

**DETERMINATION DES VALEURS DE REFERENCE DE 14 CONSTITUANTS
BIOCHIMIQUES SANGUINS CHEZ DES POULETS DE CHAIR DE LA SOUCHE
ARBOR ACRES**

Arzour- Lakehal. Nedjoua^{1*}, Boudebza. Assia¹, Jaillardon. Laititia²

¹ laboratoire PADESCA. ISV El khroub. Université des frères Mentouri. Constantine. Algérie.

²LDH vet. ONIRIS. Nantes. France.

* Auteur Correspondant: arzourne@gmail.com

RÉSUMÉ

Le but de cette étude est de proposer une démarche pratique afin de déterminer des valeurs de référence pour les variables biochimiques sanguines dosées chez des poulets de chair de la souche Arbor Acres jeunes (moins de 1 mois) et adultes (plus d'un mois). À 14, 21, 28, 35, 42, 57 jours, vingt oiseaux ont été sacrifiés par décapitation. Le sang pour analyse a été prélevé au niveau de la veine jugulaire, séparé par centrifugation, puis analysé immédiatement. L'influence de l'âge a été significative pour la majorité des analytes étudiés. Une diminution significative de la glycémie, cholestérolémie, triglycéridémie, phosphatémie, magnésémie, sidérémie et kaliémie liée à l'âge a été observée. En revanche, une augmentation significative des protéines totales, du calcium et de l'ASAT a été obtenue. Les autres variables n'ont pas différé entre les deux âges. Afin de proposer des valeurs de référence, nous avons utilisé le logiciel Reference Value Advisor qui permet de calculer des limites de référence en utilisant différentes méthodes: non paramétrique, paramétrique et robuste, avec ou sans transformation Box-Cox des valeurs. Le calcul séparé des intervalles de référence pour les animaux jeunes et adultes a été nécessaire pour la plupart des variables estimées car elles n'ont pas suivi une distribution Gaussienne. Les intervalles de référence sont donc présentés pour les deux âges en utilisant la méthode non paramétrique pour l'acide urique, la créatinine, le sodium et les chlorures. La méthode robuste a été utilisée pour toutes les autres variables. Les intervalles de référence proposés seront un guide utile pour interpréter les variations biochimiques chez le poulet de chair et ainsi permettre de détecter des processus pathologiques.

ABSTRACT

Establishment of reference values of 14 biochemical blood constituents in Arbor Acres chickens

The purpose of this study is to propose a practical approach to determine reference values for blood biochemical variables assayed in young Arbor Acres chickens (less than 1 month) and adult Arbor Acres chickens (more than 1 month old). At 14, 21, 28, 35, 42, 57 days, twenty birds were sacrificed by decapitation. Blood for analysis was taken from the jugular vein, separated by centrifugation, and immediately analyzed. The influence of age was significant for most of the studied variables. A significant decrease in blood glucose, cholesterol, triglycerides, phosphorus, magnesium, potassium was observed. In contrast, a significant increase in total protein, calcium and ASAT was obtained. The other variables did not differ between the two ages. In order to propose reference values, we used Reference Value Advisor software that allows the calculation of reference limits using different methods: non-parametric, parametric and robust, with or without Box-Cox transformation of the values. Separate calculation of reference intervals for young and adult animals was required for most of the estimated parameters. Not all variables followed a Gaussian distribution. Reference ranges are therefore presented for both ages using the non-parametric method for uric acid, creatinine, sodium and chloride. The robust method was used for all other variables. The proposed reference intervals will be a useful guide for interpreting biochemical variations in broiler chickens and thus to detect pathological processes.

INTRODUCTION

Les intervalles de référence sont utilisés pour interpréter les mesures biologiques. Ces valeurs représentent les mesures que l'on est susceptible de trouver chez des animaux sains en fonction de leur état physiologique ; elles doivent permettre de détecter les processus pathologiques. Reference Value Advisor est un logiciel à utiliser avec Microsoft Excel pour calculer les limites de référence à l'aide de différentes méthodes ; non paramétrique, paramétrique et robuste, avec ou sans transformation Box-Cox des valeurs (Geffré et al., 2011). Le profil biochimique sanguin du poulet de chair a été examiné dans plusieurs études, mais les valeurs obtenues sont extrêmement variables, les souches utilisées étant différentes, les conditions d'élevage ainsi que les méthodes biochimiques utilisées n'étant pas obligatoirement mentionnées (Bowes et al., 1989; Arslan et al., 2001 ; Silva et al., 2007). Par conséquent, l'objectif de ce travail est d'établir des intervalles de référence pour des indices biochimiques chez 2 groupes d'âge de poulets de chair (jeunes et adultes) de la souche lourde Arbor Acres à l'aide du logiciel Reference Value Advisor version 2.1.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériel

1.1.1 Milieu d'étude

L'étude a été réalisée au niveau de l'Unité de Poulet de Chair (UPC) de Benboulaid (Complexe Avicole de Batna) située à la périphérie de Constantine.

1.1.2 Constitution de l'échantillon de référence

L'étude a porté sur des poulets de chair de la souche Arbor Acres. Les poussins ont été élevés à une température ambiante de 32°C durant les trois premiers jours, réduite de 2°C chaque semaine jusqu'à arriver à une température constante de 24°C. Un éclaircissement de 24H/24H a été respecté les 3 premiers jours, cette durée a été dans un premier temps réduite à 14 heures d'éclaircissement entre 16 et 21 jours d'âge, puis augmentée de 2 heures par semaine jusqu'à arriver à 22 heures d'éclaircissement de 42 jours jusqu'à l'abattage. L'eau et 2 types d'aliment (démarrage et croissance) ont été distribués *Ad libitum* pendant la durée de l'élevage.

1.1.3 Les critères d'inclusion et d'exclusion

Ont été inclus dans notre étude, des animaux en bonne santé, ne présentant aucun signe de pathologie visible. Afin de limiter le risque de variabilité inter-individuelle, chaque groupe d'individus sélectionnés présentaient des poids avoisinants. Ont été exclus les sujets présentant des retards de croissance, des boiteries, ou tout autre signe de pathologie (diarrhée, jetage, prostration). 15 sujets ont été exclus pour retard de croissance.

1.1.4 Les critères de partition

Des méthodes statistiques permettent de partager une population de référence en sous-ensembles plus homogènes, mais il ne faut retenir que ceux susceptibles d'avoir une influence sur l'interprétation clinique. Dans notre étude, c'est l'âge qui a été retenu comme critère de partition. Les poulets ont été repartis en 6 lots de 20 individus. Chaque lot représentant un âge différent. Au total 120 poulets ont fait partie de cette étude, 60 poulets jeunes de moins d'un mois et 60 poulets adultes de plus d'un mois d'âge. Le sexe n'a pas été retenu comme critère de partition dans cette étude.

1.2. Méthodes

1.2.1 Les prélèvements

A J14, J21, J28, J35, J42, et J57 vingt poulets ont été sacrifiés par décapitation. Du sang pour analyse a été prélevé au niveau de la veine jugulaire, puis récolté dans des tubes héparinés. Le plasma sanguin a été séparé par centrifugation à 3,000 tours/min pendant 10 minutes, puis analysé immédiatement.

1.2.2 Analyses biochimiques

Un choix a été entrepris concernant les variables recherchées. Les analytes sélectionnés pour cette étude l'ont été en fonction de la disponibilité des réactifs de laboratoire, ainsi que de la faisabilité des techniques de dosages.

Tous les paramètres ont été dosés sur un automate de biochimie-immunologie ; l'Architect ci 8200 (Abbott Diagnostics, Illinois, USA) utilisant des kits commerciaux. Les méthodes analytiques utilisées sont rapportées dans le tableau 1.

1.2.3 Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide de la version 2.1 de Reference Value Advisor (Geffré et al., 2011). Le test de Shapiro-wilk a été utilisé pour évaluer la distribution des données. Les valeurs aberrantes ont été testées à l'aide des tests de Dixon-Reed et de Tukey. Une analyse de variance a été utilisée pour évaluer les différences significatives attribuables à l'âge pour tous les analytes mesurés. Les intervalles de référence ont été déterminés à l'aide de la méthode non paramétrique lorsqu'au moins 120 valeurs de référence étaient disponibles, les percentiles 2,5 et 97,5 servant de limites de référence inférieure et supérieure. Lorsque le nombre d'individus de référence était inférieur à 120, les intervalles de référence ont été calculés par la méthode robuste ou la méthode paramétrique si la normalité a pu être établie (Friedrich et al., 2012). Pour les paramètres présentant une variation statistique attribuable à l'âge, des intervalles de référence distincts ont été calculés. Les valeurs de p calculées $\leq 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Résultats

Les résultats sont présentés dans les tableaux 2 et 3. Toutes les données sont rapportées en (moyenne $\pm$ DS). Une diminution significative liée à l'âge de la glycémie, du cholestérol, des triglycérides, des phosphates, du magnésium, du fer et du potassium a été observée. En outre, une augmentation significative liée à l'âge des protéines totales, du calcium et de l'ASAT a été obtenue. Les autres variables ne différaient pas significativement entre les âges. Le calcul des intervalles de référence distincts pour les animaux jeunes et adultes était nécessaire pour la plupart des analytes estimés. Toutes les variables ne suivaient pas une distribution normale. Les intervalles de référence sont présentés en utilisant la méthode non paramétrique pour l'acide urique, la créatinine, le sodium et les chlorures. La méthode Robuste a été utilisée pour toutes les autres variables.

2.2 Discussion

2.2.1 Métabolisme protéique

Des concentrations plus élevées de protéines sont retrouvées chez les poulets adultes. Ceci est décrit par plusieurs auteurs (Szabo et al., 2005 ; Filipovic et al., 2007), et est dû à un développement somatique intense pendant la phase de démarrage et probablement à une augmentation du nombre de nombreuses immunoglobulines. Arslan et al. (2001) n'ont pas retrouvé de différence significative entre poulets jeunes et adultes et des valeurs inférieures à celles rapportées dans la présente étude.

Chez les oiseaux, l'acide urique est la principale molécule du catabolisme azoté (Donsbough et al., 2010) et joue un rôle essentiel en tant que puissant régulateur du stress oxydatif (Rajman et al., 2006). Szabo et al. (2005) ont montré une relation directe entre la quantité de protéines ingérées et les taux d'acide urique dans le sang. La concentration élevée en protéines typique du régime alimentaire de démarrage entraîne une augmentation des taux d'acide urique dans le sang.

La concentration de la créatinine est directement proportionnelle à la masse musculaire (Szabo et al., 2005; Rajman et al., 2006). Il a été rapporté que les valeurs de la créatinine augmentent avec l'âge et la masse musculaire. Cela n'a pas été documenté dans la présente étude. En effet, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les poulets jeunes et adultes. Semblables à nos résultats, Reçeci et col. (2011) n'ont pas signalé de différence significative pour la créatinémie entre volailles jeunes et adultes mais des valeurs supérieures à celles mentionnées dans notre étude.

2.2.2 Métabolisme lipidique

Les lipides sont fortement associés au métabolisme énergétique (Piotrowska et al., 2011) et reflètent des différences marquées entre le métabolisme immédiat après l'éclosion et le métabolisme en croissance (Szabo et al., 2005). Dans la présente étude, des valeurs plus

élevées de cholestérol et de triglycérides plasmatiques ont été observées chez les jeunes, par rapport aux adultes. La concentration plasmatique en triglycérides a atteint un pic chez les jeunes, reflétant un métabolisme et un transport des lipides précoces, ainsi qu'une mobilisation importante des réserves énergétiques. Semblable à nos résultats, Peebles et al. (1997), Reçeci et Col. (2001), ont observé une diminution générale des triglycérides et du cholestérol dans le sang avec l'âge des oiseaux.

2.2.3 Métabolisme glucidique

Les oiseaux ont des concentrations de glucose plasmatique supérieures de 150 à 300% à celles des mammifères de masse corporelle similaire. Le glucose est utilisé par les oiseaux pour diverses fonctions. Le taux de glucose sanguin dépend de l'équilibre entre l'apport en glucides, la synthèse du glucose endogène et sa libération par le foie, le stockage, l'utilisation et l'excrétion, d'autre part (Nwaoguikpe, 2010). Les valeurs de glycémie plus élevées chez l'adulte par rapport aux jeunes sont rapportées par plusieurs auteurs (Reçeci et Col, 2001 ; Hernandez et Margalida, 2010).

2.2.4 Métabolisme minéral

La présente étude a révélé des taux de calcium plus bas et des taux de phosphates, de magnésium, de potassium et de fer plus élevés chez les jeunes poulets par rapport aux poulets adultes. Aucune différence significative n'a été observée pour le sodium et les chlorures entre les poulets jeunes et les poulets adultes. Les résultats des enquêtes précédentes sont diversifiés. Certaines d'entre elles ont clairement montré une tendance à la hausse au cours des premières semaines et d'autres études n'ont révélé que des fluctuations des concentrations de calcium et des phosphates (Bowes et al., 1989). Szabo et al. (2005) ont signalé que la faible concentration de la calcémie dans la période qui a immédiatement suivi l'éclosion peut provenir de l'épuisement précoce et progressif de la source de calcium qui était jusque là représenté par la coquille de l'œuf, compensé par la suite par le régime alimentaire. Stockham et Scott (2008) ont indiqué que les niveaux élevés de phosphore chez les jeunes animaux sont probablement dus à une activité ostéoblastique accrue lors d'une croissance osseuse rapide. Une diminution progressive liée à l'âge du contenu en magnésium dans le sang (Bowes et al., 1989) et en potassium (Hochleithner, 2013) en relation avec l'apport alimentaire a été rapportée.

Les niveaux les plus élevés de fer chez les jeunes poulets sont en accord avec les études précédentes qui ont révélé une diminution progressive du fer plasmatique avec l'âge. L'activité érythropoïétique diminue avec l'âge, ce qui explique les besoins moins élevés en fer des poulets plus âgés par rapport aux poulets plus jeunes (Piotrowska et al., 2011). Mohanna et Nys (1989) ont rapporté que l'utilisation de fer chez les poulets diminuait rapidement avant le 21^{ème} jour et

qu'après, seules des fluctuations étaient observées jusqu'à la fin de la période d'engraissement.

2.2.5 Activités enzymatiques

L'activité de l'ASAT se produit dans de nombreux tissus chez les oiseaux, comme le foie ou les muscles. Dans le présent document, ces concentrations sont plus élevées chez les poulets adultes par rapport aux jeunes. Hochleithner (2013) a également révélé une augmentation de l'activité de l'ASAT liée à l'âge. Les concentrations plus élevées par rapport à celles rapportées dans la littérature (Arslan et al., 2001) sont certainement dues à la méthode de prélèvement utilisée qui aurait pu biaiser le résultat ; cette enzyme étant

présente dans les cellules musculaires peut être libérée à la faveur de la décapitation.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude fournissent des données sur les changements des variables biochimiques chez les poulets de chair jeunes et adultes de la souche Arbor Acres, conformément aux recommandations approuvées par la Société américaine de pathologie clinique (ASVP). Ils peuvent constituer un guide utile pour l'interprétation des variables biochimiques plasmatiques et la surveillance de l'état de santé des poulets de chair.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arslan, M ; Ozcan, M ; Matur, E ; Coteliloglu, U and Ergul, E (2001). The effects of vit E on some blood parameters in broilers. Turk.J.Vet.Anim.sd. 25 :711-716.
- Bowes, V.A., R.J. Julian, and T. Stirtzinger (1989). Comparison of serum biochemical profiles of male broilers with female broilers and White Leghorn chickens. Can. J. Vet. Res. 53: 7-11.
- Donsbough, A.L., S. Powell, A. Waguespack, and T.D. Binder (2010). Southern LL. Uric acid, urea and ammonia concentrations in serum and uric acid concentration in excreta as indicators of amino acid utilization in diets for broilers. Poult. Sci. 89: 287- 294.
- Filipovic, N., Stojevic, S., Milinkovic-Tur, S., Ljubic, B. and Zdelar-Tuk, M., 2007. Changes in concentration and fractions of blood serum proteins of chickens during fattening. Veterinarski arhiv, 77(4):319-326.
- Friedrichs, K.R., Harr, K.E., Freeman, K.P., Szladovits, B., Walton, R.M., Barnhart, K.F. and Blanco-Chavez, J., 2012. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. Vet Clin Pathol 41/4 : 441-453.
- Geffré, A., Concordet, D., Braun, J.P. and Trumel, C., 2011. Reference Value Advisor : a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with microsoft excel. Vet Clin Pathol. 2011 Mar; 40(1):107-12.
- Harr, K (2006). Diagnostic value of biochemistry. In: HaCrrison G.J and Lightfoot T.L. Clinical avian medicine. 1: 611-629.
- Hernandez, M. and A. Margalida (2010). Haematology and blood chemistry reference values and age- related changes in wild Bearded Vultures (Gy- paetus Barbatus). Journal of Wildlife disease. 46: 390-340.
- Hochleithner, M (2013). Chapter 11: Biochemistries. In: Avian medicine online, by Harrison's bird foods: 223-245.
- www.avianmedicine.net/publication/chapter11
- Mohanna, C. and Y. Nys (1998). Influence of age, sex and cross on body concentrations of trace elements (zinc, iron, copper and manganese) in chickens. Br. Poult. Sci. 39: 536-543.
- Nwaoguikpe, R.N (2010). Plasma glucose, protein and cholesterol levels of chicks or birds maintained on pawpaw (Carica papaya) seed containing diet. Pak. J. Nutr. 9: 654-658.
- Peebles, E.D., J.D. Cheaney, J.D. Brake, C.R. Boyle, and M.A. Latour (1997). Effects of added dietary lard on body weight and serum glucose and low density lipoprotein cholesterol in random bred broiler chickens. Poult. Sci. 76: 29-36.
- Piotrowska, A., K. Burlikowska, and R. Szymeczko (2011). Changes in blood chemistry in broiler chickens during the fattening period. Folia biologica (Krakow). 59: 183-187.
- Rajman, M., M. Jurani, D. Lamosova, M. Macajova, M. Sedlackova, L. Kostal, D. Jesova, and P. Vyboh (2006). The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (Gallus gallus). Comp. Biochem. Physiol. A. 145: 363-371.
- Reçeci, T. and R. Col (2001). Haematological and biochemical values of the blood of pheasants (Phasianus colchicus) of different ages. Turk. J. Anim. Sci 35(3) :149-156.
- Silva, P.R.L., O.C. Freitas Neto, A.C. Laurentiz, O.M. Junqueira, and J.J. Fagliari (2007). Blood serum components and serum protein test of hybro-PG broilers of different ages. Brazilian J. Poult. Sci. 9: 229-232.
- Stockham, S.L. and M.A. Scott (2008). Fundamentals of veterinary clinical pathology. 2nd ed. Blackwell Pub. Ames, Iowa, 908.

Tableau 1. Méthodes analytiques utilisées sur ARCHITECT ci 8200 pour les analyses biochimiques sur plasma de poulet de chair.

Analytes	Méthodes	Kits commerciaux
Protéines totales	Méthode de Biuret. Colorimétrique.	Architect/aeroset Clinical chemistry Abbott laboratories. USA
Créatinine	Méthode de Jaffé. Colorimétrique.	
Acide urique	Uricase/ POD. Méthode enzymatique.	
Glucose	Hexokinase/G-6-PDH. Méthode enzymatique colorimétrique.	
Cholestérol total	CHOL OX- HBA. Méthode enzymatique colorimétrique.	
Triglycérides	GPO-POD. Méthode enzymatique colorimétrique.	
Calcium	Arsenazo III. Méthode colorimétrique.	
Magnésium	Bleu de Xylidyle. Méthode colorimétrique	
Phosphates	Phosphomolybdate. Méthode colorimétrique.	
Fer	FerroZine. Méthode colorimétrique.	
Sodium	Electrodes sélectives	
Potassium		
Chlorures		
Aspartate aminotransferase	NADH. Cinétique.	

Tableau 2. Variables biochimiques (moyenne±DS) chez des poulets jeunes (moins d'un mois) et des poulets adultes (plus d'un mois) chez la souche Arbor Acres

Variable	Unité	Moins d'un mois n=60	Plus d'un mois n=60
		Moyenne±DS	Moyenne±DS
Protéines totales	g/L	25.96±10.41	31.12±5.36**
Créatinine	mg/L	2.58±0.52	2.44±0.50
Acide urique	mg/L	67.22±20.20	66.04±29.30
Glucose	g/L	2.33±0.56	1.72±0.70**
Cholestérol	g/L	1.33±0.23	0.80±0.37**
Triglycérides	g/L	0.88±0.27	0.53±0.22**
Calcium	mg/L	83.63±26.67	110.69±16.11**
Magnésium	mg/L	20.43±3.60	17.68±6.27**
Phosphates	mg/L	61.90±10.59	52.37±17.51**
Fer	µg/dL	97.25±23.55	81.43±31.03**
Sodium	mEq/L	148.50±7.65	147.95±10.54
Potassium	mEq/L	5.40±0.68	4.55±0.64**
Chlorures	mEq/L	112.17±5.01	112.01±7.44
ASAT	U/L	198.45±65.70	231.53±27.22**

* : significatif (p<0.05), ** : très significatif (p<0.01)

Tableau 3. Valeurs de référence pour quelques variables biochimiques chez la souche Arbor Acres¹.

Variable	Unité	n	Groupes d'âges ²	Intervalle 2.5-97.5	Méthode robuste	Méthode paramétrique	90% pour lim inf	IC pour lim sup	90% pour lim sup	IC lim
Protéines totales	g/L	60	J		9-44		8- 11		39-45	
		60	A		21.6-47.5					
Créatinine	mg/L	120	T	2-3.7			2-2		3.3-4.9	
Acide urique	mg/L	120	T	23-112			22-32		99-140	
Glucose	g/L	60	J		1.2-3.5		1-1.5		3.3-3.7	
		60	A		0.7-3.2					
Cholestérol total	g/L	60	J		0.8-1.8		0.8-0.9		1.7-1.9	
		60	A		0.2-1.5					
Triglycérides	g/L	60	J		0.3-1.4		0.2-0.4		1.3-1.6	
		60	A		0.2-1.3					
Calcium	mg/L	60	J		31-141		19-46		135-165	
		60	A		77- 142					
Magnésium	mg/L	60	J		12-27		10-14		25-29	
		60	A		7-31					
Phosphates	mg/L	60	J		40-82		35-45		77-87	
		60	A		15-76					
Fer	µg/dL	60	J		52-147		42-62		138-156	
		60	A		23-152					
Sodium	mEq/L	120	T	125-163			122-134		161-189	
Potassium	mEq/L	60	J		3.9-6.7		3.5-4.2		6.5-7	
		60	A		3.2-6.7					
Chlorures	mEq/L	120	T	95-123			90-101		122-141	
ASAT	U/L	60	J		58-295		51-72		277-296	
		60	A		175-286					

¹: Valeurs présentées par groupe d'âges ou pour les deux âges selon qu'il y ait différence ou non. ²: T: tous les âges ; J: jeunes; A: adultes.