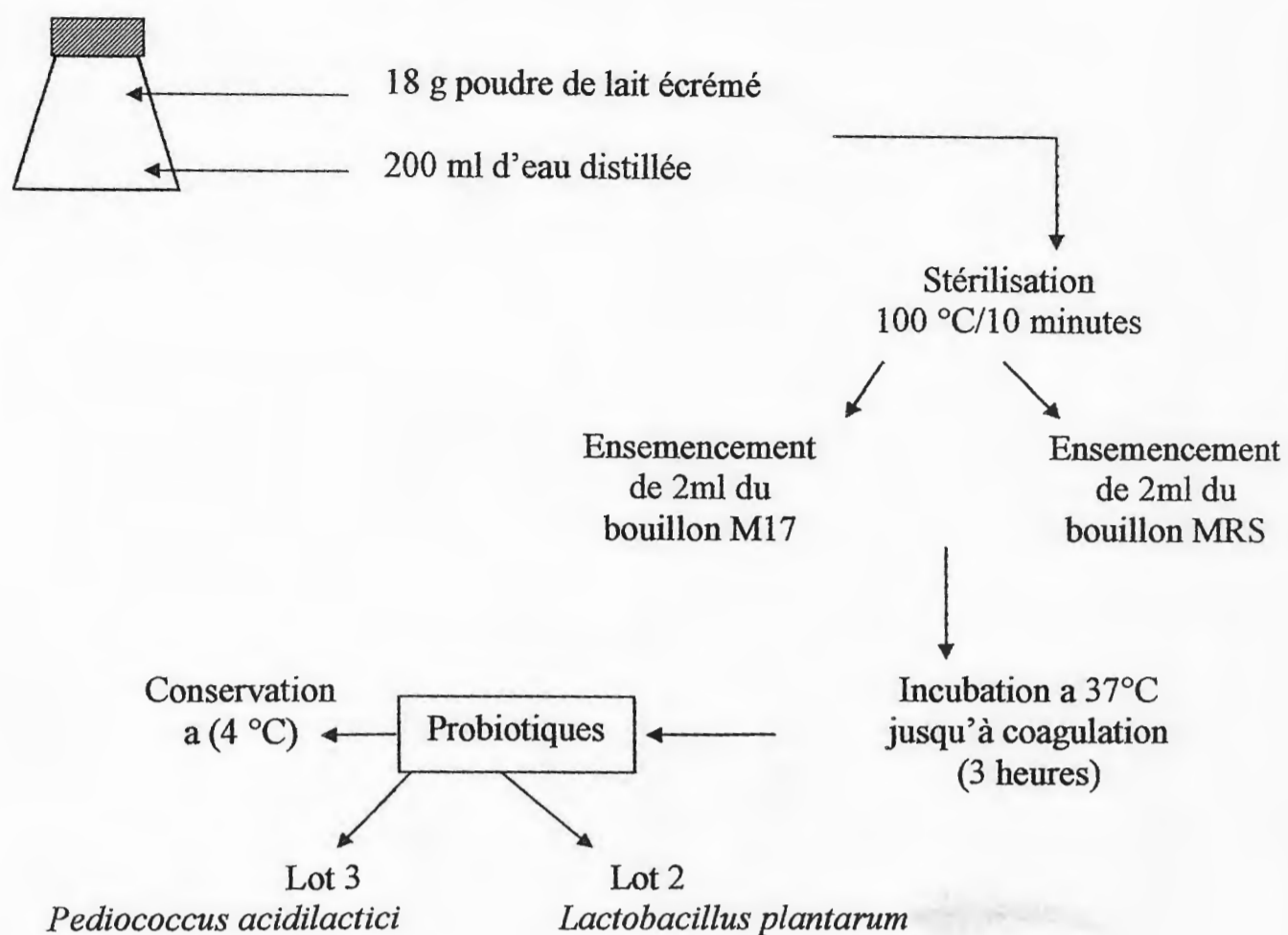


Figure N° 5 : Préparation des probiotiques

II-2-2-3. Préparation et utilisation de vaccin.

1. préparation.

Un flacon de 1000 doses contenant la souche lentogène Hitchener B1 du virus vivant de la maladie de Newcastle, on le reconstitue dans 1 ml ($10^3 \mu\text{l}$) d'eau distillée stérile puis on mélange.

La solution obtenue est dite : suspension virale mère. Soit x est le volume de la suspension virale nécessaire pour 100 poussins :

Donc :

1000 Dose	—————→	$10^3 \mu\text{l}$ de suspension mère
100 (effectif de poussins)	—————→	x μl

2. Administration.

On met 0,1 ml de la suspension mère dans 100 ml d'eau distillée stérile, on mélange.

L'administration du vaccin est faite par la technique collective : voie orale dans l'eau de boisson (nébulisation).

La vaccination a été effectuée à l'âge de 16 jours des poussins, suivie avec une deuxième vaccination à l'âge de 29 jours.

II-2-2-4. Le mode de prélèvement du sang.

Le sang prélevé par fonction veineuse en écoulement libre sur tube sec chez les poussins au niveau du veine alaire, à l'aide d'aiguille de prélèvement (Figure).

Les tubes contenant le sang sont centrifugés à 1200 tr/min. pendant 05 minutes, puis les sérums ont récupéré dans des épendophes identifiées et congelées à 4°C jusqu'à jour de l'utilisation..

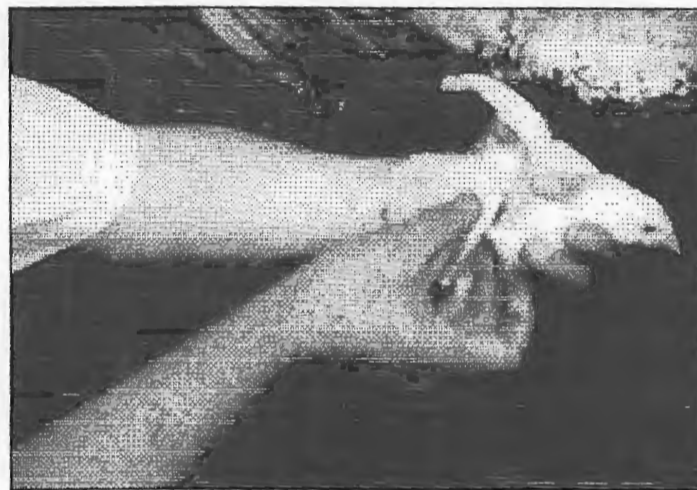


Figure n° 6 : Le mode de prélèvement du sang

U-2-2-5. L'examen microbiologique de l'intestin.

Le contrôle Bactériologique se fait dans un but de rechercher des *Salmonelles*

1. Le prélèvement.

Il est apporté au laboratoire de microbiologie, concerne un poussin témoin à l'âge d'un jour soumis à l'abattage.

2. L'enrichissement.

Une partie de l'intestin (duodénum) est mit dans le bouillon SFB d/c puis incubé à 37 C° /24 heures.

3. Ensemencement.

A partir du bouillon SFB précédent, on fait un ensemencement à l'aide d'une anse de platine sur le milieu HEKTOEN par épuisement en 5 plants.

La incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

4. purification.

A partir du milieu HEKTOEN précédent, on réalise la purification de chaque colonie distincte sur le même milieu par la méthode d'épuisement puis on incube a 37°C / 24 heures. Cette étape est faite pour obtenir des cultures pures.

5. Identification des souches bactériennes.

▪ **Etude morphologique .**

◀ **L'examen macroscopique.**

Elle permet de connaître :

-L'aspect des colonies qui poussent sur le milieu sélectif solide

-Les caractères physiques des colonies : la taille, la couleur , la surface .

◀ **l'examen microscopique (coloration de Gram) .**

La coloration de Gram permet de diviser les bactéries a Gram + et les bactéries à Gram – en examinant le frottis en microscope. Les germes qui ont gardé la première coloration (violet de gentiane)

Ils sont dits Gram +, ceux qui on été décolorés par le différenciateur (fuchsine) se présentent en couleur rose. Ils sont dits Gram - . [5] .

Technique.**-Coloration primaire.**

On a prélevé de chaque suspensions bactériennes une goutte, puis on étalé sur une lame. Après séchage de la préparation dans l'air chaud produit par la veilleuse d'un bec bunsen, on la recouvrir de violet gentiane avec une solution de lugol, et on a laissé agir une minute.

-Décoloration à l'alcool .

Elle à été fait par versement de quelques gouttes d'alcool sur le frottis, puis on a fait un lavage à l'eau courant.

-Coloration secondaire.

On a coloré le frottis par la fuchsine, en laissant agir 20 secondes.

-Observation au microscope.

On a met une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré et sec puis l'observation à l'objectif à immersion (100). [16]

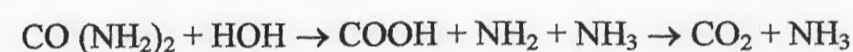
- Les tests biochimiques :

- ◀ Métabolisme des protéines et des acides aminés .

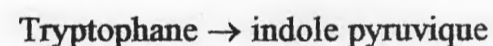
- ❖ Recherche d'uréase et la production d'indole.

-L'attaque d'urée.

L'uréase présenté chez certains bactéries, leurs permet d'hydrolyser l'urée avec l'alcalinisation du milieu par la production du CO₂ et NH₃. [16]

**-la production d'indole.**

L'indole est un métabolite terminal de dégradation du tryptophane présent dans le milieu. [5]

**Technique.**

A partir de chaque milieu gélosés contenant la culture pure, on a ensemencé une ose de culture dans le milieu urée-indole et on incube a 37 °C / 24 heures.

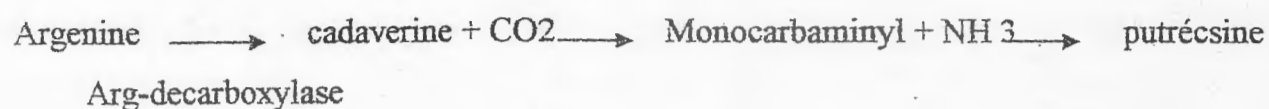
le virage de l'indicateur de pH au rouge, l'alcalinisation du milieu témoigne la présence d'une uréase, par la suite, on ajoute trois gouttes de réactifs d'ERLICK--KOVACS le long des parois du tube, on homogénise et on laisse reposé.

La présence d'indole se traduit par la formation d'une anneau rouge en surface.



❖ Rechercher de l'argénine d'hydrolase (ADH) .

On utilise le milieu Moeller qui recouverts ou enrichie avec : lysine, ornithine, argénine. Certains bactéries décarboxylisent l'argénine pour la production de l'argmatine (cadaverine) [16].

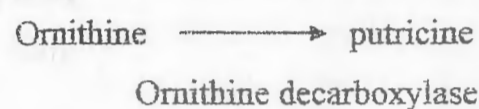
**Technique .**

On ensemence le milieu de Moëller qui est enrichi en argénine par une culture fraîche contenue les bactéries puis on ajoute quelques gouttes d'huile de vaseline.

L'apparition d'une couleur violette, témoigne la présence d'une ADH.

❖ Rechercher de décarboxylase pour l'ornithine (ODC) .

Certains bactéries décarboxylisent l'ornithine pour former la putricine. [16].

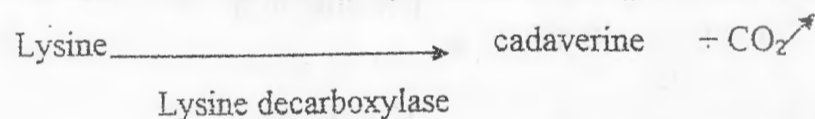
**Technique .**

On ensemence le milieu de Moëller qui est enrichi en ornithine par une culture fraîche contenue les bactéries puis on ajoute quelques gouttes d'huile de vaseline.

L'apparition d'une coloration violette, indique la présence d'une ODC.

❖ Rechercher de décarboxylase pour la lysine (LDC) .

Certains bactéries décarboxylisent la lysine pour former la cadaverine et le CO₂ [16].



Ce dernier réagit avec la ninhydrine en donnant une coloration violette.

Technique .

On ensemence le milieu de Moëller enrichi en lysine par une culture fraîche contenue les bactéries, en ajoutant quelques gouttes de vaseline.

L'apparition de couleur violette indique la présence d'une LDC.

◀ L' utilisation de CITRATE de SIMMONS.

Le citrate est spécifiquement utilisé comme seule source de carbone par certaines espèces ce qui provoque l'alcalinisation du milieu par le virage de l'indicateur coloré du vert au bleu.

Technique .

On a ensemencé le milieu de CITRATE de SIMMONS en surface par stries longitudinales, on incube à 37°C /24 Heures.

Le développement bactérien s'accompagne avec le virage de la couleur du vert au bleu qui indique la présence du citrate perméase.

◀ Métabolisme glucidique .**❖ L'attaque du MANNITOLE.**

Le mannitol est un produit de la réduction du D.mannose, le milieu mannitol-mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol bactérien. La dégradation du D.mannose conduit à la production des acides à chaînes très courtes comme l'acide acétique et l'acide formique [5] . .

Technique .

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale avec un anse de platine, et incubé à 37°C /24 heures.

L'utilisation de mannitol se traduit par le virage du rouge phénol au jaune (milieu acide).

La mobilité bactérienne se traduit dans ce milieu par l'apparition d'un développement bactérien sous forme de nuage autour de la piqûre centrale.

❖ Fermentation des sucres en milieu TSI .

Le TSI est un milieu qui est utilisé pour l'identification des bacilles Gram négatif et essentiellement pour différencier entre elles et les entérobactéries.

En anaérobiose relative, c'est à dire au niveau du culot, le glucose quoiqu'en proportion plus faible, est utilisé préférentiellement. La fermentation du glucose provoque une acidification du culot. Ce qui entraîne un virage au jaune de l'indicateur coloré, cette dégradation du glucose peut s'accompagner d'une production de gaz mise en évidence par quelques bulles ou par une poche de gaz qui décolle complètement le milieu du fond du tube.

En aérobiose relative, c'est-à-dire sur la pente, l'utilisateur du glucose entraîne en faible proportion est vite consommé, si les bactéries n'attaquent pas le lactose, cette acidité est vite neutralisée en aérobiose par la formation d'ammoniaque provenant de la dégradation des acides aminés par contre, si les bactéries attaquent le lactose. L'acidité est suffisante et la pente vire au jaune [5].

Le citrate ferrique sert d'indicateur d'H₂S produit, il se transforme en sulfure noir.

Technique .

On ensemence le culot par piqûre et la pente par des stries serrés et parallèles pour avoir une culture en nappe, on incube à 37°C/24 heures.

← Recherche de l'acétoïne .

Par le test voges-proskauer qui caractérise la présence de l'acétoïne qui un métabolite spécifique, l'intermédiaire de la fermentation butanidiolique.Vp+, elle est aussi spécifique d'autre bactéries, donne un Vp- [5].

Technique .

On prélève 1 ml de culture sur le milieu Clark et Lubs, puis on ajoute 0,5 ml de solution d' α - naphthol et 1 ml de NaOH a 16 %.

L'apparition de la couleur rose, indique la présence d'acétoïne Vp+.

II-2-2-6. L'examen sérologique.

Le test HI a pour but de dosage des anticorps lors de vaccination afin d'évaluer l'effet des probiotiques : *Lactobacillus plantarum* BJ0021 et

Pediococcus acidilactici sur le système immunitaire des poulets de chair.

Le test HI à été réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie de l'université de JIJEL.

1. Le principe de (HI test) :

Le principe de HI test est basé sur la liaison des hémagglutinine somatique du virus de Newcastle aux anticorps spécifiques existant dans les sérums des volailles immunisés ou naturellement infectés, d'où une réaction d'inhibition de l'hémagglutination spécifique.

2-Mode opératoire :

Pour la réalisation de ce test, on prépare une suspension virale à 04 unités hémagglutinantes (Hitchner B1 vaccinale)et une suspension d'hématies à 1.2 %.

▪ **Préparation de la suspension d'hématies à 1.2 %.**

1ère étape :

Le prélèvement du sang :

On prélève le sang à partir de la veine alaire et on le met dans un tube contenant (01) goutte d'héparine.

2ème étape :

Lavage des globules rouges :

On remplit le tube contenant le sang par l'eau physiologique, à 2/3, on fait la centrifugation (1200 tours/min. pendant 5 min.).

On rejette le surnageant et on récupère le culot (cette opération est répétée 03 fois).

3ème étape :

Dans un tube stérile, on met 10 ml de l'eau physiologique, on enlève de celui-ci 120 µl puis on ajoute 120 µl du culot des globules rouges et on mélange bien.

▪ **Préparation de la suspension virale mère :**

La préparation de la suspension virale à 4 unités agglutinatrice se fait par reconstitution de la suspension virale lyophilisée (Hitchner B1 vaccinale) dans 1 ml de l'eau distillée, la suspension obtenue est appelée suspension virale mère.

1ère étape :

On prend une microplaque et on dépose 50 µL de l'eau physiologique dans 12 cupules de la rangée A.

On met 50 µl de la suspension virale mère dans la première cupule de la rangée A

On fait une série de dilutions de 1/2 en 1/2 sous 50 µL de la première cupule à la douzième cupule de la rangée A.

2ème étape :

Dans chaque cupule de la rangée A, on met 50 µl de la suspension des globules rouges.

3ème étape :

L'incubation de la microplaque à température ambiante pendant 30 min.

Le titre est donné par le numéro du puit où l'agglutination est bien évidente, de là on déduit la dilution de la suspension mère et on calcule le volume de la suspension virale mère nécessaire à la préparation de la suspension virale à 4 unités agglutinatrices utilisé dans la réaction proprement dite.

La dilution de la suspension mère à 1 unité agglutinatrice égale 1/512.

$512/4 = 128$ (4 normes HI-test pour le Newcastle).

1→128

X→50000 µl (50 ml)

$X = \frac{50000}{128} = 390 \text{ µl}$ (volume de la suspension virale)

▪ **Réaction de HI-test :**

1ère étape ;

Dans un tube, on dispose 10 ml de l'eau physiologique on élève 390 µl de la suspension virale mère et en a distribue à raison du 50 µl dans chaque cupule de la microplaque.

2ème étape :

Dans la première rangée verticale de la microplaque, on dépose 50 µl de chaque sérum a tester.

Dans notre étude, on a utilisé (09) microplaques qui corresponde au 66 sérum (26 sérum témoins et 40 expérimentales).

3ème étape :

On fait une série de dilution horizontalement de $\frac{1}{2}$ en $\frac{1}{2}$ sous 50 μ l dans la suspension virale à 4 unités jusqu'à la cupule N° 12 de chaque rangée horizontale.

4ème étape :

Incubation au réfrigérateur pendant une nuit.

5ème étape :

On ajoute 50 μ l de la suspension d'hématies précédemment préparée dans chaque cupule de la microplaque et on mélange.

Le sérum est considéré positif si on constate une sédimentation uniforme et ponctuelle des hématies au fond des cupules.

6ème étape :

La Lecture :

L'hémagglutination sous forme d'un tapis rosé occupant tout le fond de la cupule, correspond aux dilutions du sérum pour lesquelles le virus n'a pas été neutralisé (épreuve négative).

Le virus est neutralisé par le sérum, et les globules rouges libres sédimentent sous forme d'un petit disque rouge bien net (épreuve positive).

▪ **Témoin vérifiant l'apport des 4 unités agglutinatrices :**

1ère étape :

On dispose dans la première cupule 100 μ l de la suspension à 4 unités agglutinatrices, dans les 3 cupules restantes on dépose 50 μ l de l'eau physiologique.

2ème étape :

On fait une série de dilutions de $\frac{1}{2}$ en $\frac{1}{2}$ sous 50 μ l jusqu'à la quatrième cupule et on ajoute 50 μ l de la suspension d'hématies à 1,2 % en même moment que pour les cupules des échantillons.

3ème étape :

La lecture :

On doit avoir dans première et la deuxième cupule une agglutination totale avec un dépôt des globules rouges sous formes de tapis dans la troisième et la quatrième cupule, l'agglutination est modérée.

II-2-2-7.L'examen hématologique .

Il à été réalisé à l'hôpital de JIJEL et porté sur 27 sujets de différents âges : 9 sujets pour le lot 1 et 18 sujets pour les lots expérimentaux.

Cet examen a pour but d'évaluer les taux des paramètres sanguins : les globules blancs (GB), les lymphocytes, les polynucléaires neutrophiles, les polynucléaires Eosinophiles.

1. Le mode de prélèvement du sang .

On pratique la même méthode précédente sauf qu'on ajoute l'anticoagulant (EDTA) aux tubes à hémolyse.

2. La numérotation des globules blancs (les leucocytes) .

Les leucocytes sont des cellules nucléées, de taille de l'ordre de 10 μ l, spécialisés, dans les réactions de défense de l'organisme.

▪ **Principe .**

Cette numérotation est fondue généralement sur le couptage obtenue dans une volume déterminé du sang additionné. Une quantité de réactif LAZARUS qui permet de détruire les cellules sanguines autres que les leucocytes.

Cette numérotation est faite sur la cellule HEMATIMETRE de MLASSEZ.

▪ **Mode Opératoire .**

On prend 50 μ l de sang et 450 ml de réactif LAZARUS et on les mélange dans un tube à hémolyse pendant 3 minutes.

On dépose une goutte du sang additionné de réactif dans la chambre à numération de la cellule HEMATIMETRE de MALLASSEZ.

On dépose a cellule couverte avec une lamelle sur le plateau du microscope optique et on observe à l'objectif 40.

On compte les leucocytes dans la moitié de la cellule (dans 5 bandes horizontales)

Le calcul .

Soit N le nombre total de leucocytes comptés dans les 5 bandes.

Il y'a N x 40 leucocytes par 1 mm^3 de sang.

3-L'équilibre leucocytaire (L'hémogramme) .

Ce test à pour but d'évaluer le taux de divers types des globules blancs qui interviennent dans la réponse immunitaire de l'organisme contre les agressions de l'extérieur.

▪ **Principe :**

Il repose sur le comptage en pourcentage (%) des globules blancs :

- Les polynucléaires neutrophiles.
- Les polynucléaires Eosinophiles.
- Les lymphocytes.

Sachant que l'ensemble du pourcentage de chaque type est égal à 100 %.

▪ **Mode opératoire :**

- On prélève une (1) goutte du sang et on la dépose sur une lame de verre.
- On fait un étalement mince du sang avec une lame.
- On agite vivement la lame dans l'appareil de coloration HEMATEC .
- On observe la lame sous le microscope optique en immersion à l'objectif 100.

Le comptage se fait à l'aide d'un compteur spéciale à touches, qui est munis d'un clavier dont chaque touche correspond à une forme de leucocyte, il enregistre automatiquement leurs nombres.

Résultats
et
discussion

III- 1. Résultat et discussion de l'étude microbiologique.

Le résultat l'étude microbiologique révèle qu'il y'a deux types de colonies après purification sur milieu HEKTOEN .

→ Les colonies de couleur jaune.

→ Les colonies de couleur vertes a centre noir

Pour l'observation des préparation microscopiques montre que les souches choisies sont GRAM négatif, Les colonies jaunes sont des GRAM- d'une forme cocobacillaire.

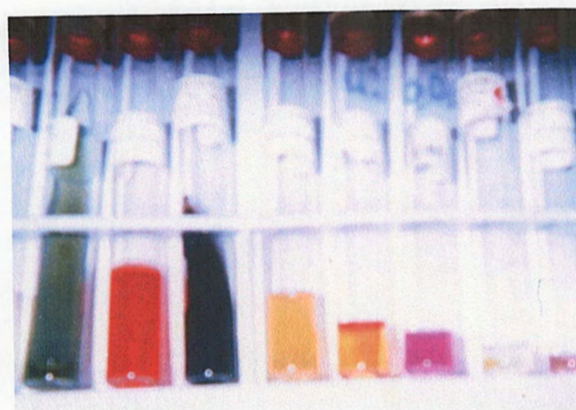
Les tests Biochimiques regroupés dans le tableau N°9 et illustrée dans la figure N° 7 et N°8 permet d'identifier deux genres distincts .

Citrobacter et *proteus* .

Ces deux genres sont des germes normaux de la flore intestinale des *Gallinacés* et donc les sujets qui sont testé sont indemne de toute germes pathogènes comme les *Salmonelles*, *pasteurelle* et autres germes qui peuvent être interférer avec nos travaux de Sérologie.

Tableau N°9 : Les tests d'identifications de deux souches bactériennes .

Type de colonie Test	Colonies Jaunes		Colonies verte à centre noir	
	Résultat positive	Résultat négative	Résultat positive	Résultat négative
GRAM		-		-
INDOLE		-	+	
UREE		-	+	
CITRATE	+			-
MANNITOLE	+			-
Mobilité			+	
LDC	+			-
ODC		-	+	
TSI	Lactose	+		-
	H ₂ S		+	
	Gaz	+		-
ADH	+			-

Figure N°7: la galerie biochimique du genre *Proteus*Figure N°8: La galerie biochimique du genre *Citrobacter* .

III-2. Résultat et discussion de l'examen sérologique « HI » test .

Le taux d'anticorps des poussins retrouvé par la méthode de l'HI test durant la période pré vaccinale (avant la vaccination) varie entre 1/256 et 1/512 (voir figure N°9).

Cette variabilité est due soit à l'hétérogénéité des taux d'anticorps des poussins transmis par des mères poules pondeuses différentes, soit à un contact des poussins avec un virus sauvage durant les premiers jours de leur vies mais qu'il n'atteint pas le taux de non protection.

Après la vaccination au 16^{ème} jour, on remarque une diminution du taux d'anticorps pour tous les lots de 1/512 au moyenne à 1/32 et 1/8 au 21^{ème} jours, soit Après 4 jours de la date de vaccination.

Cette diminution du taux d'anticorps semble être liée à la neutralisation du virus vaccinal par les AC maternels. (Voir Figure N° 10) .

5 jours après la vaccination, on remarque une hausse du taux d'anticorps du 1/8 à 1/128 au 26^{ème} jours (Figure N° 11).

L'analyse statistique par comparaison des moyennes a montré qu'il y'a entre les lots ayant reçus les bactéries lactiques et le lot témoin une variation significative ($p \leq 0.05$).
Tableau N° 10 .

Après la deuxième vaccination effectuée au 29^{ème} jours d'âge des poussins par le virus de Newcastle atténuée, on remarque une hétérogénéité du taux d'anticorps chez les différents sujets des différents lots. Cette perturbation a duré jusqu'au 33 jours. Cette variation du taux d'anticorps pourrait être expliquée par une neutralisation massive des virus vaccinaux par les anticorps produits entre le 16^{ème} jour et le 29^{ème} jour. 5 jours après la deuxième vaccination, soit à l'âge de 33 jours, on remarque une réponse vaccinale intense et fluctuante selon les lots Voire Figure N° 12 et N° 13 .

En effet, on remarque que les sujets du lot témoin, le taux d'anticorps varie entre 1/128 et 1/512 mais pour les lots qui on reçus des bactéries lactiques comme *Lb.plantarum* BJ0021 pour le premier lot, le taux d'anticorps varie entre 1/512 et 1/4096, pour le deuxième lot qui a reçus *Pc.acidilactici*, le taux d'anticorps est varié entre 1/128 et 1/1024. Cela est peut être dû à l'effet probiotique et stimulateur du système immunitaire de ces deux souches de bactéries lactiques.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportées par plusieurs études contrôlés qui ont montré qu'après administration peros des bactéries Lactiques, on a remarqué

l'augmentation de la capacité des lymphocytes à sécréter divers cytokines qui sont des médiateurs chimiques immunitaires [29].

Des travaux similaires montrent que les probiotiques entraînent une amélioration de l'immunité non spécifique liée à une augmentation des cellules circulantes capables de sécréter des immunoglobulines (Ig) [29].

Ces résultats sont en accord aussi avec des études faite par des enquêtes scientifiques qui ont démontré que des souches de bactéries lactiques ont un effet sur la modulation des réactions du système immunitaire, sur la production d'anticorps et sur les fonctions du corps [8] . .

Entre 33 et 46 jours, le taux d'anticorps pour le lot témoin varie entre 1/128 et 1/8 et qui sont des taux d'anticorps protecteurs contre la maladie de NewCastle [36] Voire Figure N°13 et N°14 .

Pour les lots expérimentaux qui ont récus des bactéries lactiques, le taux d'anticorps est varie en moyenne entre 1/512 pour les lot traité par *Lb.Plantarum BJ0021* et 1/256 pour le lot traité par *Pc.acidilactici* Voir tableau N°10 et Figure N°15 et N°16 .

Le taux d'anticorps produits par les sujets ayant reçus les *Pc.acidilactici* varie entre 1/1024 et 1/2048 après le 46ème jours d'age des poussins Voire Figure N°17.

D'après les résultats trouvés et qui restent préliminaires, les Bactéries lactiques que nous avons administrées aux sujets des lots expérimentaux semblent avoir un effet probiotique et un stimulateur de l'immunité humorale.

Il reste d'autre travaux sont nécessaires pour déterminer le site d'action de ces bactéries au niveau du système immunitaire.

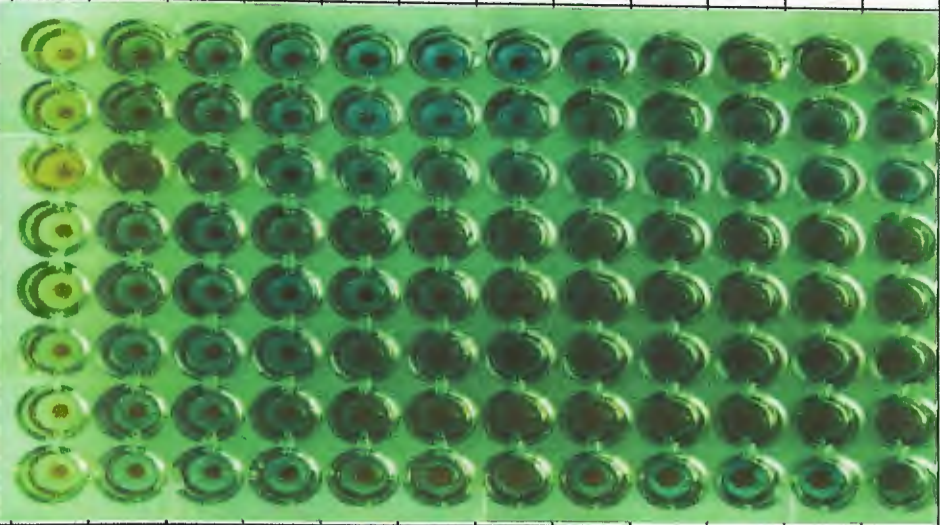
Situation			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
1 j	A	Ser T1												
	B	Ser T2												
10 j	C	Ser T1												
16 j	D	Ser T1												
	E	Ser T2												
	F	Ser T3												
21 j	G	Ser T1												
	H	Ser T2												

Figure N°9: Résultats de l'HI test au cours du 1 jour, 10 jours, 16 jour, 21 jour de lot témoin

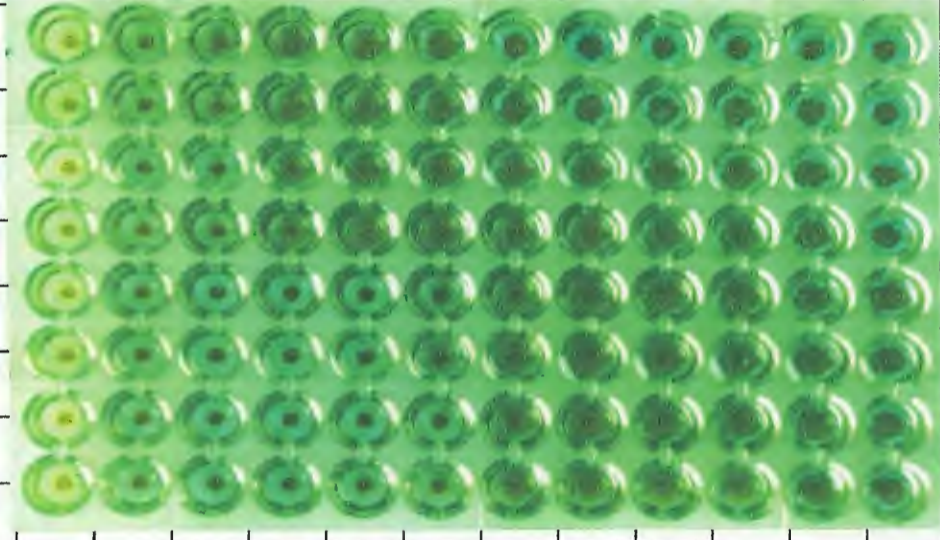
Situation			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
21 j	A	Ser T3												
	B	Ser T4												
	C	Ser Lb1												
	D	Ser Lb2												
	E	Ser Lb3												
	F	Ser Lb4												
26 j	G	Ser pc1												
	H	Ser Pc2												

Figure N° 10: Résultats de l'HI test au cours du 21 jour, 26 jour des trois lots.

Sérum			Situation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
					1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
26 j	A	Ser Pc3														
	B	Ser Pc4														
29 j	C	Ser T1														
	D	Ser T2														
	E	Ser T3														
	F	Ser T4														
	G	Ser Lb1														
	H	Ser Lb2														

Figure N° 11: Résultats de l'HI test au cours du 26 jour, 29 jour des trois lots .

Sérum			Situation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
					1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
29 j	A	Ser Lb3														
	B	Ser Lb4														
	C	Ser Pc1														
	D	Ser Pc2														
	E	Ser Pc3														
	F	Ser Pc4														
33 j	G	Ser T1														
	H	Ser T2														

Figure N° 12: Résultats de l'HI test au cours du 29 jour, 33 jour des trois lots .

Sérum			Situation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
					1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
33 j	A	Ser T3														
	B	Ser T4														
	C	Ser Lb1														
	D	Ser Lb2														
	E	Ser Lb3														
	F	Ser Lb4														
	G	Ser Pc1														
	H	Ser Pc2														

Figure N° 13: Résultats de l'HI test au cours de 33 jour des trois lots .

Sérum			Situation		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
					1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
33 j	A	Ser Pc3														
	B	Ser Pc4														
39 j	C	Ser T1														
	D	Ser T2														
	E	Ser T3														
	F	Ser T4														
	G	Ser Lb1														
	H	Ser Lb2														

Figure N° 14: Résultats de l'HI test au cours du 33 jour, 39 jour des trois lots .

Sérum		Situation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
39 j	A	Ser Lb3												
	B	Ser Lb4												
	C	Ser Pc1												
	D	Ser Pc2												
	E	Ser Pc3												
	F	Ser Pc4												
46 j	G	Ser T1												
	H	Ser T2												

Figure N° 15: Résultats de l'HI test au cours du 39 jour, 46 jour des trois lots .

Sérum		Situation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
46 j	A	Ser T3												
	B	Ser T4												
	C	Ser Lb1												
	D	Ser Lb2												
	E	Ser Lb3												
	F	Ser Lb4												
	G	Ser Pc1												
	H	Ser Pc2												

Figure N° 16: Résultats de l'HI test au cours de 46 jour des trois lots .

Sérum		Situation	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
46 j	A	Ser Pc3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B	Ser Pc4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	C	Témoin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	Témoin	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	E	Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	G	Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H	Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Figure N° 17: Résultats de l'HI test au cours de 46 jour du troisième lot avec les témoins vérifiant l'apport de quatre unités agglutinatrices.

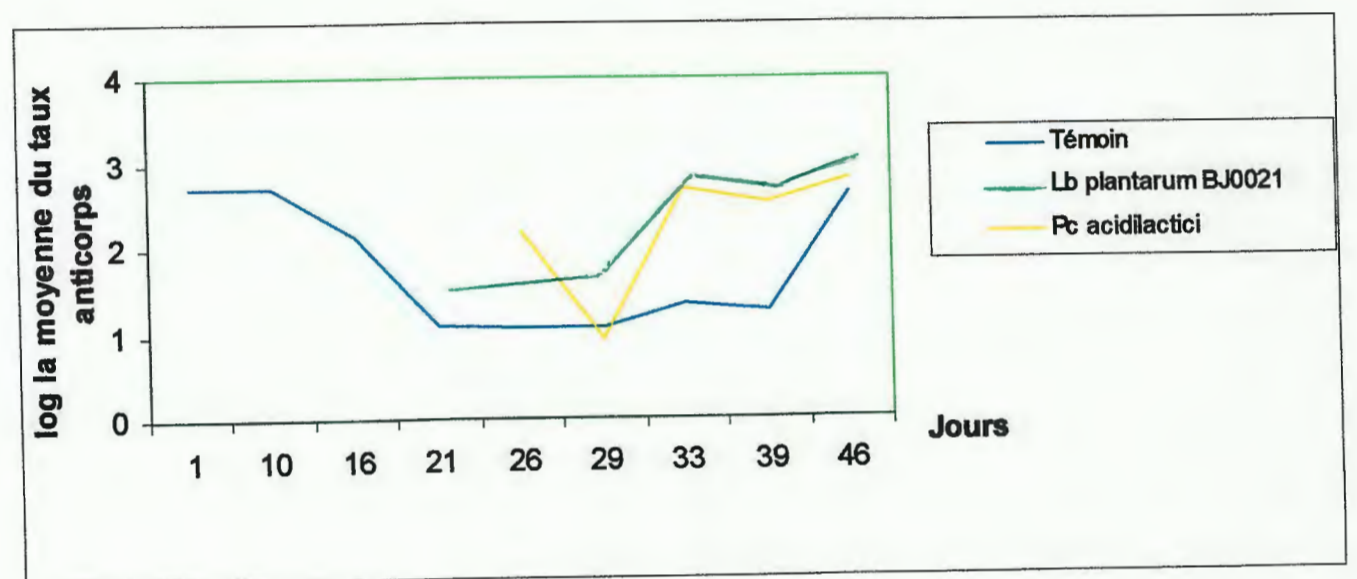


Figure N° 18 : l'évolution du log la moyenne du taux d'anticorps en fonction de l'age du poussin .

Tableau N° 10 : Evaluation du taux d'anticorps en fonction de l'âge du poussin .

Période \ Lot	Log moyenne du taux d'anticorps			Signification Statistique
	Témoin	Probiotique 1 Lb.Plantarum BJ0021	Probiotique 2 Pc.Acidilacticide	
1J	2.53	/	/	
10J	2.70	/	/	
16J	2.15	/	/	
21J	1.10	1.43	/	N.S
26J	/	/	2.19	
29J	1.06	1.66	0.93	*a*
33J	0.59	2.56	2.68	*a*
39J	1.27	2.05	2.53	*a*
46J	2.63	3.03	2.79	*a*
Signification Statistique		*a*	*a*	

III-3. Résultat et discussion de l'examen hématologique .

III-3-1. Le nombre des lymphocytes .

L'analyse de la courbe qui représente l'évolution du nombre des lymphocytes en fonction de l'âge des poussins nous a permis d'observer par comparaison des moyennes qu'il y'a une variation significative du nombre de lymphocytes entre les trois lots étudiés ($p \leq 0.05$) pendant la 4^{ème} Semaine (35 jours des poussins) voir tableau N°11 .

Ce nombre atteint des valeurs maximales chez les lots expérimentaux évalués 93 et 92 respectivement par rapport au lot témoin.

A la 5^{ème} semaines (après la deuxième vaccination), on remarque une variation du nombre des lymphocytes significative ($p \leq 0.05$) dont il varie entre 80 et 92 entre les différents lots. Figure N°19.

Notant que la valeur normale du nombre de lymphocytes est de (31-72) [30].

A la 7^{ème} semaines le nombre de lymphocytes est varié entre 83 et 94 entre les trois lots.

Le rôle de ces cellules est de connaître et identifier les Ag auxquelles le système immunitaire est confronté [27].

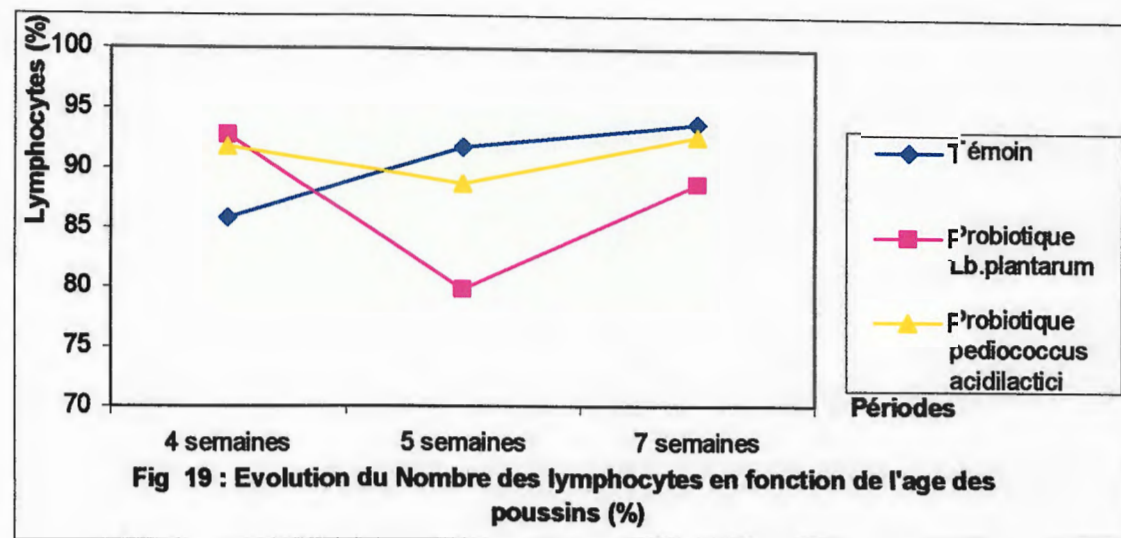
D'après ces résultats, on peut dire que les bactéries lactiques administrés semblent avoir un effet probiotique et stimulateur des cellules du système immunitaire.

Mais il reste d'autres travaux sont nécessaires pour confirmer ces résultats en étudiant chaque facteur isolé chez les sujets SPF.

Tableau N°11: Evaluation de lymphocytes en fonction d'âge du poussin (nombre/mm³ de sang) .

Période \ Lot	Témoin	Probiotique 1 <i>Lb.plantarum</i> <i>BJ002</i>	Probiotique 2 <i>P.acidilactici</i>	Signification Statistique
28 jours (S4)	86	93	92	*a*
35 jours (S5)	92	80	89	*a*
46 jours (S7)	94	83	93	*a*
Signification Statistique		*a*	*a*	

a: Variation significative .



III-3-2. Le nombre des GB .

L'analyse des données par comparaison des moyens rassemblé dans le tableau N°12 et représentés sur la Figure N°20: permet de constater qu'il y'a une variation significative ($P \leq 0.05$) du nombre de GB entre les trois lots pendant la 4^{ème} semaine (28 jours d'age des poussins).

Ce nombre atteint des valeurs maximales chez les deux lots expérimentaux évalués 19700 pour le lot qui a reçus *Lb. plantarum* BJ0021 et 1766 pour le lot qui a reçus *Pc. acidilactici*.

A la 5^{ème} semaine (d'après la deuxième vaccination), on observe une variabilité du nombre de GB entre les trois lots différents. Dont il varie entre 1500 et 18533 entre eux voir tableau N°12.

A la 7^{ème} semaine, le nombre de GB est varié entre 18766 et 20833 entre les trois lots.

Notant que le nombre des GB chez les poulets est de 20000-30000[30].

Ce type de cellules immunitaires considérées comme des macrophages qui détruisent les virus, les bactéries et autres antigènes, elles participent dans la réponse immunitaire en cas d'infection [33].

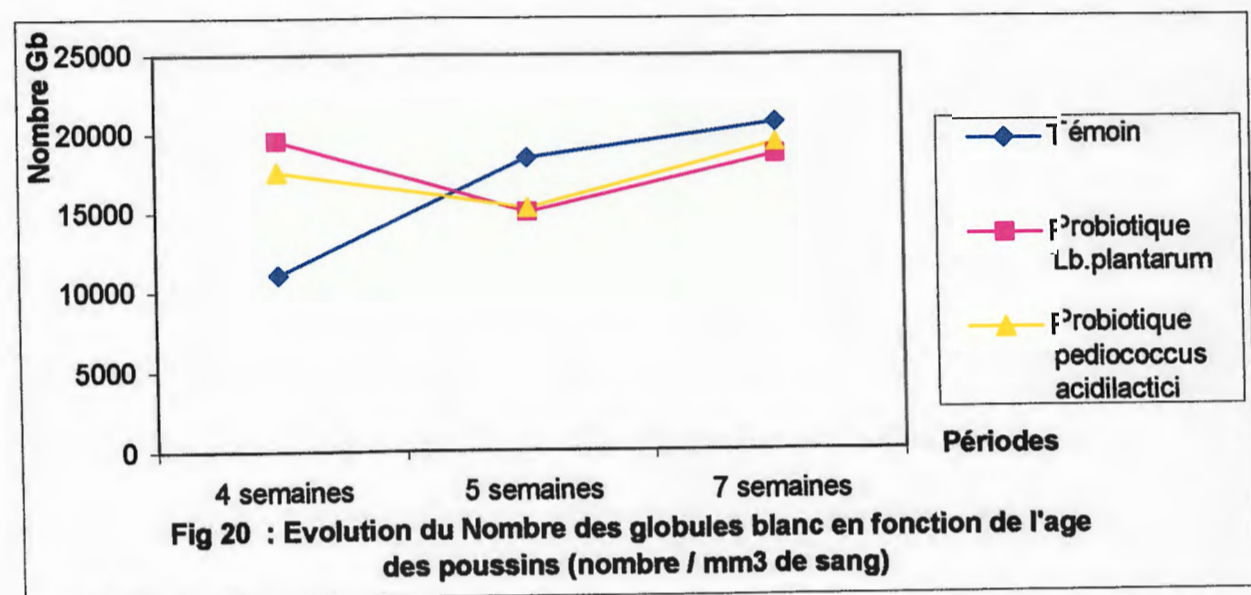
D'après ces résultats, on constat que les bactéries Lactiques administrées semblent avoir un effet et sur la Stimulation du système immunitaire en diminuant l'accès des Ag au site récepteur sur la Muqueuse intestinale. Ce phénomène ne peut être expliquer que par

l'effet de la compétition des bactéries probiotiques en empêchant les bactéries à se fixer sur la muqueuse intestinale.

Tableau N°12 : Evaluation de GB en fonction d'âge du poussin (nombre/mm³ de sang)

Période \ Lot	Témoin	Probiotique 1 <i>Lb.plantarum</i>	Probiotique 2 <i>P.acidilactici</i>	Signification Statistique
28 jours (S4)	11166	19700	17666	*a*
35 jours (S5)	18533	15100	15400	*a*
46 jours (S7)	20833	18766	19500	*a*
Signification Statistique		*a*	*a*	

a: Variation significative .



III-3-3. Le nombre des polynucléaires neutrophiles .

D'après le tableau N°13 qui résume le taux des polynucléaires neutrophiles et par une analyse statistique des données par comparaison des moyennes, on remarque qu'il y'a une variation significative ($p \leq 0.05$) du taux des neutrophiles entre les lots étudiés dont les valeurs maximales sont observé chez les deux lots à qui ont reçus les bactéries lactiques évaluée de 6 % pour tout les deux à 4^{ème} semaine. voir tableau N°13 .

Dés la 5^{ème} semaine (après la deuxième vaccination) on remarque une variabilité du taux des neutrophiles, dont il varie entre 5 % et 17 % entre les lots (figure 21).

A la 7^{ème} semaine , le nombre des polynucléaires neutrophiles est varié entre 5% et 15% entre les trois lots.

Notant que la valeur normale du nombre des neutrophiles est de 13-49 % [30].

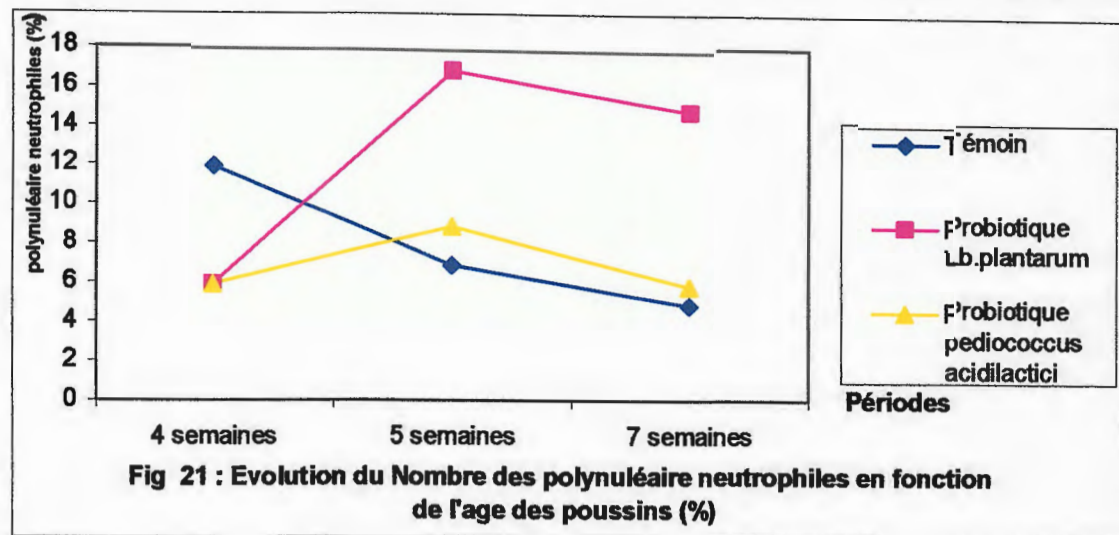
Ces cellules manifestent une importante activité phagocytaire lors des réactions inflammatoires [19].

D'après ces résultats, on peut dire que les bactéries lactiques semblent avoir un effet probiotique par stimulation du système immunitaire en modulant le taux des cellules immunitaires.

Tableau N° 13 : Evaluation de polynucléaires neutrophiles en fonction de l'age du poussin.

Lot	Témoin	Probiotique 1 <i>Lb.plantarum</i> <i>BJ0021</i>	Probiotique 2 <i>P. acidilactici</i>	Signification Statistique
28 jours (S4)	12	6	6	*a*
35 jours (S5)	7	17	9	*a*
46 jours (S7)	5	15	6	*a*
Signification Statistique		*a*	*a*	

a: Variation significative .



III-3-4. Le taux des polynucléaires Eosinophiles .

D'après le tableau N°14 qui montre le taux des cellules éosinophiles et la (Figure N°22), on observe après étude statistique par comparaison des moyennes, une variation non significative du taux des polynucléaires Eosinophiles entre les trois lots différents (voir tableau N°14) .

Le taux des Eosinophiles atteint des valeurs maximales évaluée 2 % chez le lot témoin, 3% chez le lot 1 et 2% pour le lot 2.

A la 7^{ème} semaine , le nombre des polynucléaires Eosinophiles est varié entre 1% et 2% entre les trois lots.

Notant que la valeur normale du taux de polynucléaires éosinophiles est de 2% à 4%[30].

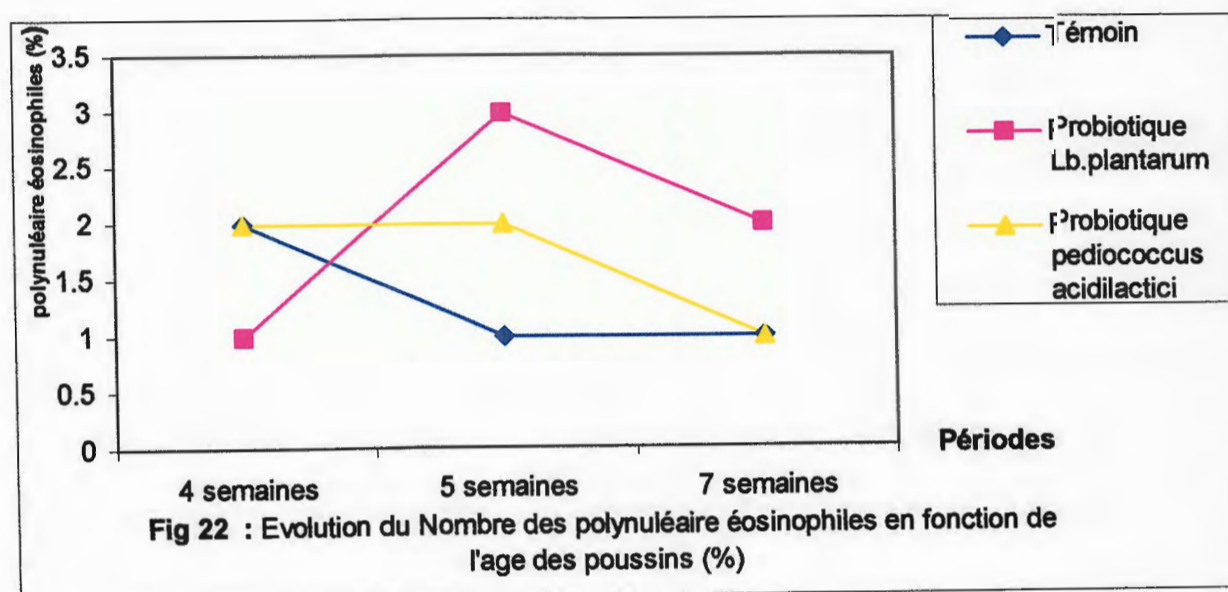
Ces cellules sont également phagocytaires mais chez les oiseaux, ses fonctions sont encore mal connues [15].

De ces résultats, nous pouvons retenir que les bactéries lactiques n'affectent pas le taux des polynucléaires éosinophiles. Il reste que d'autres travaux sont à entreprendre pour mieux comprendre le site d'action de ces bactéries au niveau des cellules du système immunitaire.

Tableau N° 14 : Evaluation de polynucléaires éosinophiles en fonction d'âge du poussin (%)

Période	Lot			Signification Statistique
	Témoin	Probiotique 1 <i>Lb.plantarum</i>	Probiotique 2 <i>P.acidilactici</i>	
28 jours (S4)	2	1	2	NS
35 jours (S5)	1	3	2	NS
46 jours (S7)	1	2	1	NS
Signification Statistique		NS	NS	

NS : Variation non significative .



La discussion générale :

Le test d'inhibition de l'hémagglutination « IH » reste le moyen le plus utilisé pour le diagnostic de la maladie de NewCastle, et surtout pour l'évaluation de la cinétique des anticorps particulièrement à la suite des vaccinations contre la maladie de NewCastle [36].

Les résultats du « HI » test montre qu'il y'a une forte production d'anticorps chez les deux lots traités par les Bactéries lactiques : *Lactobacillus Plantarum BJ20021* et *Pediococcus acidilactici* ainsi que l'examen hématologique montre que les bactéries lactiques administrés au différents lots auraient un effet bénéfique sur les paramètres hématologiques étudiées : les GB, les lymphocytes et les polynucléaires neutrophiles.

Ces résultats sont en accord avec ceux qui sont faites par des laboratoires scientifiques qui ont démontré que les bactéries lactiques ou toutes produits dérivés de ces souches peuvent protéger contre les désordres provoquée par des germes pathogènes par suite de l'inhibition d'IL4 qui induit la synthèse des IgE et l'amélioration de la balance du redox des cellules, et améliorent la défense immunitaire de l'hôte. [08].

La consommation de certaines batteries lactiques ayant un effet probiotique a pour conséquence l'augmentation du taux de lymphocytes Th (CD₄+), d'activer les lymphocytes CD25+, par ailleurs de mesures in vivo montrent que les activités phagocytaires des lymphocytes mononucléaires et polymorphonucléaires des animaux vivants ainsi que l'activité antitumorale des lymphocytes Natural Killer sont stimulées [1].

Certains auteurs ont montré que la consommation des probiotiques est considérée comme efficace pour stimuler certaines fonctions de l'immunité [1].

Ces résultats restent insuffisants, ils restent d'autres travaux complémentaires sont nécessaires pour le site d'action précise des probiotiques sur le système immunitaire.

Conclusion :

D'après les résultats obtenues, il semblerait que l'ingestion des deux souches de bactéries lactiques *Lactobacillus plantarum* BJ0021 et *Pe.acidilactici* par l'espèce *Gallus gallus* à un effet bénéfique et stimulant sur le système immunitaire.

En effet, les résultats du dosage des Ac par la méthode de l'HI test après la vaccination contre la maladie de Newcastle révèle que les lots ayant reçus les bactéries lactiques ont réagit d'une manière aussi rapide que intense contre le virus vaccinal.

Enfin, l'usage des probiotiques en alimentation aviaire est encore à l'état expérimentale et il reste d'autres travaux sont nécessaires afin de comprendre la variabilité des résultats, Déterminer avec précision la ou les souches probiotiques susceptible d'être efficaces en sachant que les meilleurs résultats sont le plus souvent obtenus avec des préparations sélectionnées en fonction de l'effet désiré.

Références Bibliographiques :

- [1]. **ARVOLA .T. , SALMINEN .S. , KIRJAVAINEN .P.,2001.** Les probiotiques :FEMS immunol Med microbiol p(1-7).
- [2]. **BOUCHAIR .A ., 1995 .** Evolution de la Bursite infectieuse de 1991-1995 : Cas du complexe avicole de Bir et Djir. Université de Mostaganem p5.
- [3]. **BOURGOIS. C.M. , LARPENT .J.P, 1996 .** Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentation alimentaire. Tome 01 . Tec et DOC, lavoisier .
- [4]. **BOURGOIS. C.M. , LARPENT J.P, 1996 .** Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentation alimentaire. Tome 02 . Tec et DOC, lavoisier p7.
- [5]. **BOUSSEBOUA .H. ,2000.** Element de microbiologie générale,Algerie p153.
- [6]. **CAROLE . L. ,VIGNOLA ., 1002 .**Science et technologie du lait – transformation du lait, Canada p113.
- [7]. **CHARLEMAGNE .J. ,1989.** Le système immunitaire .paris p34.
- [8]. **EUROTEXT.J.L., 1999 .** Immunity and probiotics . Paris p8.
- [9]. **GASTELLANOS .M., , LARPENT .J.L . , LARPENT J.P., 1994 .** les pro biotiques en alimentation animale et humain p9.
- [10]. **GOUNIER .C. , CHATEAU .N., 1994 .** les probiotiques en alimentation animale et humaine. Tec et Doc, lavoisier p8-9-43.
- [11]. **GUIRAUD.J.P., 1998 .** Microbiologie alimentaire 1^{iere} édition. Dunod, paris p91.
- [12]. **HOECHST .R. , SANOFI., 1999 .** Filières avicole de l'élevage à la transformation des volailles et des œufs, N°=613 p85.
- [13]. **IDOUIT ., 2002 .** Effet de deux Doses probiotiques *lactobacilles plantarum* « BJ0021 » sur et les performances zootechniques, et la flore endogène d'un monogastrique « poulet ». Université de Jijel.

- [14]. **IDOUIT ., 2004 .** Etude de l'effet d'un probiotiques *lactobacilles plantarum* « BJ0021 » sur la flore endogène et les performances zootechniques d'un monogastrique « poulet ». Université de Jijel p3-4-6.
- [15]. **IVAN . R ., JONATHAN . B ., DAVID . N., 1986 .** Immunologie fondamentale et appliquée p34-35-36.
- [16]. **LAMBIN .S. , AGERMAN. ,1969.** Précis de microbiologie .2eme édition p199.
- [17]. **LARPENT .J.P., LARPENT .M. , GOURGAUD ., 1997 .** Mémento – technique de microbiologie. 3^{ième} édition, Paris p549.
- [18]. **LECLERE H., GAILLARD . J.L et SIMONET . M., 1995 .** Microbiologie générale « la bactérie et le monde bactérienne » p144.
- [19]. **LETONTUREER .p.,2001.** Immunologie générale .7eme édition p39.
- [20]. **LEVEAU .J.Y . BOUIX .M., 1993 .** Microbiologie industrielle p171-181-310.
- [21]. **LEVEAU J.Y ., BOUIX .M. , DEROISSART .H., 1991 p2-40 .** Techniques d'analyse et de contrôle dans les I.A.A.Tec et Doc, lavoisier.
- [22]. **LEYRAL.G., FIGARELLA .J. , TERRET. M., 1999 .** la microbiologie générale. Tome 01 p148.
- [23]. **MALOINE .S.A., 1979 .** Pathologie de volailles .édition paris.p27-70.
- [24]. **MARIN .K.M. , RIEUTORD.D., 2004 .** probiotiques « Bilan et perspectives » p4-6-8.
- [25]. **MEULEMANS .G. VINDEVOGEL H ., 1999 .**Manuel de Pathologie aviaire p77-78-81-83-89-91-115-117.
- [26]. **MOLLEREAU .H., PORCHER . C ., NICOLAS .E., 1995 .** vétérinaire. 6ème Edition.
- [27]. **PASTORD.P.P. , GOVAERTS .A. , HERVE .B., 1990 .** Immunologie animale. Paris p459-461-462-464-467.
- [28]. **PRESCOH., HARLEY . , KLEIN., 1993 .** Microbiologie. 2ème édition p1413.

- [29]. **ROBIN .J.M. , ROUCHY .A, 2001 . les probiotiques (Nutranews)**
p70-124-129-705.
- [30]. **RULLIER .J ., PARODI .A., 1968 . « laboratoire et diagnostic en**
médecine vétérinaire. Vigot Edit, Paris p85.
- [31]. **SUTRA .L, FEDERIGHI .M. LOUIS.J. JOURVE .,**
1998 . Manuel de Bactériologie alimentaire. Paris p248.
- [32]. **THONIERES .C. , 2000 . CEVA Santé animale au Maghreb.**
L'aviculture. Maghreb p19.
- [33]. **VILLATE .D ., 1997 . Manuel pratique – les maladies des volailles-,**
France agricole p65-67-68-69-71-73-149-151-156-226.
- [34]. **WOLTER .R. , et NiCOLE .H., 1982 . les probiotiques en**
alimentation (médecine vétérinaire) p284.
- [35]. **YVES .D., 2000 . La bioprotection des aliments p14-21-26.**
- [36]. **ZARROUK.K, 1992 . Maghreb vétérinaire. Vol 6, N°=26 p 23-24-**
27.

Annexes

Réactif :

1/ Violet de gentiane :

Violet de gentiane	1 g
Ethanol à 90%	100 ml
Phénol	2 g
Eau distillée	100 ml

2/ Fuschine de ziel :

Puschine basique	1 g
Alcool éthylique à 90 %	100 ml
Phénol	5 g
Eau distillée	100 ml

3/ Lugol :

Iode	1 g
Indure de potassium	5 g
Eau distillée	100 ml

4/ KOVACS :

Alcool amylique ou isoamylique	150 ml
P.étiméthylaminobenzaldéhyde	10 g
Acide chlorhydrique Concentré	50 ml

Avec l'ajout de l'acide en dernier et lentement. Conserver à + 4°C

5/ Mannitol mobilité

Peptone	20 g
Nitarte de potassium	1 g
Mannitol	2 g
Rouge de phénol	10 mg
Gélose	4 mg

6/ TSI

Peptone	20 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3g
Chlorure de Sodium	5 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Saccharose	0.5 g
Hyposulfite de Sodium	0.5 g
Rouge de phénol	25 mg
Gélose	12 g

7/ Citrate de Simmons

Formule en gramme par litre d'eau distillée

Sulfite de magnésium	0.2 g
Citrate de Sodium	2 g
Chlorure de Sodium	5 ml
Phosphate d'ammonium	0.2 g
Bleu de bromothymol	0.08 g
Agas	15 g

Annexe

1/ Clarks et Lubs

Peptone	10 g
Phosphate Potassium	2 g
Glucose	5 g
pH 7, Autoclaver 20 mn à 120 °C .	

2/ ODC

Ornithine	5 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de Sodium	5 g
Glucose	1 g
Pourpe de Bromocrésol	16 mg

3/ ADH

L'arginine	5 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de Sodium	5 g
Glucose	1 g
Pourpe de Bromocrésol	16 mg

4/ LDC

Lysine	5 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de Sodium	5 g
Glucose	1 g
Pourpe de Bromocrésol	16 mg

Les milieux de culture :

1/ Gélose HEKTOEN

Protéose- peptone	12 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de Sodium	5 g
Thiosulfate de Sodium	5 g
Sels biliaires	9 g
Citrate de fer ammoniacal	1.5 g
Salicine	2 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Fuschine acide	0.1 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Gélose	13 mg

Annexe

Les résultats de l'examen hématologique :

L'âge des poussins	Lot	Nombre des GB/mm ³ de sang	Hémogramme (%)		
			Polynucléaires Lymphocytes	Polynucléaire Neutrophile	Polynucléaire Eosinophiles
28 jours (S4)	T1	9600	86	13	01
	T2	7500	83	15	02
	T3	16400	90	08	02
	Lb1	19500	90	07	02
	Lb2	20000	96	04	-
	Lb3	19600	93	06	02
	Pc1	16500	92	08	-
	Pc2	18500	93	06	01
	Pc3	18000	92	05	03
35 jours (S5)	T1	16300	93	06	01
	T2	15300	85	12	01
	T3	24000	97	2	01
	Lb1	15300	81	16	03
	Lb2	14600	79	20	01
	Lb3	15400	80	15	05
	Pc1	14500	92	08	-
	Pc2	15500	85	12	05
	Pc3	16200	90	07	03
46 jours (S7)	T1	23000	96	03	01
	T2	20000	93	06	01
	T3	19500	92	06	02
	Lb1	18300	81	16	03

Lb2	19500	86	14	-
Lb3	18500	82	16	02
Pc1	20000	94	04	02
Pc2	19500	93	07	-
Pc3	19000	91	08	01

Récapitulation des résultats du taux d'anticorps de l'HI test .

Age de poussins en jours	Moyenne du taux d'AC	Log taux d'AC
1j (T)	0.0029	2.53
10j (T)	0.0019	2.70
16j (T)	0.0071	2.15
21j (T)	0.078	1.10
21j (Lb)	0.037	1.43
26j (Pc)	0.0063	2.19
29j (T)	0.085	1.06
29j (Lb)	0.021	1.66
29j (Pc)	0.11	0.93
33j (T)	0.25	0.59
33j (Lb)	0.0027	2.56
33j (Pc)	0.0021	2.68
39j (T)	0.052	1.27
39j (Lb)	0.0088	2.05
39j (Pc)	0.0029	2.53
46j (T)	0.0023	2.63
46j (Lb)	0.0009	3.03
46j (Pc)	0.0016	2.79

Annexe :
 Test du comparaison des moyennes
 Tableau d'analyse des variances :

(1) Origine	(2) somme des cartes des écarts	(3) ddl	Variance (2) / (3)	F
Entre colone	$\Sigma \frac{T_i^2}{n_i} - \frac{TG^2}{N}$	C-1		
Intra colone (résiduelle)	$\Sigma x^2 - \Sigma \left[\frac{T_i^2}{n_i} \right]$	N-C		
Total	$\Sigma x^2 - \frac{TG^2}{N}$	N-1		

Legende :

C : Nb de colonnes

n_i : Nb de mesures dans la colone i

N : Nb total des mesures :

Ti : total des mesures dans la colone i

TG : total général des mesures :

Les moyennes different significativement dans leurs ensemble au risque 5 % si F dépasse la limite f_{c-1} lue dans la table de F (point 5%) pour le degré de liberté (c-1) et (N-C).

Résumé :

Notre étude porte sur l'effet modulateur de deux souches de bactéries lactiques ; *Lactobacillus plantarum* Bj0021 et *Pediococcus acidilactici* sur le système immunitaire chez les poulets de chair ayant reçus un vaccin virale « La Hitchler B1 » par nébulisation contre la maladie de New castle .

Le test d'inhibition de l'hémagglutination « HI » a été réalisé dans le but de doser les anticorps post-vaccinaux. Ainsi que l'examen hématologique a été réalisé dans un but d'avoir l'effet de ces bactéries lactiques sur quelque paramètres hématologiques dont le but générale de cette étude est d'évaluer l'immunité chez les lots expérimentaux en comparaison avec un lot témoin .

D'après les résultats, il semble que *Lactobacillus plantarum* Bj0021 et *Pediococcus acidilactici* ont un effet probiotique et stimulateur en améliorant le système immunitaire.

***Mots clés :**

Probiotiques, vaccination, HI test, post-vaccinaux, poulets de chair, Newcastle.

Abstract:

Our survey is about the effect modulator of two lactic bacterium stumps; *Lactobacillus plantarum* Bj0021 and *Pediococcus acidilactici* on the immune system at the chickens of flesh having received a viral vaccine " The Hitchler B1 " by nébulisation against the illness of New castle.

The test of inhibition of the HI hémagglutination has been achieved in the goal to measure out the post-vaccinal antibiotic. as well as the hematological exam has been achieved in a goal to have the effect of these lactic bacteria on some hematological parameters of which the general goal of this survey is to value immunity at the experimental shares in comparison with a share witness.

According to these results, it seems that *Lactobacillus plantarum* Bj0021 and *Pediococcus acidilactici* have an effect probiotic and stimulative while improving the immune system.

***Key words:**

Probiotics , vaccination , HI test, post-vaccinal , chickens of flesh, Newcastle.

ملخص:

دراستنا تقوم حول تأثير سلالتين من بكتريا حمض اللاكتيك *Lactobacillus Bj0021 plantarum* و

Pediococcus acidilactici على الجهاز المناعي عند الدجاج الذين لقحوا بلقاح فيروسي ضد مرض النيوكستل بطريقة التقطير

تقنية تثبيط التراص الدموي « HI » أجريت بغرض تقدير كمية الأجسام المضادة بعد التلقيح كذلك أجريت دراسة دموية بغرض معرفة تأثير هذه البكتيريا على بعض مكونات الدم والهدف العام من هذه الدراسة هي تقييم المناعة عند الفئدة المجرب عليها مقارنة مع المجموعة الشاهدة.

بعد النتائج المحصل عليها يبدو أن *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus Bj0021 plantarum* لها تأثير محفز وذلك بتحسين الجهاز المناعي .

***الكلمات المفتاح:**

تلقيح، المحفزات، تقنية تثبيط التراص الدموي ، أجسام مضادة بعد التلقيح ، دجاج ، مرض النيوكستل .