

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire

En vue de l'obtention du
Diplôme de Master Vétérinaire

Etude biochimique et sérologique sur des agneaux issus de foyers atteints par la Fièvre Aphteuse dans la région de Ghardaïa

Présenté par :

HADJADJ Ouafa

Soutenu le : 30 /01 / 2019.

Devant le jury composé de:

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| - Présidente : Dr. MIMOUNE N. | Maître De Conférences Classe A. |
| - Promotrice : Dr. AMIRECHE.F. | Maître De Conférences Classe A. |
| - Co-promotrice: Dr. BAAZIZI. R. | Maître De Conférences Classe A. |
| - Examineur 1 :.Dr. BAROUDI Dj. | Maître De Conférences Classe A. |
| - Examinatrice 2 : Mme. AINOUZ L. | Maître De Conférences Classe B. |

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Allah qui nous a donné la volonté et la patience afin de finir notre étude.

A Madame AMIRECHE F.

Il m'est agréable d'exprimer mes remerciements à ma chère promotrice. Je vous remercie d'abord pour m'avoir aidé et consacré tout au long de travail. Je n'oublierais jamais votre disponibilité et votre accueil chaleureux qu'ils sont réservés malgré vos occupations. Vos conseils ont été d'un grand apport pour la réalisation de ce travail.

Trouvez ici l'expression de mon administration, de ma reconnaissance et mon respect.

A Madame BAAZIZI R.

J'ai toujours trouvé auprès de vous un accueil et une constante disponibilité, ainsi que votre bienveillance, particulièrement tous vos conseils très instructifs, ce qui m'a permis l'élaboration de ce travail.

Je vous remercie d'avoir assuré le Co-encadrement de ce travail. Sincères reconnaissances.

A NOTRE JURY :

A Madame MIMOUNE N.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury.

Après tant d'années de transmission de votre savoir, vous avez eu la gentillesse de bien vouloir examiner ce travail.

Nous tenons à reconnaître votre passion à élever nos connaissances scientifiques et nous saluons vos efforts constructifs déployés. Veuillez croire en ma profonde gratitude et mon profond respect.

A Monsieur BAROUDI Dj.

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury. Nous avons été assouvis de vos explications et enseignements durant notre formation. Nous vous remercions pour votre disponibilité. A vous, nous présentons Hommages et Respect.

A Madame AINOUZ L.

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury.

Au regard de votre expérience, votre examinations apporte un plus certain sur la qualité de ce travail. Veuillez accepter notre sincère reconnaissance.

J'aimerais exprimer aussi ma gratitude au Dr.ZOUAMBI B, vous avez ouvert vos portes sans aucune hésitation

Je remercie également, Mme. DJELLOUT B. et Mme ZWAWI M. pour leurs aides et leurs bénéfiques orientations.

Finalement, je remercie Dr. BAHEDDI, Dr. MADANIE H et Dr. OMANI A qui ont collaboré à la réalisation de ce modeste travail.

Et à toutes personnes ayant collaboré de près ou de loin.

DEDICACE

A mon père,

Qui m'a toujours soutenue tout au long de mes études, et qui a toujours su respecter mes choix. Qu'il trouve dans ce travail le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma mère,

Qui a toujours été là dans les moments de doutes, Pour son écoute, sa tendresse et son énergie.

A mes sœurs, Baya et Malika,

Pour leurs soutien et leurs complicité.

A mes frères, Brahim et Sid Ahmed Nabil,

Pour leurs écoute, leurs sourire... Pour ce qu'ils sont, tout simplement

A mes neveux, Abd Allah, Brahim et Meriem

A ma grande famille.

A Imane, Yasmine, et Amira

Pour ces années passées ensemble, pour leurs amitiés, et pour leurs complicités.
Essayons de ne jamais perdre contact.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 :	Représentation schématique du virus de la fièvre aphteuse	6
Figure 02 :	Démonstration de la réalisation d'un prélèvement à partir de la veine jugulaire	23
Figure 03 :	Étapes de conditionnement des échantillons	24
Figure 04 :	Préparations des sérums	44
Figure 05 :	Étapes d'analyse sérologique en cas de Fièvre Aphteuse.	45
Figure 06 :	Illustration de la méthode ELISA de compétition	46

LISTE DES PHOTOS

Photo 01 :	Salivation avec des écoulements nasals	10
Photo 02 :	Boiterie. Les lésions des pieds peuvent amener les animaux à écarter leurs pieds antérieurs	10
Photo 03 :	Erosion (vésicule rompue) au niveau de la gencive d'un bovin	10
Photo 04 :	Vésicule rompue au niveau de la muqueuse buccale d'une chèvre	10
Photo 05 :	Dans la narine, une vésicule intacte	10
Photo 06 :	Erosions et ulcères de la muqueuse, au niveau de la langue	10
Photo 07 :	Lésion au niveau de la couronne	11
Photo 08 :	Erosions et ulcération des trayons	11
Photo 09 :	Erosions de forme irrégulière au niveau de la muqueuse du rumen	11
Photo 10 :	Cœur d'un mouton avec une nécrose du myocarde	11
Photos 11 :	Lésions présentes dans d'autres foyers atteints de FA, dans la même région	22
Photo 12 :	Les échantillons avec présence d'hémolyse	26
Photo 13 :	Paillasse de travail	28
Photo 14 :	Portoir des tubes	28
Photo 15 :	Micropipettes	28
Photo 16 :	Embout pour micropipettes	28
Photo 17 :	Spectrophotomètre avec les cuvettes	29
Photo 18 :	Centrifugeuse	29
Photo 19 :	Baine marie thermostaté	29
Photo 20 :	Chronomètre	29
Photo 21 :	Kit du dosage du glucose	29
Photo 22 :	Kit du dosage des protéines totales	29
Photo 23 :	Kit du dosage de l'urée	30
Photo 24 :	Etape d'incubation et virage de couleur vers le violet	32
Photo 25 :	Etape d'incubation et virage de couleur	33
Photo 26 :	pH mètre	35
Photo 27 :	Entrée du LCV	43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :	Information sur les prélèvements	22
Tableau 02 :	Informations sur la provenance des animaux prélevés	23
Tableau 03 :	Méthodes analytiques biochimiques	27
Tableau 04 :	Protocole du dosage expérimental du glucose	31
Tableau 05 :	Protocole du dosage expérimental de protéine total	32
Tableau 06 :	Protocole du dosage expérimental d'urée	33
Tableau 07 :	valeurs usuelle des paramètres sanguins dosés chez l'ovin.	34
Tableau 08 :	Taux de glucose pour chaque agneau	36
Tableau 09 :	Résultats du dosage de protéine totale	37
Tableau 10 :	les résultats obtenus concernant le dosage de l'urée	37
Tableau 11 :	les valeurs de pH des sérums	38

LISTE DES ANNEXES

- Annexe 01 :** Recommandations pour le stockage des différents constituants du plasma ou du sérum rapidement séparé des éléments cellulaires.
- Annexe 02 :** Paramètres stables dans le sérums.
- Annexe 03 :** Référentiels des paramètres sanguins utilisés par le laboratoire de Biochimie (ENSV) (Plumb's Veterinary HandBook).

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : Celsius

AC : Anticorps

AG : Acide gras

Ag : Antigène

AGV : acide gras volatil

ALAT : Alanine Amino-Transférase

ASAT :Aspartate-Amino-Transférase

c-ELISA : competitive ELISA (ELISA compétition)

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay (dosage immuno-enzymatique sur)

FA : Fièvre Aphteuse

FC : Fixation du complément

FMD: Foot and Mouth Disease (Fièvre Aphteuse)

FMDV : Foot and Mouth Disease Virus (virus de la Fièvre Aphteuse)

g: Gramme

G: Glucose

GOD: Glucose oxydase

INMV : Institut Nationale de la Médecine Vétérinaire

l: Litre

LCV : Laboratoire Central Vétérinaire

mg : Milligramme

NSP : protéine non-structurale

PAL : Phosphatases alcalines

POD : Peroxidase

PT : Protéine Totale

RT-PCR : Real-time polymerase chain reaction (amplification en chaîne par polymérase)

SAT : Southern African Territories

Sem : Semaine

SN : Séroneutralisation

SP : protéine structurale

SPCE : Solid phase compétitive ELISA (ELISA compétition en phase solide)

T° : Température

U : Urée

VP : protéine virale

SOMMAIRE

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Fièvre Aphteuse

I. Définition	05
II. Etiologie	05
II.1. Classification	05
II.2. Structure et Composition	05
II.3. Pouvoir pathogène	07
II.4. Pouvoir antigène et immunogène	07
II.5. Espèces affectées	07
III. Symptômes	08
IV. Lésions	09
V. Diagnostic	12
V.1 Diagnostic Clinique	12
V.1.a. Eléments clinique	12
V.1.b. Eléments épidémiologiques	13
V.2 Diagnostic expérimental	13
V.2. a. Prélèvements	13
V.2.b. Analyses	13

Chapitre 02 : Analyses biochimique

I. Définition et composition du sérum	15
II. Définition et importance de la biochimie clinique	15
III. Signification de quelque paramètre biochimique sanguin	16
III.1. Albuminémie	16

III.2. Urée	16
III.3. La créatinine	17
III.4. Les phosphatases alcalines (PAL)	17
III.5. Alanine Amino-Transférase (ALAT) et Aspartate-Amino- Transférase (ASAT)	18
III.6. Glucose	18
III.7. Protéines totales	19
III.8. créatine kinase (CK)	19

Partie expérimentale

I. Objectifs	21
I. Matériels et méthodes	22
I.1 Animaux prélevés	22
I.2 Prélèvements	23

Partie 01 : Analyses biochimiques

I. Etude biochimique	26
I.1 Choix des paramètres	26
I.2. Techniques du dosage biochimique.....	26
I.3 Méthodes utilisées	30
I.4 Valeurs référentiels.....	34
I.5. Dosage du pH	35
II. Résultats	36
II .1.Glycémie	36
II .2.Protéines Totales	36
II.3. Urémie	37

II.4. pH	38
III. Discussion	39
 Partie 02 : Analyses sérologique	
I. Etude sérologique	42
I. 1. Présentation du Laboratoire	42
II.2. Etapes de la réalisation des analyses sérologiques	43
III. Résultats	46
IV. Discussion	47
 Conclusion et recommandations	48

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

INRODUCTION



La fièvre aphteuse (FA) est une maladie transfrontalière, virale hautement contagieuse des mammifères domestiques et sauvages (OIE, 2009).

La maladie touche les bovins et les porcs, ainsi que les ovins, les caprins et d'autres artiodactyles sauvages notamment les éléphants et les girafes.

Elle se caractérise par une éruption vésiculeuse sur les muqueuses et sur la peau située dans la bouche, entre les onglons, sur la mamelle. Toutes les espèces de cervidés et d'antilopes, ainsi que

Dans une population sensible, la morbidité est proche de 100%. La maladie est rarement fatale chez les animaux adultes mais la mortalité est élevée chez les jeunes en raison de la survenue d'une myocardite ou par défaut d'allaitement si leur mère est atteinte par la maladie (OIE / Iowa State University, 2007).

La FA dénommée Foot and Mouth Disease (FMD) chez les Anglo-Saxons, est soumise à une déclaration obligatoire dans la plupart des pays, du fait des pertes économiques considérables qu'elle engendre. Les épidémies entraînent des conséquences économiques importantes en raison de pertes directes, telles que la faible production de lait et de viande, les coûts de traitement, ainsi que les limitations du commerce d'animaux et de produits d'origine animale (NAMpanya et al., 2012 ;PERRY et RICH,2007)

En raison de sa distribution mondiale et des pertes économiques qu'elle occasionne au niveau du bétail dans les pays touchés, la FA est considérée par l'Organisation mondiale de la Santé animale (OIE, 2009) depuis l'éradication réussie de la peste bovine, comme l'une des plus importantes maladies animales.

Au cours des dernières années, on a assisté à une recrudescence de la maladie avec de nombreux foyers affectant des millions d'animaux et occasionnant d'importantes pertes économiques en Asie, en Amérique latine et en Afrique. Ceci a suscité une attention accrue des organisations internationales sur la maladie et son contrôle.

La Fièvre Aphteuse (FA) a affectée fortement le cheptel en Algérie, elle a touchée presque la totalité du territoire nationale et elle a causée des ravages.

Elle a été signalée plusieurs fois, dont celle de 1999 puis celle de 2014 - 2015, où 431 foyers ont été déclarés dans le nord du pays. La dernière épizootie a été relevée durant l'année 2018-2019.



La présente étude est une suite du projet de fin d'étude (PFE) intitulé 'Enquête Epidémiologique sur la Fièvre Aphteuse et la Peste des petites ruminants dans la région de Ghardaïa durant les épizooties de 2018-2019' où des prélèvements sanguins, sur tubes secs, ont été prélevés.

De ces prélèvements, leurs sérums collectés font l'objet d'analyses biochimiques et sérologiques qui est le thème de ce mémoire, afin d'étudier les changements des paramètres sanguins chez les animaux atteints de FA ainsi que de recueillir les méthodes de diagnostic et de la maladie.



Chapitre 01 : Fièvre Aphteuse

I. Définition

La fièvre aphteuse (FA.) est une maladie infectieuse virale, virulente, inoculable, épizootique, d'une contagiosité à la fois très rapide et très subtile, nécessitant des mesures sanitaires draconiennes (Toma et al, 2014). Elle est due à un virus de la famille des Picornaviridae. Sa dénomination est tirée des symptômes qu'elle génère (Toma et al, 2014).

Elle touche affecte les grands animaux domestiques et sauvages, à anglois pair.

II. Etiologie

II.1. Classification

C'est un petit virus de la famille des Picornaviridae et du genre Aphthovirus. Il existe 7 génotypes de virus : les génotypes O, A et C sont des virus cosmopolites, les génotypes SAT1, 2 et 3 sont sud-africains et le génotype Asia est, comme son nom l'indique, asiatique. Ces génotypes sont pour la plupart divisés en plusieurs sous-types, particulièrement le génotype A, du fait de leur grande variabilité antigénique. Cependant, la classification actuelle adoptée par le Laboratoire mondial de référence de Pirbright est basée sur le génotype, le pays d'origine et l'année, (exemple : C/France/81 ou A/Iran/99).

II.2. Structure et composition

Le virus est d'une petite taille mesurant de 20 à 28 jusqu'à 30 nm de diamètre, Il est dépourvu d'enveloppe et il est à ARN monocaténaire de polarité positive.

Le virion aphteux a la forme d'un icosaèdre (figure 01), forme géométrique à 20 faces, 30 arêtes et 10 sommets.

Le virion est formé d'un cœur central d'acide nucléique (31%) et d'une capsidie protéique (69%) composée de 20 capsomères. Il ne contient ni glucide ni lipide, d'où son insensibilité aux solvants des lipides.

Les protéines de la capsidie sont au nombre de 4 protéine virale (Figure 1) :VP1, VP2, VP3 et VP4, (VP1, VP2 et VP3, cinq fois répétées, constituent une face de l'icosaèdre (particule 12S).



La protéine virale VP4 est une protéine interne à la capside. Elle sert à rattacher l'ARN viral à la surface intérieure de cette boîte protéique qu'est la capside (TOMA et al, 2010).

Des protéines non structurales interviennent dans la réplication du virus. La recherche des anticorps correspondants est utilisée pour détecter l'infection d'animaux vaccinés (TOMA B et al, 2010).

Le polypeptide VP1, le plus externe, intervient dans la fixation du virus sur les cellules et constitue l'un des éléments structuraux immunogènes essentiels. Sa structure est à la base des travaux de génie génétique et de génie chimique ; sa séquence précise a pu être publiée pour de nombreuses souches. La protéine VP1 seule est beaucoup moins immunogène que la particule virale complète, en effet, la structure spatiale de la VP1 seule est différente de celle de la VP1 sur la particule virale (TOMA et al, 2010).

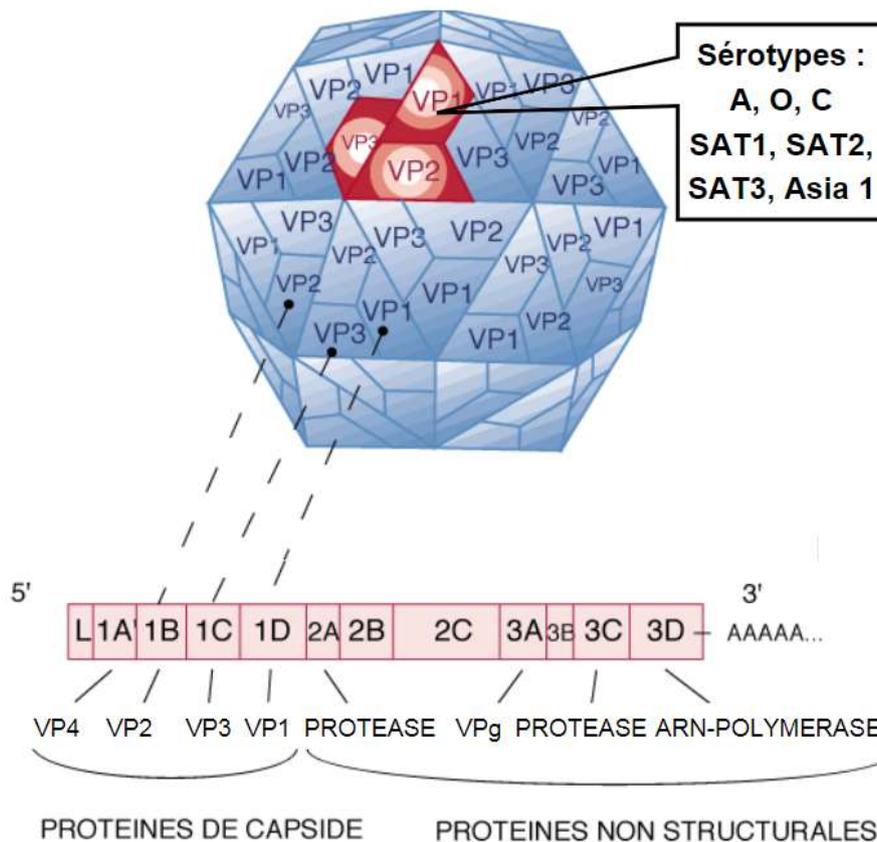


Figure 01 : Représentation schématique du virus de la fièvre aphteuse (THIRY et BAAZIZI, 1999).



II.3. Pouvoir pathogène

Le virus de la fièvre aphteuse se multiplie essentiellement dans la peau et les muqueuses, accessoirement dans le muscle, ce qui explique les dégénérescences cardiaques responsables de la mort chez les jeunes animaux.

II.4. Pouvoir antigène et immunogène

L'infection par le virus aphteux entraîne l'apparition d'anticorps et l'installation d'une immunité spécifique. Les anticorps sont détectables par séro-neutralisation, ELISA ou fixation du complément. C'est le virion complet qui est immunogène mais la protéine la plus externe, appelée VP1, est seule responsable de l'immunité. Du fait de la pluralité des souches et de la spécificité de cette protéine, l'immunité qu'elle confère ne protège pas contre tous les virus : un même animal peut donc être atteint par plusieurs types de virus de fièvre aphteuse en même temps, ou successivement. Les anticorps produits par une infection sont dirigés à la fois contre les protéines structurales (notamment VP1, qui porte les épitopes neutralisants) et non structurales du virus, tandis que les anticorps produits lors d'une vaccination à l'aide d'un vaccin purifié ne sont dirigés que contre les protéines structurales, ce qui permet de différencier les animaux infectés des animaux vaccinés ; la technique ELISA 3ABC est la plus utilisée. Les anticorps apparaissent dès la première semaine (1 sem) qui suit l'infection, atteignent leur maximum à la fin de la troisième semaine. Ils peuvent persister durant plusieurs années. Des vaccins à virus inactivé sont utilisés dans les pays où la seule prophylaxie sanitaire ne suffit pas à enrayer l'épizootie. Leur composition est adaptée à la nature de la souche en cause. La protection qu'ils confèrent débute dès le quatrième jour après la vaccination et dure de 4 à 12 mois suivant les espèces. Des vaccins peptidiques et recombinants sont encore à l'étude (TOMA,2010).

II.5. Espèces affectées

Toutes les espèces d'ongulés à doigts pairs (artiodactyles) sont réceptives à la maladie.

Les ongulés sauvages sont sensibles au virus, mais dans une moindre mesure que les animaux domestiques.

L'Homme, s'il est immunodéprimé, serait sensible mais ne manifeste que très rarement des signes cliniques. Les équidés, carnivores et oiseaux sont totalement insensibles au virus.



III. Symptômes

Formes cliniques régulières

La maladie se caractérise cliniquement, après un état fibrile initiale, par des manifestations essentiellement cutano-muqueuse sous forme d'éruption vésiculeuse siégeant surtout dans la bouche, dans les espaces inter-digités et sur la mamelle (Afssa, 2009) (photos : 01 ;03 ; 04 ; 05 ; 06).

1 Chez Les Bovins

La période virémique (2 à 3 jours) et fébrile initiale se traduit par des signes généraux, notamment abattement, inappétence, irrégularité de la rumination, hyperthermie (40°C voire davantage).

Les prodromes de l'éruption se manifestent alors (chaleur et rougeur de la peau et des muqueuses, surtout au mufle et dans la bouche). Des aphtes apparaissent progressivement. Ils correspondent à des vésicules dont le centre est pâle et bombé, de forme arrondie ou ovale et de dimension variable -d'un grain de mil à une pièce de monnaie-, pouvant être confluentes.

Trois localisations principales sont touchées :

– Bouche : l'ensemble de la muqueuse buccale peut être atteint (face interne des lèvres et des joues, gencives, bourrelet, palais, et plus particulièrement la langue dont l'épaisseur de muqueuse peut masquer les vésicules, qui sont alors surtout décelables à la palpation) (photo 03).

Les lèvres, le mufle sont parfois atteints. En 3 à 5 jours, la lymphe aphteuse, claire et plus ou moins abondante, puis s'écoule après abrasion du couvercle de l'aphte en laissant un ulcère superficiel rouge vif, finement granuleux, rapidement cicatrisé (MEYER, 2001).

Les signes cliniques fonctionnels associés sont principalement une sialorrhée (photo1) abondante et filante, un grincement des dents, une préhension difficile et une mastication lente et pénible.

– Onglons : les aphtes siègent sur la couronne et, surtout, dans l'espace interdigité ; plus petits et plus irréguliers en raison de l'épaisseur des téguments, rapidement abrasés et purulents par pollution bactérienne, ils évoluent en ulcères profonds.



Parfois appelée « mal des onglons », la FA se manifeste alors par une boiterie, des piétinements sur place, et une extrême sensibilité à l'appui ou à la pression.

— Mamelle : Sous forme d'une thélite vésiculeuse ; les aphtes isolés ou confluents siègent sur les trayons et à l'orifice du canal galactophore ; ils entraînent une douleur extrême et de vigoureuses défenses à la mulsion (MEYER, 2001) (photo 08).

Chez les vaches laitières, la chute de lait se produit souvent avant l'apparition d'autres signes cliniques.

La salivation peut être abondante et les animaux infectés peuvent « mâcher » et grincer des dents à cause de la douleur au niveau de la bouche (photo 1).

Il peut également y avoir une mort subite chez les veaux, en raison d'une myocardite, et les vaches gestantes peuvent avorter (l'avortement est toutefois une complication rare chez les bovins).

La guérison locale par cicatrisation sous-crustacée des ulcères, et le rétablissement des fonctions digestives et de la production laitière, s'accomplit généralement en 8 à 15 jours environ, sauf complications (Afssa, 2009).

2. Chez Les Ovins et Les Caprins

Les signes cliniques sont souvent plus discrets.

Les vésicules peuvent être présentes sur la langue et la gencive, mais sont souvent petites et peuvent être difficiles à voir (photo 04).

Au niveau des pieds (photo 07), les vésicules sont présentes sur le bourrelet coronaire et dans l'espace interdigité, et se traduisent généralement par une boiterie, d'un seul membre le plus souvent.

À ce tableau général, sont généralement associés : des avortements, une mortalité élevée des agneaux et des chevreaux, pouvant constituer un signe d'appel.

IV. Lésions

Deux types de lésions peuvent être constatés.

Des lésions éruptives, dont la lésion fondamentale épithéliale, l'aphte, est une vésicule superficielle, localisée dans l'épiderme, n'entraînant aucune atteinte de la couche germinative et guérissant rapidement sans cicatrice, sauf complication septique.



Les aphtes peuvent évoluer en ulcères (perte de substance plus ou moins profonde) (photo 09). Compte tenu de la fragilité des vésicules, les ulcères sont généralement plus fréquemment rencontrés sur le terrain.

Des lésions non éruptives représentées essentiellement par une myocardite aiguë chez les jeunes (cœur mou, pâle, friable, marbré de taches gris-rouge ou jaunes) avec dégénérescence cireuse (cœur tigré de Kit) (photo 10). Une myosite peut également être présente.



Photo 01 : Salivation avec des écoulements nasals (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 02 : Boiterie. Les lésions des pieds peuvent amener les animaux à écarter leurs pieds antérieurs (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 03 : érosion (vésicule rompue) au niveau de la gencive d'un bovin (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 04 : vésicule rompue au niveau de la **muqueuse** buccale d'une chèvre (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 05 : Dans la narine, une vésicule intacte (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 06 : Erosions et ulcères de la muqueuse, au niveau de la langue (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 07 : lésion au niveau de la couronne (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 08 : érosions et ulcération des trayons (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 09 : Erosions de forme irrégulière au niveau de la muqueuse du rumen (SORDEN et ANDREASEN).



Photo 10 : cœur d'un mouton avec une nécrose du myocarde (SORDEN et ANDREASEN).



V. Diagnostic

Les méthodes de diagnostic utilisées ont pour objet de reconnaître la maladie sur le terrain et de confirmer son étiologie au laboratoire (YEKELEYA, 2000).

V.1 Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de la FA sera orienté, selon les espèces animales, à l'aide d'un faisceau d'arguments épidémio-cliniques et complété par un diagnostic différentiel.

V.1.a. Eléments clinique

Il est important d'avoir une approche systématique à l'examen des animaux suspects de FA.

Il faut commencer par observer les animaux de loin, notamment leur comportement général, la présence d'une salivation intense et filante et/ou d'une boiterie.

Il est important de veiller à ce que les animaux soient correctement maintenus avant de commencer l'examen. Il est préférable de commencer par prendre la température de l'animal (sinon celle-ci peut s'élever artificiellement par le stress de l'examen).

Il faut ensuite rechercher les lésions éventuelles en prenant soin de ne pas les léser.

La suspicion deviendra une quasi-certitude devant :

- la coexistence des trois localisations de lésions chez un même animal ;
- la simultanéité d'une ou plusieurs lésions chez des sujets de même espèce voisins des animaux malades, les atteintes podales étant plus fréquentes chez les petits ruminants. Des lésions récentes doivent être recherchées ainsi que l'élévation de la température rectale ;
- la simultanéité de l'atteinte d'animaux des diverses espèces réceptives de l'exploitation, la coexistence d'avortements, de mortalité chez les jeunes.

Il n'existe pas de critère clinique pathognomonique d'une suspicion de FA, en raison du polymorphisme aux divers stades évolutifs de l'infection. Au contraire, des boiteries apparemment anodines du mouton peuvent révéler l'origine aphteuse d'avortements au pâturage et de mortalité chez les jeunes alors que les lésions aphteuses étaient demeurées inaperçues (BOEHRINGER I, 2019)



V.1.b. Eléments épidémiologiques

Il s'agit d'une maladie de haute contagiosité, avec un taux élevé de morbidité, un faible taux de létalité (sauf chez les jeunes animaux) et une atteinte simultanée des espèces sensibles présentes dans un même élevage.

Il est indispensable de tenir compte le degré d'ancienneté des lésions observées et de leur fréquence au sein du cheptel suspect : des lésions anciennes survenant uniquement sur un ou deux animaux sont en défaveur d'une suspicion de FA. Ainsi que le mode d'élevage de l'exploitation : en élevage intensif, hors-sol, la surveillance quotidienne des animaux permet de révéler le caractère contagieux d'une affection dans des délais brefs ;

Il faut prendre en considération les mouvements récents d'animaux (introduction et origine géographique des animaux introduits) ;

Il est ainsi important de recueillir les commémoratifs auprès de l'éleveur : quels signes cliniques a-t-il remarqué ? Quand les signes cliniques ont-ils commencé ? Quels sont les animaux affectés ?

L'absence de foyer pendant plusieurs années ne doit pas entraîner un sentiment de fallacieuse sécurité. La F.A. risque de se manifester à tout moment. Aussi elle est à suspecter devant toute manifestation morbide s'en rapprochant (BOEHRINGER I, 2019).

V.2. Diagnostic expérimental

V.2. a. Prélèvements

Les prélèvements de choix concernent la lymphe contenue dans les vésicules ou les parois des aphtes, même rompus (TOMA ,2014).

Dans le cas d'une maladie évoluant depuis plus de 10 jours, la recherche virologique n'est plus possible et elle est remplacée par la sérologie.

Ces prélèvements doivent parvenir dans les délais les plus brefs au laboratoire en assurant le froid durant le transport à +4 °C.

V.2.b. Analyses

1. Virologie

Les Méthodes de diagnostic virologique et moléculaire sont :



L'isolement du virus aphteux à partir du broyat d'aphtes, sur cellules de langue de chèvre (cellules ZZ) et sur cellules de lignée IBRS2. Si un effet cytopathique est observé, l'identification du virus est alors effectuée à l'aide de la technique ELISA sandwich, de la technique RT-PCR.

L'ELISA Ag (sandwich) pour la détection des protéines virales est réalisé vis-à-vis des sept sérotypes.

La fixation du complément (FC) : pour les sérotypes O, A, C.

La RT-PCR (amplification en chaîne par polymérase) pour la détection de l'ARN génomique viral (Afssa, 2009).

2. Sérologie

Les anticorps pour la F.A. sont induits contre les protéines structurales et non structurales. Plusieurs techniques visent à détecter les anticorps induits par les protéines structurales et non structurales du virus aphteux chez les animaux infectés et ou vaccinés.

La technique ELISA et de séro-neutralisation sont les plus utilisées (TOMA et al, 2014).

2.1. Détection des anticorps induits par les protéines structurales

Les anticorps anti protéines structurales sont induits par la vaccination et l'infection naturelle. Ils commencent à apparaître environ 3 à 4 jours après les signes cliniques. Ils sont relativement spécifiques de sérotype (BOEHRINGER I, 2019).

L'ELISA en phase solide (SPCE ou solide phase compétitive ELISA) donne une réponse en 12-24 heures. Les sérums positifs doivent être confirmés par séro-neutralisation(SN).

La SN nécessite la manipulation de virus infectieux. Le sérum doit être prélevé stérilement. C'est la méthode de référence et de confirmation.

2.2. Détection des anticorps induits par les protéines non structurales

Ils sont induits par l'infection et par un vaccin non purifié. Ils ne sont pas induits par un vaccin purifié. La présence des anticorps induits par les protéines non structurales signe la réplication du virus (ces anticorps ne sont normalement pas présents chez les animaux vaccinés) (LI et al, 2012).

Ces anticorps ne sont pas spécifiques de sérotype : ainsi, les tests de détection de ces anticorps peuvent détecter des infections causées par n'importe lequel des 7 sérotypes. Ils apparaissent 6 à 7 jours après les signes cliniques (BOEHRINGER I, 2019).



Chapitre 02 : Analyses biochimique du sérum

I. Définition et composition du sérum

Le sérum est le liquide sanguin débarrassé de ses cellules (globules rouges, globules blancs, plaquettes) et de ses protéines et autres agent intervenant dans la coagulation.

C'est le liquide surnageant obtenu après coagulation et centrifugation du sang dans un tube « sec », c'est-à-dire sans inhibiteur de la coagulation. À l'inverse du plasma, qui lui est obtenu par simple centrifugation sans coagulation préalable (donc prélevé dans un tube contenant des anticoagulants).

Le sérum ne contient pas de facteurs de coagulation et du fibrinogène, consommés par la coagulation.

Il est composé à 90% d'eau, dans le quel baignent des protéines, parmi lesquelles l'albumine et les globulines (immunoglobulines aussi appelées anticorps). On y retrouve également des sels minéraux ainsi que des traces de vitamine et d'hormones.

Le sérum est utilisé dans plusieurs analyses notamment biochimiques.

II. Définition et importance de la biochimie clinique

La biochimie clinique est l'une des quatre disciplines de la biologie médicale (biochimie clinique, hématologie, microbiologie). Elle traite de la biochimie appliquée à un processus physiopathologique en vue de déterminer un diagnostic et de suivre l'évolution d'une maladie de même que l'efficacité d'un traitement.

Appelée médecine de la recherche, elle diffère aussi bien de la clinique pure que des sciences dites fondamentales ; elle se distingue de la clinique pure par les méthodes utilisées (l'examen d'une lame de sang, une courbe d'électrophorèse) (GAUDILLIERE, 1994).

L'interprétation des résultats biochimiques d'un prélèvement sanguin chez l'animal passe par la connaissance des facteurs de variation individuels, physiologiques (âge, sexe, nutrition,...) ou pathologiques, mais aussi par la connaissance des facteurs de variations pré-analytiques ou analytiques.



Pour les facteurs pré-analytiques, on note la technique de ponction elle-même, le choix des tubes pour collecter le sang, le traitement de l'échantillon et la durée possible de sa conservation.

La présence d'une lipémie ou de l'hémolyse peut modifier la phase analytique et éventuellement le résultat obtenu. Chaque observation susceptible d'intervenir dans l'interprétation (jeûne, gestation, prise de médicaments, affection chronique connue, difficulté de prélèvement ...) doit impérativement être notée sur la fiche de renseignements accompagnant le spécimen sanguin de l'animal au laboratoire (RANNOU B., 2014).

III. Signification de quelque paramètre biochimique sanguin

III.1. Albuminémie

L'albumine est une protéine synthétisée dans le foie. Elle sert au maintien de la pression oncotique, et le transport des hormones thyroïdienne, les hormones liposolubles, les acides gras libres, Ca, la bilirubine non-conjuguée, et tamponner le pH.

Chez les ruminants domestiques, l'albumine est utilisée avec les protéines totales comme un indicateur de la nutrition protéique (SÄKKINEN H et al, 2005).

III.2. Urée

C'est le produit terminal de la dégradation microbienne des matières azotées. Elle est synthétisée au niveau du foie à partir de l'ammoniac. Chez les monogastriques, l'urée est entièrement excrétée par les urines, par contre chez les ruminants elle est soit excrétée dans les urines et donc perdue, ou, recyclée dans le rumen via la salive, et à moindre degré via la paroi du rumen où elle est convertie à nouveau en ammoniac et peut servir pour la croissance bactérienne.

Lorsque la ration est pauvre en protéines, beaucoup d'urée est recyclée dans le rumen, et peu d'azote est perdu. Cependant, lorsque le contenu protéique de la ration augmenté, moins d'urée est recyclée et la perte d'azote urinaire est plus importante (WATTIAUX, 2004 ; JEAN-BLAIN et al, 2002 ; MEZIANE, 2001)



Signification des variations.

L'augmentation isolée de l'urée est due à une diminution de la perfusion rénale et est souvent consécutive à une hypovolémie. Lors d'insuffisance rénale, les deux paramètres rénaux (créatinine et urée) augmentent en parallèle de manière décalée, l'augmentation de l'urée étant plus précoce (CASSELEUX, 2007).

III.3. Créatinine

La créatinine dans l'organisme provient de la dégradation de la créatine ou la créatine phosphate dont l'origine est les muscles. Elle est pratiquement indépendant de l'apport protéique alimentaire (TURNER et al., 2005 ; MARINI et al, 2004 ; MEZIANE, 2001). Elle est éliminée exclusivement par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de la fonction rénale (VALTONEN, et al, 1982) et la production des muscles.

La créatinine est le catabolite de la créatine et de la phospho-créatine d'origine musculaire. Sa valeur est stable chez tout individu adulte sain. Elle est filtrée par le glomérule rénal.

Les valeurs usuelles varient selon la race et surtout la masse musculaire.

Signification des variations

La créatinine est un bon marqueur du fonctionnement rénal. Elle est utilisée pour son exploration sans préjuger de son origine et son caractère plus ou moins chronique (CASSELEUX, 2007).

III.4. Phosphatases alcalines (PAL)

Les PAL plasmatiques correspondent à la somme des activités enzymatiques de deux isotypes d'origine différentes. Ces enzymes sont présentes au niveau du foie, des os, de l'intestin, du rein, du placenta et de certaines tumeurs.

Signification des variations

La diminution des PAL n'est pas significative. Leur augmentation peut être liée à une cholestase, un hypercorticisme et osseuses (CASSELEUX, 2007)



III.5. Alanine Amino-Transférase (ALAT) et Aspartate-Amino-Transférase (ASAT)

L'alanine-aminotransférase (ALAT), précédemment nommée glutamate-pyruvate-transaminase (GPT) et l'aspartate-aminotransférase (ASAT), précédemment nommée glutamate-oxaloacétate-transaminase (GOT) sont les plus importantes représentantes d'un groupe d'enzymes, les aminotransférases ou transaminases, qui catalysent la conversion des alpha-cétoacides en amino-acides par transfert de groupes aminés.

En tant qu'enzyme spécifique du foie, l'ALAT n'augmente, de façon significative, que dans les affections hépatobiliaires. Par contre, des taux élevés d'ASAT peuvent trouver leur origine dans le cœur ou le muscle squelettique, aussi bien que dans le parenchyme hépatique.

La mesure en parallèle d'ALAT et d'ASAT est alors effectuée pour distinguer entre atteintes hépatiques, cardiaques ou musculaires. Le rapport ASAT/ALAT est utilisé pour le diagnostic différentiel des affections hépatiques. Un rapport < 1 signe une atteinte hépatique légère, alors qu'un rapport > 1 est associé à une atteinte hépatique sévère, souvent chronique.

III.6. Glucose

Dans le milieu ruminal, tous les glucides sont hydrolysés par les enzymes microbiens (cellulase, hémicellulase, des pectinases, des amylases....) (CUVELIER et al., 2005 ; Eugène, 2002) en oses simples, puis fermentés en acides gras volatils, avec la formation des gaz, et d'énergie. (ROUISSI ET GUESMI, 2004)

L'amidon échappé de la digestion microbienne, subit une dégradation chimique au niveau de l'intestin grêle, qui le transforme en maltose puis en glucose. Le glucose produit est absorbé à travers la paroi intestinale (WATTIAUX ET ARMENTANO, 2005). Les fractions pariétaux non digères dans le milieu ruminal sont fermentés en AGV et absorbés au niveau du gros intestin (cæcum, colon), et les fractions indigestibles sont éliminés ensuite par les fèces.

Chez les ruminants le glucose sanguin à deux origines :

- Exogène par l'absorption intestinale du glucose à partir de l'amidon et aussi de glucosanes microbiennes. Il représente environ 15 % du glucose total.
- Endogène provient essentiellement de la néoglucogenèse à partir des substances glucoformatrices au niveau du foie, et à moindre degré au niveau rénal. La néoglucogenèse



fournit environ 85% du glucose total (MEZIANE, 2001 ; PAYNE, 1983), donc est un phénomène capital chez le ruminant (LANDAU et al, 1997 ; THIVEND et al., 1985).

Chez les ruminants (vache, chèvre, mouton) une glycémie est considérée normale entre 0,4 et 0,7 g/L. Ces faibles valeurs chez les ruminants s'expliquent par le fait que chez ces animaux les glucides sont surtout dégradés en acides gras volatils, et peu en glucose (MEYNADIER, 2019)

III.7. Protéines totales

La concentration des protéines totales reflète généralement la disponibilité en AA provenant des protéines alimentaires et de la biomasse ruminale (AJALA ET AL, 2000 ; CHORFI ET GIRARD, 2005).

Le sang contient des milliers de protéines à des concentrations très différentes.

Les protéines plasmatiques remplissent des fonctions très diverses : maintien de la pression oncotique, transport de molécules diverses (bilirubine...), rôle dans la coagulation dans la fonction immune et activité enzymatique.

Signification des variations

L'hyper-protéïnémie peut être expliquée par un phénomène de déshydratation, une inflammation, un phénomène néoplasique, certaines maladies auto-immunes.

L'hypo-protéïnémie peut être liée à une carence alimentaire, à une septicémie, hépatopathie et à une fuite très importante (glomérulopathie).

III.8. Créatine kinase (CK)

Cette enzyme est essentiellement répartie dans le tissu musculaire (muscle squelettique et myocarde). On la retrouve également en plus faible quantité dans le cerveau.

Signification des variations

L'augmentation des CK est liée à une cytolyse notamment une atteinte musculaire.

PARTIE EXPERIMENTALE



I. Objectifs

Le présent travail vient compléter mon projet de fin d'étude (PFE) intitulé "Enquête épidémiologique sur la fièvre aphteuse et la peste des petits ruminants dans la région de Ghardaïa durant les épizooties de 2018-2019" pendant lequel des prélèvements sanguins, sur tubes secs, ont été effectués. Ces derniers ont fait l'objet d'analyses biochimiques et sérologiques constituant le thème de la présente étude.

Le travail réalisé est divisé en deux parties :

1. La première partie concerne l'analyse biochimique des sérums prélevés, dans le but :
 - d'examiner les résultats de ces analyses biochimiques et les interpréter.
 - de détecter les changements des paramètres sanguins induits par la FA.
2. La deuxième partie s'intéresse aux tests sérologiques utilisés au laboratoire central vétérinaire de l'INMV, afin de diagnostiquer cette maladie, à déclaration obligatoire.

Sur la base des prélèvements, le travail a consisté à :

- a. Réunir les techniques sérologiques utilisées par le laboratoire vétérinaire central.
- b. Effectuer des tests sérologiques sur les échantillons récoltés.
- c. Interpréter les résultats.



I. Matériels et Méthodes

Notre étude est divisé en deux partie, la première concerne les analyses biochimique des prélèvements issus d'agneaux et la deuxième les analyses sérologiques mais qu'on n'a pas pu les effectués.

I.1 Animaux prélevés

Nous avons travaillé sur 7 agneaux âgés de deux mois (mâles et femelles) suspectés atteint de fièvre aphteuse (tableau 01) vue les symptômes cliniques et la situation épidémiologique de la région.

Ces agneaux ont été présentés au cabinet d'un vétérinaire privée, situé à Ghardaïa.

Ces sujets proviennent de deux foyers différents (tableau 02).

Ces animaux ne sont pas à jeun.

Ces animaux sont issus de foyers confirmés atteint de FA. Ils sont suspectés d'être infecter par la FA après l'observation des signes clinique tels que boiteries, lésions buccales, hyperthermie) (Photos 11 et 12).



Photos 11 : Lésions présentes dans d'autres foyers atteints de FA, dans la même région (photo personnelle)

Tableau 01 : Informations sur les prélèvements

Foyer	Déclanchement de la maladie dans le foyer	Date de prélèvement	Nombre d'animaux prélevé	Age
FA 1	01/02/2019	06/02/2019	3	2 mois
FA 2	31/12/2018	07/01/2019	4	2 mois



Tableau 02 : Informations sur la provenance des animaux prélevés

Foyer	Mode d'élevage	Abreuvement	Type d'alimentation
1	Extensif	Puits	Concentré
2	Extensif	Puits	Concentré

I.2 Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués à la veine jugulaire (figure 02) avec des tubes secs sous vide.

Après avoir identifié les tubes, le sang recueilli a été placé au frais dans une glacière, à une température avoisinant 4°C, durant le transport (figure 03).

Après 48-72h, le sérum a été récolté, après centrifugation des prélèvements.

Les échantillons ont été conservés au congélateur pendant 10mois (figure 03).



Figure 02 : Démonstration de la réalisation d'un prélèvement à partir de la veine jugulaire.

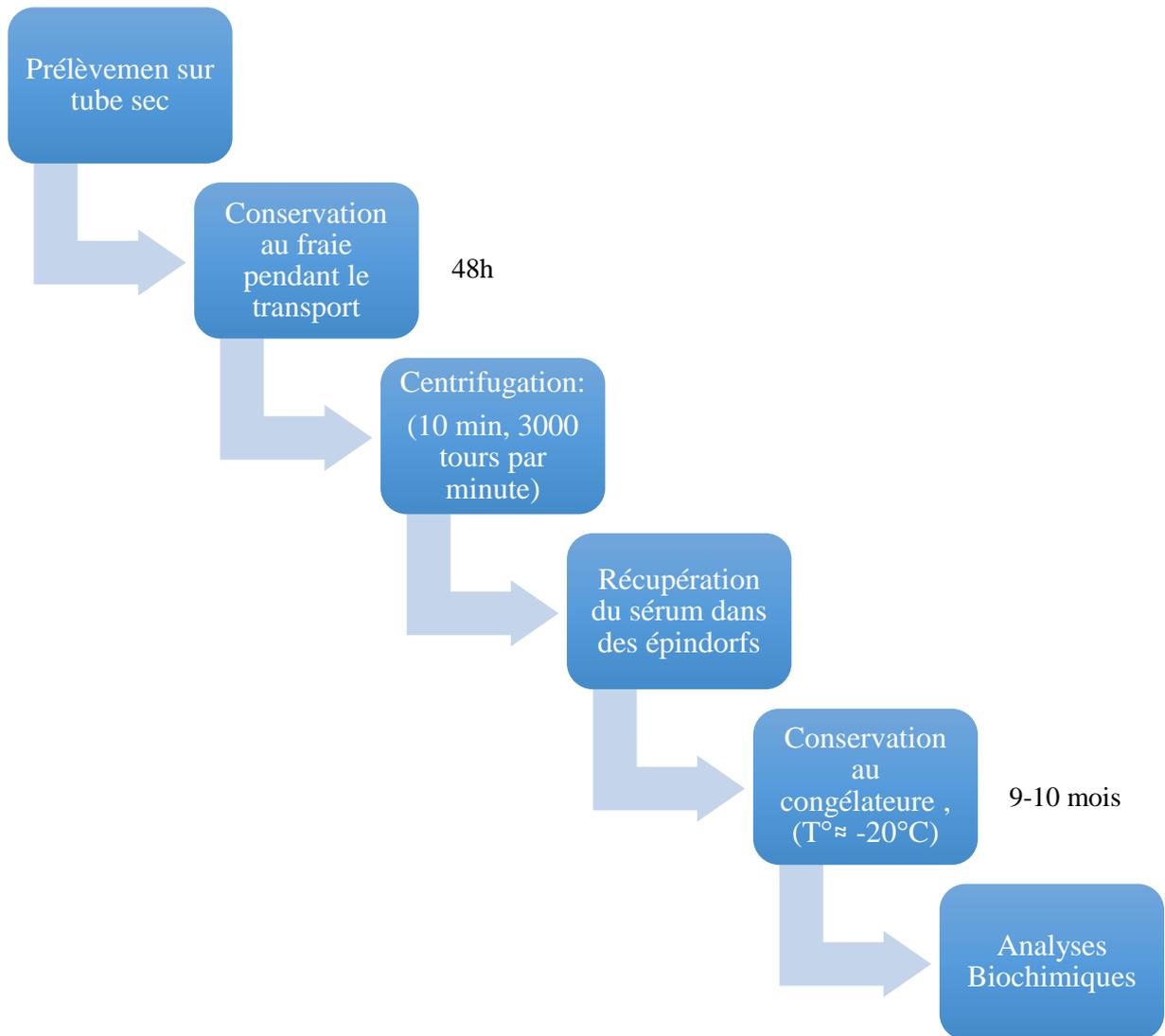


Figure 03 : Etapes de conditionnement des échantillons.

Partie 01 :
Analyses biochimiques



I. Etude biochimique

I.1 Choix des paramètres

L'hémolyse (photo 12), la non-conservation rapide des sérums et leur congélation pendant une longue durée influent sur la stabilité des paramètres sanguins (Annexe 01).

Nous avons voulu faire le dosage d'autres paramètres sanguins notamment l'albumine, la créatinine, la phosphatase alcalines (PAL), alanine amino-transférase (ALAT) et aspartate-amino-transférase (ASAT) et la créatine kinase (CK), à cause de leur perturbation par l'hémolyse et la température ainsi que la durée du stockage (Annexe 01).

Ces conditions ont limité les analyses biochimiques et les seuls paramètres qu'on a jugés plus ou moins stables (Annexe 01), selon la température et la durée du stockage, sont : la glycémie, les protéines totales et l'urée.

Pour des raisons purement pratique et technique, nous n'avons pas pu refaire les prélèvements pour obtenir des résultats plus fiables.

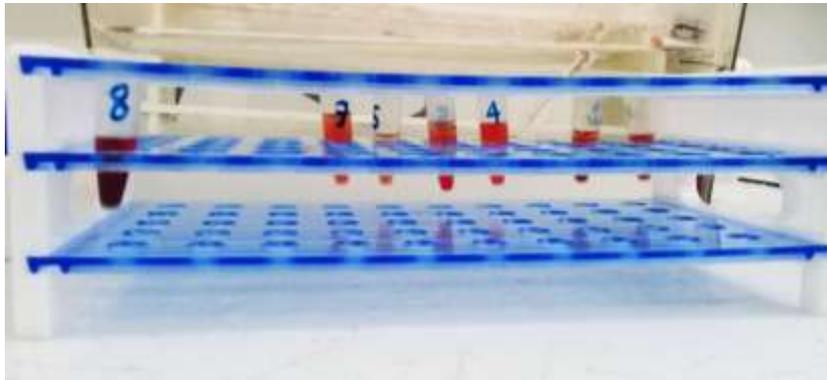


Photo 12 : les échantillons avec présence d'hémolyse (photo personnelle).

I.2. Techniques du dosage biochimique

Le dosage des paramètres biochimiques a été effectué au niveau du laboratoire de biochimie, à l'école nationale supérieure vétérinaire (ENSV), en utilisant des kits de SRINREACT.

Le dosage des paramètres sanguins (glucose, protéines totales et urée) est entamé après la décongélation des échantillons à l'air ambiant, ces derniers ont été mélangés à l'aide d'un vortex avant d'entamer l'expérimentation.



Le tableau ci-dessous (tableau 03) illustre la méthode utilisée avec la référence des kits.

Tableau 03 : Méthodes analytiques biochimiques

Paramètres	Méthode analytique	Référence
Glucose	Trinder. GOD-POD	«SPINREACT» Réf: 1001191
Protéines totale	Biuret. Colorimétrique	«SPINREACT» Réf: 1001291
Urée	Berthelot. Enzymatique colorimétrique	«SPINREACT» Réf: 1001331

Matériels utilisés

Le matériel (photo 14) utilisés pour procéder les différents dosages est :

- Portoir pour tubes (photo 15)
- Tubes secs (photo 15)
- Micropipettes réglables (10 μ l, 25 μ l, et 1000 μ l) (photo 15).
- Embout pour micropipettes (photo 16).
- Cuves (photo 17).
- Coffret de réactifs pour chaque dosage (photo 21, 22, 23).
- Chronomètre (photo 21).
- Appareillage :
- Spectrophotomètre (photo 18).
- Agitateur (vortex) (photo 19).
- Baine marie thermostaté (photo 20).



Photo 13 : Paillasse de travail (photo personnelle).



Photo 14 : Portoir des tubes (photo personnelle).



Photo 15 : Micropipettes (photo personnelle).



Photo 16 : Embouts pour micropipettes (photo personnelle).



Photo 17 : Spectrophotomètre avec les cuves (Photo personnelle)



Photo 18 : Agitateur (vortex) (photo personnelle).



Photo 19 : Baine marie thermostaté (photo personnelle)



Photo 20 : Chronomètre (photo personnelle).



Photo 21 : Kit du dosage du glucose (photo personnelle).



Photo 22 : Kit du dosage des protéines totales (photo personnelle).



Photo 23 : Kit du dosage de l'urée (photo personnelle)

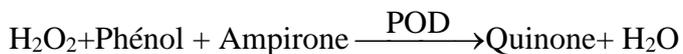
I.3 Méthodes utilisées

1. Dosage du glucose

Il s'agit d'un dosage enzymatique colorimétrique, en utilisant la méthode GOD-POD, à la suite de deux réactions enzymatiques couplées, afin de déterminer la concentration du glucose sanguin au niveau du sérum.

Principe

Le glucose oxydase(GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) produit, se détache au moyen d'un accepteur chromo-génique d'oxygène, de phénol-ampirone en présence de peroxydase (POD) :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose présent dans l'échantillon testé.

La lecture se fait à 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.



Protocole

Tableau 04 : Protocol du dosage expérimental du glucose.

Paramètres	Protocole		Incubation	λ	Calculs	Unité
	Réactif	Std / éch	T° : 37°C			
Glucose	1 ml	10 μ l	10min	505 nm	$[G] = (A) \text{ éch} / (A) \text{ Std} \times [\text{Std}]$	g/l

Std : standard, éch : échantillon ; [G]: concentration du glucose ; (A) : absorption ; [Std]: concentration du standard.

Dans des tubes, on met 1000 μ l de réactif plus 10 μ l d'échantillon puis les Incubés à 37°C pendant 10min.

Lecture à 505 nm, en comparaison avec le blanc du réactif.

La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

2. Dosage des protéines totales

La méthode colorimétrique au Biuret qui est utilisée afin de déterminer la concentration des protéines totales.

Principe

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre. Ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant.

La lecture se fait à une longueur d'onde de 540 nm.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé (photo 24).



Protocole

Tableau 05 : Protocol du dosage expérimental de protéine total

Paramètres	Protocole		Incubation	λ	Calculs	Unité
	Réactif	Std / éch	T° : 37°C			
Protéines totales	1 ml	25 μ l	5min	540 nm	$[PT]=(A)éch/(A)Std \times 70[Std]$	g/l

Std : standard, éch : échantillon ; [PT]: concentration de protéine total ; (A) : absorption ; [Std]: concentration du standard.

Mélanger et incuber pendant 5 min à 37°C (photo 24), après avoir ajouté 1 ml du réactif au standard et avec chaque échantillon.

Régler le spectrophotomètre à la longueur d'onde 540 nm.

Lire l'absorption du patron et l'échantillon en comparaison avec le blanc du réactif.

La couleur reste stable pendant 30 min.



Photo 24 : Etape d'incubation et virage de couleur vers le violet (photo personnelle)

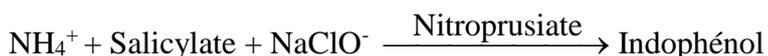
3. Dosage d'urée

Le dosage de l'urée est réalisé selon la méthode de Berthelot, qui est une méthode enzymatique colorimétrique.



Principe

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH_3) et en anhydride carbonique (CO_2). Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorithe (ClONa), en présence du catalyseur nitroprusiate, pour former un indophénol vert :



Dans ce test, la diminution de la concentration de NAD^+ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

L'intensité de couleur formé est proportionnelle à la concentration d'urée.

Protocole

Le dosage de l'urée est réparti en deux temps.

Tableau 06 : Protocole du dosage expérimental d'urée.

Paramètres		Protocole		Incubation	λ	Calculs	Unité
		Réactif	Std / éch	$T^\circ : 37^\circ\text{C}$			
Urée-B	1 ^{er} tps	1 ml	10 μl	R1 :5min	580 nm	[U]=(A) éch / (A) Std x 0.5 [Std]	g/l
	2 ^{ème} tps	1 ml	10 μl	R2 :5min			

Std : standard, éch : échantillon ; R1 : réactif 1 ; R2 : réactif 2 ; [U]: concentration du glucose ; (A) : absorption ; [Std]: concentration du standard ; tps : temps.

Pipeter dans des tubes :

Pour le blanc 1ml de réactif,

L'étalon 1ml de réactif +10ul du standard

Ajouter, à chaque 10 μl d'échantillon, 1ml de réactif.

Mélanger puis incuber les tubes pendant 5 min à 37°C .



Ajouter 1ml du deuxième réactif dans chaque tube.

Mélanger et incuber durant 5 min. à 37°C (photo 25).

Lire l'absorbation (A) du standard et de l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif, à 580 nm.

La couleur (photo 25) reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.



Photo 25 : Etape d'incubation et virage de couleur (photo personnelle)

I.4 Valeurs référentiels chez l'ovin

Les concentrations référentielles des paramètres sanguins utilisées (Glucose, protéines totales et urée) dans la présente étude, sont celles établies par Plamb's Veterinary, qui sont celles utilisées dans le laboratoire de biochimie de l'ENSV (Annexe 03).

Elles sont les suivantes :

Tableau 07 : Valeurs usuelles des paramètres sanguins dosés chez l'ovin.

Paramètres sanguins	Taux g/l
Glucose	0,42-0,72
Protéine totale	60-79
Urée	0.08-0.2



I.5. Mesure du pH :

Nous nous sommes intéressés aussi au dosage du pH des sérums, après leur décongélation.

Ce dosage a été effectué à l'aide d'un pH mètre (photo 26).



Photo 26 : pH mètre (photo personnelle)



II. Résultats

Nous présentons dans les tableaux ci-dessous, les résultats expérimentaux des trois paramètres analysés :

II .1.Glycémie

Tableau 08 : Taux de glucose pour chaque agneau.

N° d'échantillon	Concentration g/l
1	0,521
2	<u>0,251</u>
3	<u>0,316</u>
4	0,545
5	<u>0,241</u>
6	0,533
7	0,856
Concentration référentiel	<i>0,420-0,720 g/l</i>

Chez les ovins, une glycémie est considérée normale entre 0,4 et 0,7 g/l (USD).

Les résultats obtenus par le dosage de la glycémie, montrent des taux variables de la constatation sanguine du glucose.

Trois valeurs trouvées sont au-dessous de la normale par contre une seule est au-dessus, avec une concentration de 0.86 g/l. Trois échantillons relevés sur sept correspondent à l'intervalle référentiel.

II .2.Protéines Totales

Les concentrations de protéines totales trouvées dans les échantillons sont illustrées dans le tableau suivant :

**Tableau 09** : Résultats du dosage de protéine totale

N° d'échantillon	Concentration g/l
1	72,8
2	69,1
3	<u>57,3</u>
4	64,1
5	77,8
6	<u>54,9</u>
7	87,6
Concentration référentiel	60-79 g/l

Dans cette étude, les taux de protéines totales sont variables.

Deux cas sur sept sont normaux, deux autres sont en hypo-protéïnémie et le septième en hyper-protéïnémie avec 87.6 g/l.

II.3. Urémie

Les résultats du dosage de l'urée sont établis dans le tableau suivant :

Tableau 10 : les résultats obtenus concernant le dosage de l'urée

N° d'échantillon	Concentration g/l
1	0,123
2	0,1
3	0,343
4	0,254
5	0,209
6	0,134
7	0,289
Concentration référentiel	0.08-0.2 g/l

Les concentrations de l'urée trouvées varient de 0,1 g/l jusqu'à 0.34 g/l.

Quatre échantillons sur sept présentent une urémie élevée par rapport à la normale et les trois restants rentrent dans les normes.



II.4. pH

On a mesuré à l'aide d'un pH mètre le pH des sérums avec leur température.

Les valeurs sont établies dans le tableau suivant :

Tableau 11 : les valeurs de pH des sérums

N° Tube	Température	pH
1	17.1 °C	9.02
2	17.5 °C	9.84
3	17.4 °C	8.98
4	20.8 °C	8.89
5	20.9 °C	8.63
6	20.8 °C	8.81
7	20.8 °C	8.87

Les valeurs de pH constatées dans les échantillons sont basiques, avec 9 de moyenne.



III. Discussion

Dans cette étude des analyses biochimiques ont été réalisés sur des sérums issus de sept agneaux de deux mois d'âge.

Ces observations ne peuvent pas être prises en considérations vu la non-récolte rapide des sérums (après 48-72h), dans ce cas, la glycolyse a eu lieu (10% par heure).

Concernant les protéines totales, quatre agneaux sur sept présentent une protéinémie normale selon la concentration référentielle, dont la moyenne est de 71 g/l.

Deux échantillons présentent une hypo-protéinémie. Cette diminution pourrait être due au catabolisme des protéines à cause de l'état inflammatoire engendrée par la FA.

Les résultats correspondant au dosage d'urée montrent une élévation de la concentration dans quatre échantillons, par contre trois correspond à la concentration référentielle.

Une étude de RICO A.G et al en 1976 sur des agneaux âgés entre 1 mois et ½ et 3 mois, apparemment en bonne santé, ont présenté une concentration d'urée de 0,23 à 0,37 g/l.

Cette élévation est justifiée par l'allaitement de ces agneaux, en plus, le lait de brebis est connu par sa richesse en protéines (4% de protéines).

Il n'est pas exclu que ces variations de concentrations d'urée sont influencées par la longue durées de stockage des sérums, car la congélation peut induire une légère déshydratation de ces derniers.

L'échantillon N°7 n'a pas été pris en considération, car il présente une forte hémolyse d'où l'aboutissement a des concentrations de glucose de protéines totale et d'urée non significative.

Le pH est un indicateur de stabilité des échantillons.

Dans cette étude, après avoir stocké les sérums, le pH mesuré se trouve alcalin.



Ces résultats ne correspondent pas à ceux trouvés par HUSSEIN et AAMER en 2013, où le pH du sang total a diminué progressivement après 12 h de réfrigération, devenant acide.

Cette différence a été observée, bien que les prélèvements, effectués sur tubes secs, aient été conservés au frais durant 48 h pour certains et 72 h pour d'autres.

Cette contradiction n'a pu être expliquée. Pour cela, il serait intéressant de mesurer aussi le pH avant et après la réfrigération et la congélation.

Partie 02 :
Analyses sérologiques



I. Etude sérologique

La formation théorique, qui a duré trois jours pendant le mois de décembre de l'année 2019, a été effectuée au niveau du laboratoire central vétérinaire (LCV) de l'institut national de la médecine vétérinaire (INMV) (photo 27), au niveau du service de virologie.

Durant la période du mois de Décembre, il n'y avait pas eu de cas d'analyses sérologiques. De ce fait l'analyse sérologique n'a pas pu être pratiquée.

I. 1. Présentation du Laboratoire

Le laboratoire central vétérinaire de l'INMV, lequel est sous tutelle du Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pêche est situé à El Harrach à Alger.

Le LCV comprend six(06) services :

1. Service de Virologie.
2. Service d'Hygiène Alimentaire.
3. Service de Histopathologie Générale et Parasitologie.
4. Service de l'Assurance qualité et de l'épidémio-surveillance.
5. Service de Bactériologie.
6. Service de toxicologie.

Il assure le contrôle des tests de laboratoire vétérinaire de plusieurs wilayas notamment Alger, Blida, Médéa, Tipaza, Tindouf et Tamanrasset.

Il a pour missions essentielles :

1. L'appui technique, logistique et scientifique aux services vétérinaires.
2. Le diagnostic expérimental spécialisé des maladies animales et particulièrement des maladies réputées légalement contagieuses.
3. Il réalise des enquêtes épidémiologiques et participe à l'établissement de la carte épidémiologique nationale.
4. Il assure, par des analyses de laboratoire et des expertises, le contrôle sanitaire des animaux ou d'origine animale à l'importation et l'exportation.
5. Il contribue à la lutte contre les zoonoses, en liaison avec les institutions et organismes concernés.



Photo 27 : Entrée du LCV (photo personnelle)

I.2. Etapes de la réalisation des analyses sérologiques

1. Réception de prélèvements

Prélèvements sanguins effectués par le vétérinaire (vétérinaire privée ou inspecteurs vétérinaires) au niveau de la veine jugulaire en utilisant des aiguilles vissées sur des porte-aiguilles adaptés aux tubes vacutainers sont identifiés puis envoyés au laboratoire.

Les tubes sont remplis aux $\frac{3}{4}$, identifiés de la manière date-code-wilaya-code commune-N° de l'exploitation-code espèces puis ils sont placés dans des portoirs et entreposés dans des glacières pour leur acheminement vers le laboratoire (LCV), accompagnées de la fiche de demande d'analyses, pour la réalisation des tests sérologique où la fiche comporte des informations sur l'élevage et les animaux prélevés.

2. Tri des prélèvements

Les tubes sont centrifugés à 3000tr/mn tours pendant 5 minutes (figure 04). Ensuite, les échantillons sont examinés visuellement, en vérifiant la couleur et la quantité du sérum.

En cas d'hémolyse importante le sérum sera rejeté, car ça perturbe les résultats.

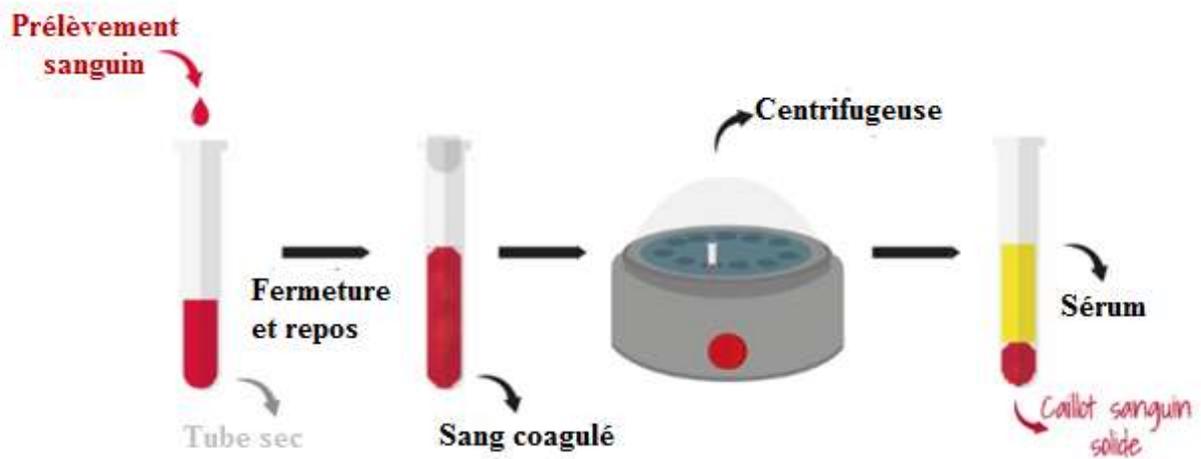


Figure 04 : Préparations des sérums (conseils-vet.com).

3. Diagnostic sérologique

Le LCV utilise le test Elisa qui est une méthode immunologique, dont le nom correspond à un acronyme anglais : « Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay », qui signifie « test d'immuno-absorption enzymatique », pour rechercher la présence d'anticorps, éléments protecteurs produits par l'organisme lorsqu'il est exposé à un agent infectieux.

Pour la détection des anticorps anti FMDV. La méthode Elisa compétition (c-ELISA) est utilisée. Le kit d'analyse est commercialisé par ID.vet Screen ®, FA competition. Ce kit permet de diagnostiquer la maladie par la détection des anticorps sérique.

ELISA compétitif (C-ELISA) est un immuno-dosage qui peut être utilisé pour détecter les anticorps dirigés contre les protéines non-structurales (A, B, C) ou structurales FMDV.

Afin de détecter l'infection par le virus de FA (figure 05), les anticorps dirigés contre les protéines virales non structurales (NSP) 3ABC sont recherchés en appliquant une c-ELISA sur des sérum ou plasmas de toutes espèces sensibles. Le kit d'analyse est commercialisé par ID.vet Screen ®, FA compétition.

Ce test peut être utilisé comme indicateurs du statut vaccinal d'un cheptel.

Pour la détermination du sérotype (figure 05), la recherche des anticorps, dirigés vers les protéines structurales, est effectuée en utilisant c-ELISA pour la détection d'anticorps dirigés contre un sérotype spécifique notamment le O.

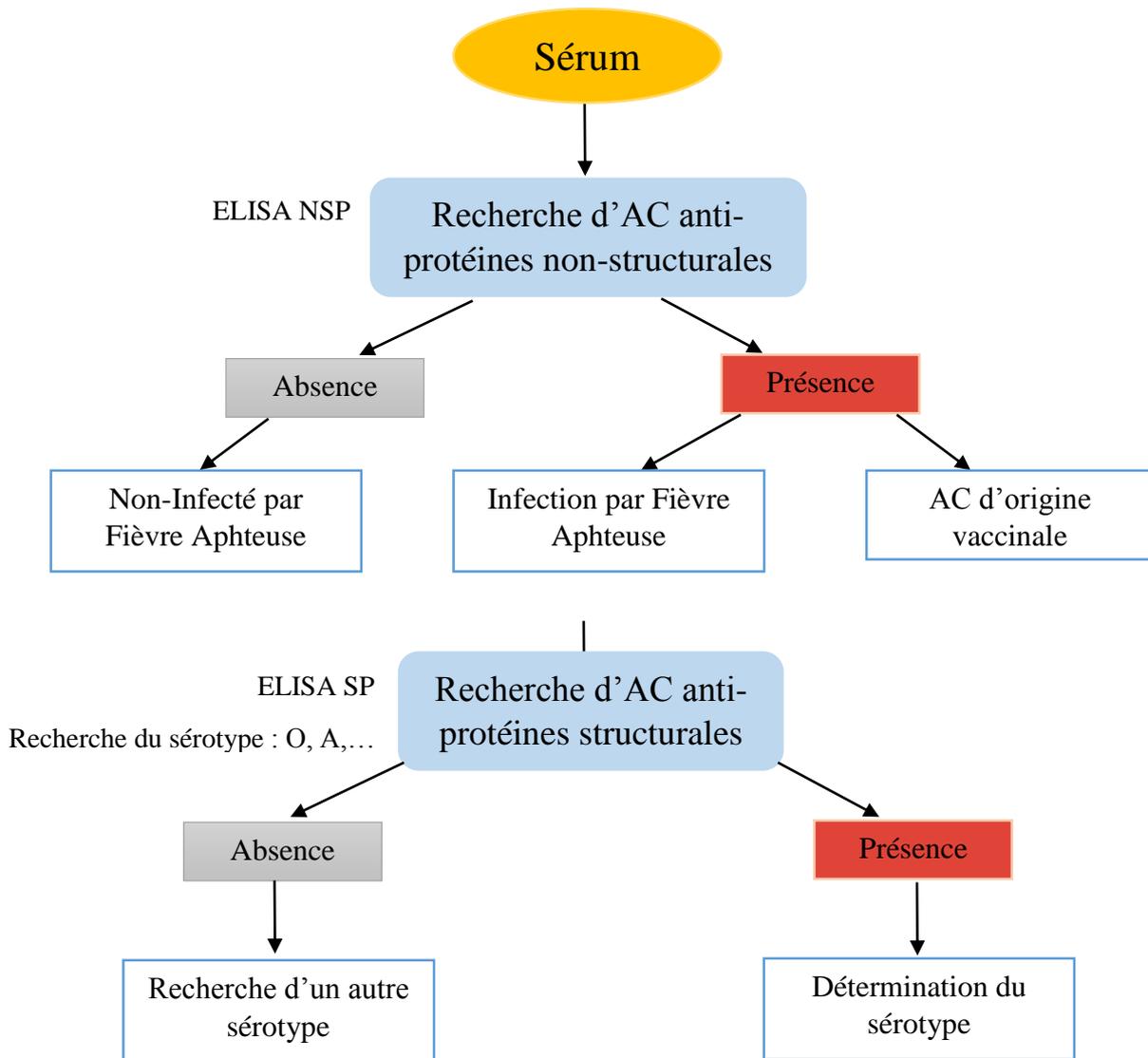


Figure 06 : Etapes d'analyse sérologique en cas de Fièvre Aphteuse.



Technique ELISA compétition

La c-ELISA utilise une protéine à rechercher immobilisée sur un support plastique et un anticorps spécifique conjugué à une enzyme qui est révélé par l'addition d'un substrat qui se colore.

Ce système de révélation est mis en compétition par une mise en présence préalable d'un échantillon à doser avec l'anticorps conjugué. L'anticorps conjugué est alors bloqué par la protéine recherchée et n'est donc pas révélé sur le support plastique. Ce système fonctionne à l'envers dans le sens où plus il y a de protéine présente moins il y a de coloration.

La figure suivante illustre la technique.

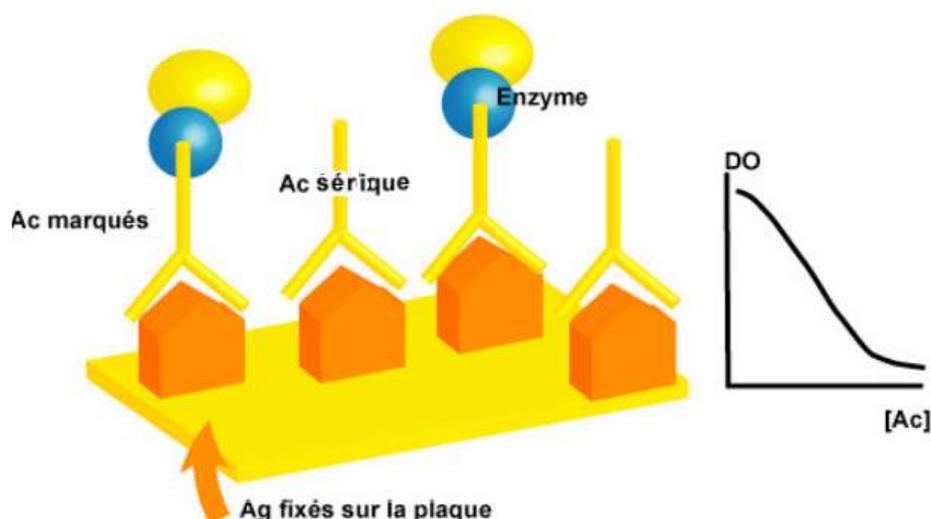


Figure 06: Illustration de la méthode ELISA de compétition.

III. Résultats

Les analyses sérologiques des sérums n'ont pas pu être effectuées à défaut de présentation de cas au niveau de LCV, durant la période de la présente étude.



IV. Discussion

Les tests sérologiques pour le virus de la fièvre aphteuse (FMDV), effectués au niveau de LCV sont recommandés par l'OIE.

Dans une situation d'urgence liée à la fièvre aphteuse, des tests sérologiques sont souvent nécessaires pour confirmer les cas suspects, pour dépister les infections non divulguées ou pour valider que la vaccination a été effectuée efficacement

Les tests sérologiques sont aussi employés pour confirmer le statut indemne de fièvre aphteuse après l'épidémie

Le test c-ELISA des protéines structurales permet de déterminer le sérotype circulant pour le choix du vaccin.

La disponibilité des kits ELISA est également cruciale pour la gestion d'une épidémie ; un grand nombre de tests peuvent être requis en peu de temps car l'ELISA a l'avantage d'être plus rapides, faciles, ne nécessitant de pas un matériel sophistiqué.



Conclusion et recommandations

Dans cette étude, nous sommes intéressés aux analyses biochimiques et sérologiques des sérums collectés des animaux suspectés atteints de Fièvre Aphteuse.

En ce qui concerne les analyses biochimiques, des variances de taux de glucose, de protéines totales et d'urée n'ont pas pu être liées directement à l'atteinte des animaux par la Fièvre aphteuse car les échantillons effectués n'ont pas suivi les normes de conditionnement et de stockage.

Pour le dosage de glucose il est recommandé d'effectuer les prélèvements dans des tubes contenant le fluorure de sodium pour l'inhibition de la glycolyse par les hématies.

Le traitement correct des échantillons, en particulier l'absence d'hémolyse et le bon conditionnement, est essentiel pour assurer la stabilité des paramètres sanguins.

À notre connaissance, il est intéressant d'établir un référentiel normatif des valeurs biochimiques alloué au cheptel algérien. Ce référentiel doit prendre en considération tous les paramètres et facteurs influents, notamment l'environnement, l'espèce, la race, l'âge, le sexe et la nutrition.

Cette étude mérite une autre étude approfondie en suivant les normes de prélèvement et de stockage, en agrandissant le nombre d'échantillons, afin d'arriver à des résultats fiables sur le profil biochimique de la Fièvre Aphteuse.

En général, les résultats d'analyses biochimiques ne pourraient être concluants à la FA, ceci amène à effectuer d'autres examens plus spécifiques tels que la sérologie.

En ce qui concerne la deuxième partie de l'étude, la sérologie consiste à détecter les AC dirigés contre le virus de la fièvre aphteuse, en effectuant des tests ELISA.

Ces tests sont utilisés dans le LCV afin de dépister la Fièvre Aphteuse et d'affirmer ou infirmer la suspicion car la FA est une maladie à déclaration obligatoire.

L'étude présente a permis, néanmoins, d'avoir une idée rapprochée sur les différents tests biochimiques et sérologiques.

Elle est considérée comme une initiation de recherche, aussi sur la méthode de réflexion pour l'interprétation des résultats.

RÉFÉRENCES

1. **AFSSA.,2009.** Rapport Afssa « Fièvre aphteuse »
<https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-FievreAphteuse.pdf>
2. **AJALA O.O., OYEYEMI M.O., OKE A.O., ALAKPA C. O., 2000.** Haematological and biochemical parameters in West African Dwarf (WAD) bucks fed diets containing *Milletia Thoningii*. African Journal of Biomedical Research, Vol. 3, N°2, May, 121-124.
3. **ANNABELLE MEYNADIER, CLEMENT DUSART, FLORIAN TOUITOU.2019.** La digestion ruminale des aliments.Planet vie.
4. **BOEHRINGER I., 2019.** La Fièvre Aphteuse.Ecoles Nationale Vétérinaires Françaises.Maladie Cotagieuse.6, 40-42.https://eve.vet-alfort.fr/pluginfile.php/60747/mod_resource/content/0/Polycopie%20FA_2019_complet_propre_v2.pdf
5. **BRAUN, J. P.; TRUMEL, C.2010.** BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. Small Ruminant Research, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 10-18.
6. **CASSELEUX G. D. E., 2007.** Détermination des valeurs usuelles biochimiques et hématologiques du chiot âgé de zéro à huit semaines. Thèse : Méd. Vét. : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7. **CHORFI Y., GIRARD V., 2005.** Le profil métabolique chez la chèvre. CRAAQ, 4p.
8. **CUVELIER C., CABARAUX J-F., DUFRASNE I., ISTASSE L., HORNICK J-L., 2005.** Transport sanguin et métabolisme hépatique des acides gras chez le ruminant. Ann. Méd. Vét., 149, 117-131.
9. **EUFMD,2014.** Open session of the standing technical and research committees of the EuFMD. New competitive Elisas for detection of non-structural or structural FMDV antibodies.
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/Open_Session_2014PPTS/Parallel29oct/WPar9_6.pdf
10. **Eugène M., 2002.** Effets de la défaunation de ruminants sur les performances de production, en fonction de la ration ingérée. Etude des variations de la protéosynthèse et de la cellulolyse microbienne ruminale. Thèse de Docteur de l'Institut National Agronomique, INA Paris-grignon, école doctorale Abies, p158.

11. **GAUDILLIERE J P, 2004.** Biochimistes français entre légitimité médicale et légitimité biologique,1930-1960 Article extraire de C.DEBRU ,J GAYON et J F PICARD. Archive pour l’histoire de la recherche, paris CNRS 2004.
12. **HUSSEIN H.A.AND AAMER A.A. 2013.** Influence of different storage times and temperatures on blood gas and acid-base balance in ovine venous blood Open Veterinary Journal, (2013), Vol. 3(1): 1-7
13. **JEAN-BLAIN C., GRARCHER D., EGRON G., ALVES L., 1993.** Guide de travaux pratique de bromatologie. ENV de Lyon, 18p.
14. **LANDAU S., MORAND-FEHR P., BAS P., SCHMIDELY P., GIGER-REVERDIN S., 1997.** Nutrition efficiency for conception, pregnancy and lactation in goats with an emphasis on glucose and nitrogen metabolism. CIHEAM - Cahiers Options Mediterraneennes, Vol. 25, 59-70.
15. **LI, Y., K. G. SWABEY, D. GIBSON, P. J. KEEL, P. HAMBLIN, G. WILSDEN, M. CORTEYN, AND N. P. FERRIS., 2012.** Evaluation of the solid phase competition ELISA for detecting antibodies against the six foot-and-mouth disease virus non-O serotypes. J. Viral. Methods 183, 125–131.
16. **MARINI J.C., KLEIN J.D., SANDS J.M., VAN AMBURGH M.E., 2004.** Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. J. Anim. Sci., 82, 1157-1164.
17. **MEYER, R.F; KNUDSEN, R. C. 2001.** Foot-and-mouth disease: A review of the virus and the symptoms. Journal of Environmental Health; Denver Vol. 64, N° 4, 21-3.
18. **MEZIANE T.,2001.** Contribution à l’étude de l’effet de la salinité de l’eau de boisson et d’un régime à base de paille chez les brebis de race Ouled Djellal dans les hauts plateaux sétifiens. Thèse Doctorat (Constantine), 162p.
19. **NAMPANYA S., SUON S., RAST L., P. A. WINDSOR., 2012.** Improvement in smallholder farmer knowledge of cattle production, health and biosecurity in Southern Cambodia between 2008 and 2010. Transbound. Emerg. Dis. 59,117–127.
20. **OIE / Iowa State University, 2007.** Disease card Foot and Mouth Disease. Center for Food Security and Public Health, Ames, Iowa, USA. pp.16.
21. **OIE., 2009.** Terrestrial Animal Health Code Office Internationale des Epizooties, Paris,OIE
22. **PAYNE J.M., 1983.** Maladies métaboliques des ruminants domestiques. Editions du Point Vétérinaire, 190p., Tverdal A., Eloranta E., Dahl E., Holand Ø., Saarela S.,

- Ropstad E., 2005. Variation of plasma protein parameters in four free-ranging reindeer herds and in captive reindeer under defined feeding conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A.*, 142, 503-511.
23. **PERRY B. D., RICH K.M., 2007.** Poverty impacts of foot-and-mouth disease and the poverty reduction implications of its control. *Vet. Rec.*160, 238–241.
24. **RANNOU B., 2014.** Savoir faire un prélèvement. Em consulte. Doi : 10.1016/S1283-0828(14)63206-3
25. **RICO G., J.-P. BRAUN, P. BENARD. 1976.** Blood reference values in the lamb (Na, k, Ca, P, Mg, Cu, Zn, Cl, Urea, Total proteins, Creatinine, Uric acid, Alkaline phosphatase, Aspartate amino transferase, Cholesterol and Hemoglobin). *Annales de Recherches Vétérinaires, INRA Editions*, 7 (3), pp.241-252.
26. **ROUSSI H., GUESMI A., 2004.** Etude comparée de la population des protozoaires ciliés dans le rumen des ovins et caprins. *CIHEAM - Options Méditerranéennes : Série A, Séminaires Méditerranéens*, n° 59, 57-59.
27. **SÄKKINEN H., TVERDAL A., ELORANTA E., DAHL E., HOLAND Ø., SAARELA S., ROPSTAD E., 2005.** Variation of plasma protein parameters in four free-ranging reindeer herds and in captive reindeer under defined feeding conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A.*, 142, 503-511.
28. **SCHICHOWSKI, C., MOORS, E., & GAULY, M., 2008.** Effects of weaning lambs in two stages or by abrupt separation on their behavior and growth rate. *Journal of Animal Science*, 86(1), 220–225. doi:10.2527/jas.2007-0198 Schichowski, C., Moors, E., & Gauly, M. (2008). Effects of weaning lambs in two stages or by abrupt separation on their behavior and growth rate. *Journal of Animal Science*, 86(1), 220–225. doi:10.2527/jas.2007-0198
29. **SORDEN S and ANDREASEN C .,** USDA Higher Education Challenge Grant in collaboration with the Iowa State University Department of Veterinary Pathology, Center for Food Security and Public Health (CFSPH), Armed Forces Institute of Pathology (AFIP), and Plum Island Animal Disease Center (PIADC).
30. **SOUZA, D. F., MONTEIRO, A. L. G.; DITTRICH, R. L.; SCHMIDT, E. M. S.; FERNANDES, S. R.; BELTRAME, O. C. 2014.** Dinâmica pré e pós colostrar de parâmetros bioquímicos em cordeiros. *Ciência Animal Brasileira, Goiânia*, v. 15, n. 3, p. 313-321.

31. **THIVEND P., FONTY G., 1985.** Jouany J-P., Durand M., Gouet Ph. Le fermenteur rumen. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 25 (4 B), 729-753.
32. **TOMA B., DUFOUR B., 2010.** La fièvre aphteuse, Polycopie des Unités de maladies contagieuses des écoles vétérinaires françaises. In: Marial (Ed.), Lyon, p. 55.
33. **TURNER K.E., WILDEUS S., COLLINS J.R., 2005.** Intake, performance, and blood parameters in young goats offered high forage diets of lespedeza or alfalfa hay. *Small Rumin. Res.*, 59, 15-23.
34. **VALTONEN M.H., UUSI-RAUVA A., ERIKSSON L., 1982.** The effect of protein deprivation on the validity of creatinine and urea in evaluation of renal function. An experimental study in the goat. *Scand J Clin Lab Invest.*, 42(6), 507-512.
35. **WATTIAUX M.A., 2004.** Métabolisme protéique chez la vache laitière. l'Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier, Université du Wisconsin, Madison.
36. **WATTIAUX M.A., ARMENTANOL E., 2005.** Métabolisme des hydrates de carbone chez la vache laitière. l'Institut Babcock pour la Recherche et le Développement International du Secteur Laitier, Université du Wisconsin, Madison.
37. **YEKELEYA C.J., 2000.** La fièvre aphteuse au Sénégal et ses répercussions en élevage laitier intensif. Th. : Méd. Vét : Dakar, 7.

ANNEXES

Annexe 01 : Recommandations pour le stockage des différents constituants du plasma ou du sérum rapidement séparé des éléments cellulaires.

Elément à analyser	20°C	0° - 4°C	-20°C	OBSERVATION
Phosphate alcalin	7 jours	7 jours	1 mois	
Albumine	7 jours ¹ 4 jours ²	1 mois ¹ 7 jours ²	2 mois ¹ 11 jours ²	
ALT (GPT)	2 jours	1 semaine	instable	Instable au moment de la décongélation
Amylase	1 mois	1 mois	2 mois	
AST (GOT)	2 jours	2 semaines	1 mois et plus	
Bilirubine	-----	1 mois	3 mois	Protéger de la lumière
Urée	8 heures	10 jours	+ieurs mois	
Calcium	10 jours	10 jours	10 jours	
Cholestérol	7 jours	-----	6 mois	
CK	2 heures	6 heures	instable	
Créatinine	1 semaine	1 semaine	stable	
Glucose	8 heures 24 heures ³	72 heures	stable	
Gamma G1	2 jours	1 semaine	1 mois	
Phosphore inorg	-----	1 semaine	3 semaines	
LDH ⁴	Non recommandé	1 – 3 jours	1 – 3 jours	
Sorbitol déshydrogénase	Non recommandé	2 jours	Non recommandé	
Protéines totales	1 semaine	1 mois	stable	
Acide urique	8 heures	1 semaine	2 mois	

① Quand l'analyse utilise une méthode de fixation de colorant

② Quand l'analyse utilise l'électrophorèse

③ Avec l'utilisation de fluorure de sodium

④ Les isoenzymes de la HDL variable LDL1=1mois à toutes les températures LDH2-LDH5=10 jours à 25°C, LDH2 et LDH3 1mois à -20°C ; LDH4= moins de 2 jours à -20°C ; LDH5= moins de 8 jours à -20°C.

Annexe 02 : Paramètres stables dans le sérums.

CHOIX DE L'ANTICOAGULANT

	Héparinate de LI	Complexes E.D.T.A	Fluorure de Sodium	Oxalate (Wintrobe)	Citrate	Tube sec Sérum	Perturbation par hémolyse
Glucose	O	O	+	O		O	
Urée	+	+				+	
Créatinine	+	+				+	*
Protéines totales	O					+	
Albumine	O	O				+	*
Cholestérol	O	O				+	
Triglycérides	+	O				+	
Bilirubine	O	O				+	*
Enzymes	(Amy, CK, PAL, TGO, TGP)	O (CK, TGP, TGO)				+	*
pH		+					
Ions	+						*
Hématologie	(Hb, Hcb)	+				O	*
Facteurs de l'hémostase				+	+		*

Signification des symboles :

(+ : recommandé ; O : possible ; * : analyse perturbée par l'hémolyse)

Enzymes : Amy : Amylase ; CK : Créatine Kinase ; PAL : Phosphatases Alcalines ; TGO : Transaminase Glutamique Oxaloacétique ; TGP : Transaminase Glutamique Pyruvique.

Ions : Na⁺ : Sodium ; K⁺ : Potassium ; Cl⁻ : Chlore.

Hématologie : (GB : Globules blancs ; GR : Globules rouges ; HB : Hémoglobine ; Hct : Hématocrite)

Facteurs de l'hémostase : (TQ : Temps de Quick ; TH : Temps de Howell)

Annexe 03 : Référentiels des paramètres sanguins utilisés par le laboratoire de Biochimie (ENSV)
(Plumb's Veterinary HandBook).

1060 REFERENCE LABORATORY RANGES

Hematology: Sheep, Goats, Swine

Test	Units	Sheep	Goats	Swine
PCV	%	27-45	22-38	32-50
HGB	g/dL	9-15	8-12	10-16
RBC	x 10 ⁶ /μL	9-15	8-18	5-8
WBC	x 10 ³ /μL	4-12	4-13	11-22
Total Protein (TPP)	g/dL	6.0-7.5	6-7.5	6-8
MCV	fL	28-40	16-25	50-68
MCH	pg	8-12	5.2-8	17-21
MCHC	g/dL	31-34	30-36	30-34
Reticulocytes	%	0	0	0-1.0
RBC diameter	microns	3.2-6	2.5-3.9	4-8
RBC life	days	140-150	125	75-98
M:E ratio		0.77-1.68:10	0.69:10	1.77-0.52:10
Platelets	x 10 ³ /μL	250-750	300-600	325-715
Icterus Index			<5 Units	2-5
Fibrinogen	mg/dL	100-500	100-400	1-500
WBC Diff.	Absolute count/μL (% of total)			
stabs		rare	rare	0-900 (0-4)
segs		400-6000 (10-50)	1200-6250 (30-48)	3100-10350 (28-47)
lymphs		1600-9000 (40-75)	2000-9100 (50-70)	1550-13650 (39-62)
monos		0-750 (0-6)	0-550 (0-4)	200-2200 (2-10)
eos		0-1200 (0-10)	50-1050 (1-8)	50-2400 (0.5-11)
basos		0-350 (0-3)	0-150 (0-1)	0-450 (0-2)
Coagulation	seconds			
PT		13.5-15.9		
PTT		27.9-40.7		
TT		4.8-8.0		

Chemistry: Sheep, Goats, Swine

Test	Units	Sheep	Goats	Swine
Blood Urea Nitro.	mg/dL	8-20	13-28	8-24
Sodium (Na ⁺)	mEq/L	139-152	135-154	135-150
Potassium (K ⁺)	mEq/L	3.9-5.4	4.6-9.8	7.8-10.9
Chloride (Cl ⁻)	mEq/L	95-103	105-120	94-106
Glucose	g/dL	42-76	60-100	65-95
Calcium, Total	mg/dL	11.5-12.8	8.6-10.6	10.2-11.9
Creatinine	mg/dL	1-2.7	0.9-1.8	1-3
Phosphorus	mg/dL	5-7.3	4.2-9.8	7.8-10.9
Alk. Phosphatase	U/L	68-387	9-131	9-20
Bilirubin Total	mg/dL	0.14-0.32	0-0.9	0-0.7
Creatine Kinase	IU/L	42-62	<38	
Gamma GT	U/L	25-59	24-39	
Total Protein (TP)	g/dL	6-7.9	6.4-7.8	7.4
Albumin	g/dL	2.4-3	2-4.4	3.4
SDH	U/L	5.8-27.9	14-23.6	

Résumé

Cette étude s'intéresse aux tests biochimique et sérologique en cas de Fièvre Aphteuse

Un dosage de glucose, des protéines totales et de l'urée a été fait sur des sérums recueilli d'agneaux et suspecter d'être atteint de FA.

On a observé une variation des taux de ces paramètres sanguins mais elle ne peut pas être liée directement à l'infection par le FMDV, car il y a eu plusieurs facteurs qui risquent de perturber leurs concentrations notamment l'hémolyse, la récolte tardive du sérum et la longue durée de congélation des prélèvements.

Pour les tests sérologiques, le laboratoire central de l'INMV pratique le test ELISA de compétition pour la détection des anticorps dirigés contre les protéines non-structurales (3 ABC) afin de détecter l'infection par le virus de la FA et pour la recherche des anticorps contre les protéines structurales pour déterminer le sérotype.

Nous n'avons pas pu pratiquer des tests sérologiques à défaut de présentation des cas.

Mots clés : Biochimie, FMDV, glucose, protéines totales, urée, test ELISA.

Abstract

This study is interested in biochemical and serological tests in case of Foot and Mouth Disease

Glucose, total protein and urea were tested on sera collected from lambs suspected of having FMD.

A variation in the levels of these blood parameters has been observed, but it cannot be directly linked to FMDV infection, as there have been several factors, which may disturb their concentrations, notably hemolysis, late collection of serum as well as the long duration of freezing of the samples.

For serological tests, the INMV central laboratory performs the competitive ELISA test for the detection of antibodies against non-structural proteins (3 ABC) in order to detect infection by the FMD virus and for research antibodies against structural proteins to determine the serotype.

We were unable to perform serological tests due to the lack of presentation of cases.

Key words: Biochemistry, FMDV, glucose, total protein, urea, ELISA test.

ملخص

تهتم هذه الدراسة بالاختبارات الكيميائية والاختبارات المصلية في حالة مرض الحمى القلاعية.

تم إجراء اختبار الجلوكوز والبروتين الكلي واليوريا على الأمصال التي تم جمعها من الحملان المشتبه في إصابتهما بمرض الحمى القلاعية. وقد لوحظ تباين في مستويات هذه في الدم، لكن لا يمكن ربطها مباشرة بعدوى مرض الحمى القلاعية، فهناك عدة عوامل تحدد اضطراب تركيزاتها، ولا سيما انحلال الدم، والجمع المتأخر لعنصر المصل عن وقت التجميد الطويل للعينات.

(فيما يتعلق بالاختبارات المصلية، يقوم المختبر المركزي للكشف عن الأجسام المضادة الموجهة ضد البروتينات غير الهيكلية لاكتشاف وللبحث عن الأجسام المضادة ضد البروتينات الهيكلية لتحديد النمط المصلي).

لم نتمكن من إجراء اختبارات مصلية بسبب عدم تقدم حالات.

الكلمات المفتاحية: فيروس الحمى القلاعية، الكيمياء الحيوية، الجلوكوز، البروتين الكلي، اليوريا، اختبار مصلي.