RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTÉRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVÉRSITÉ IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES
DÉPARTEMENT DE SANTÉ ANIMALE

PROJET DE FIN D'ÉTUDES EN VUE D'OBTENTION DE DIPLOME DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

SOUS LE THÉME:

PARAMÉTRES HÉMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES CHEZ LE CHEVAL BARBE

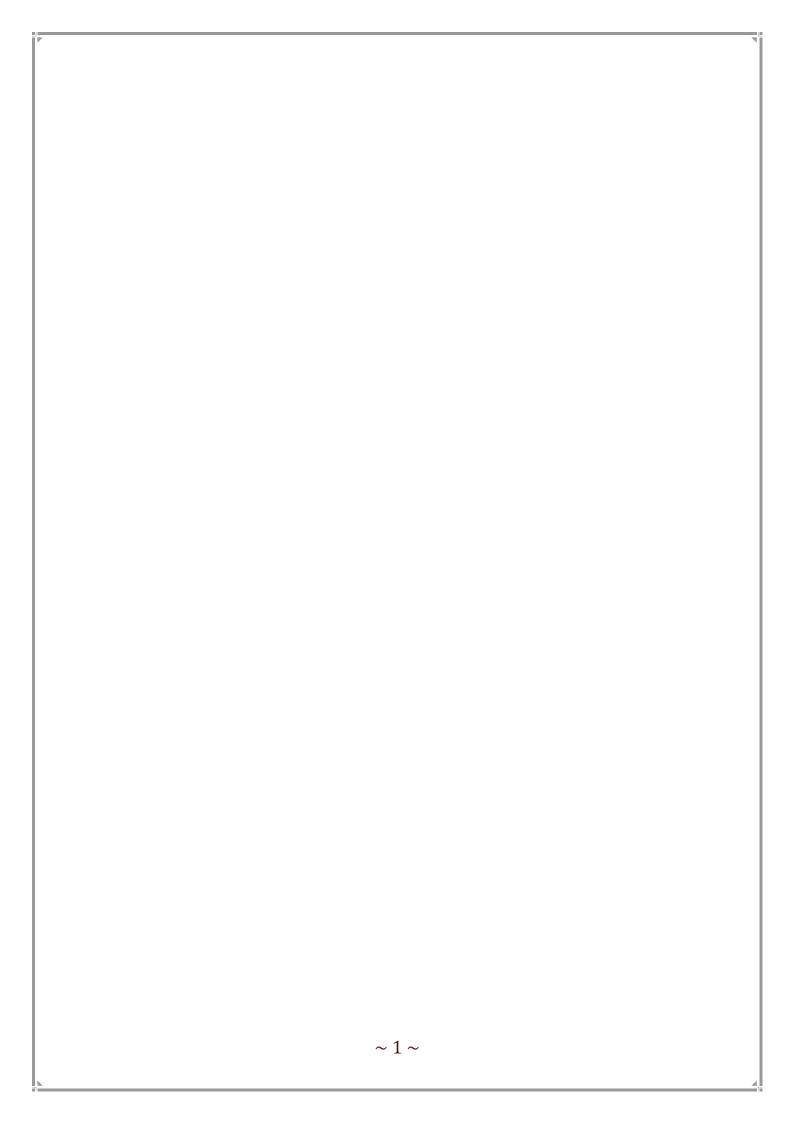
PRÉSENTÉ PAR : ENCADRÉ PAR :

MLLE HENNI FATIMA ZOHRA DR CHIKHAOUI MIRA

CO-ENCADREUR:

DR RAHAIIE FADHILA





PEMERCIEMENT

Je tiens à remercier en premier lieu, ma chère famille pour son soutien et son encouragement pendant tout mon cursus scolaire et plus particulièrement, durant ces cinq dernières années d'étude universitaire.

Je tiens à remercier en second lieu, mon encadreur Mme.
CHIKHAWI MIRA de m'avoir donné la chance d'aborder ce thème
et de réaliser cette étude et c'est ainsi que je redécouvre un
cheval patrimoine qu'est le barbe.

Je présente aussi tous mes sentiments de reconnaissance à mon Co-encadreur Mme. RAHAIIE FADHILA pour sa confiance et sa sympathie et de m'avoir assisté avec patience le long de notre travail ensemble au laboratoire.

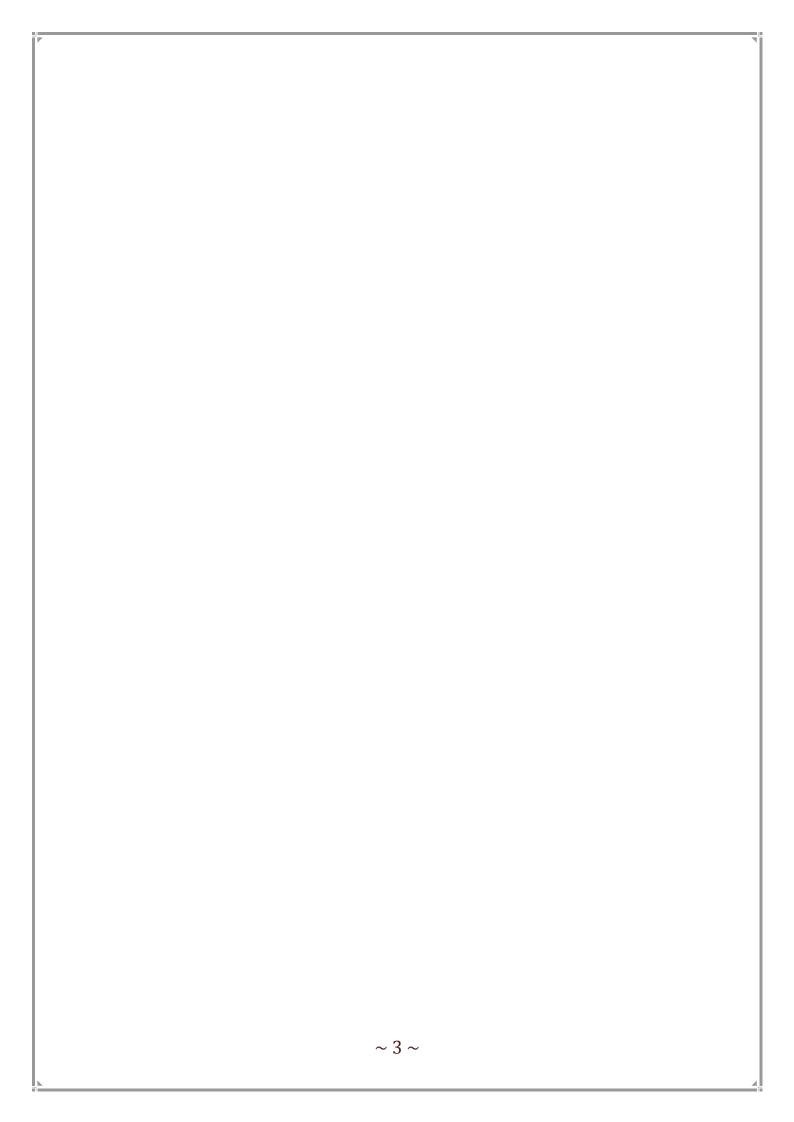
Sans oublier, Mlle ADDA FOUZIA pour son aide et pour les bons moments qu'on a passés ensemble depuis le début du travail.

Je remercie encore Mme. MOKHTARI AMEL médecin vétérinaire au sein de l'ONDEEC, pour sa générosité et son hospitalité ; ainsi que tout le personnel travaillant à ce centre.

Je remercie aussi Mr. le directeur de l'ONDEEC de m'avoir autorisé à accomplir ce travail au sein de son établissement.

Je remercie l'ensemble des directeurs, des professeurs et des travailleurs de l'institut vétérinaire de Tiaret.

Je remercie spécialement mes chères amies : Yasmine et Hanane pour les moments de folie qu'on a partagée ensemble.

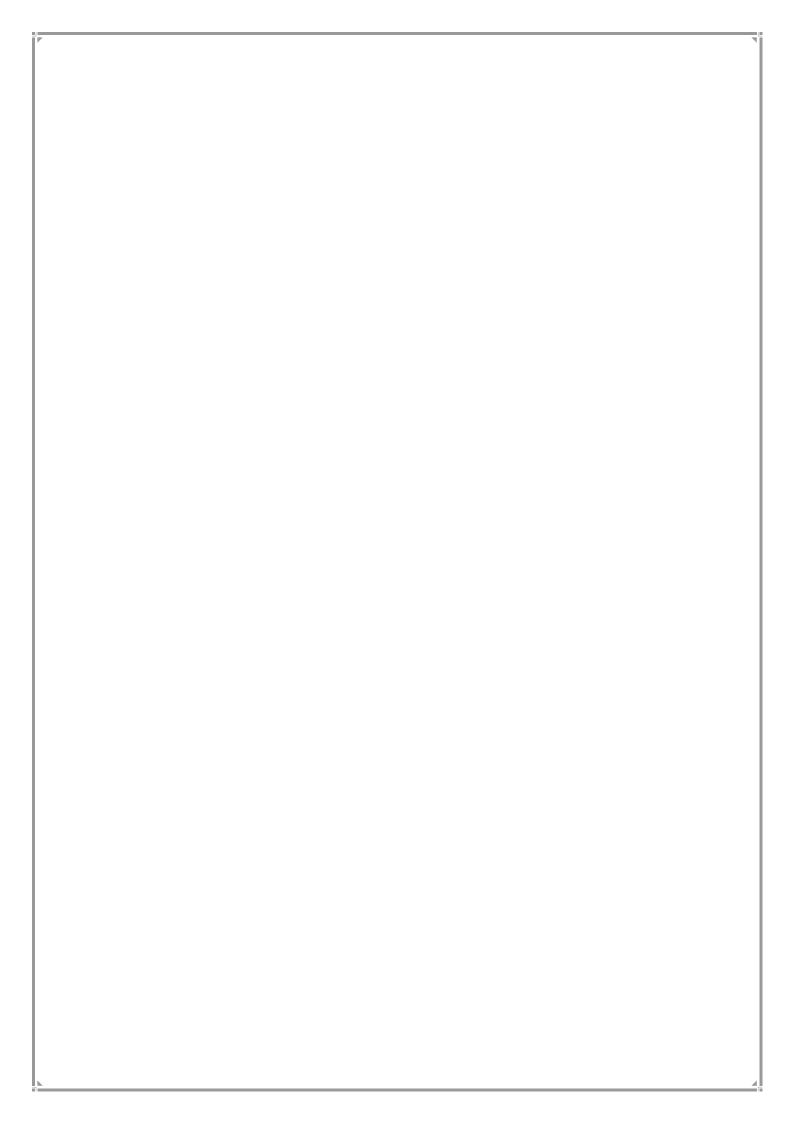




Résumé:

Cette étude consiste à établir les valeurs hématologiques et biochimiques usuelles spécifiques au cheval barbe dans la région de Tiaret.

Les prélèvements sanguins ont été menés sur un lot de chevaux composé de 10 mâles, de race barbe et arabe barbe, ayant une moyenne d'âge de 09 ans, sélectionnés au niveau de l'ONDEEC de Tiaret (office national de l'élevage équin et camelin).



Liste des figures

Figure 1 : Différentes peintures, gravures rupestres et mosaïques représentant le cheval barbe	23
Figure 2 : le barbe et le peuple numide	24
Figure 3 : chevaux barbes célèbres : Godolphin Arabian, statut du roi joseph 1 ^{er} -Lisbonne, Louis XIII et l	e cheval
barbe bai « le bonnite »	25
Figure 4 : différentes mensurations utilisées pour l'estimation du poids d'un cheval	27
Figure 5 : Comparaison entre un cheval Européen, un Arabe et un Barbe	33
Figure 6 : Comparaison De La tête d'un Barbe et celle d'un Pur-Sang-Arabe	33
Figure 7 : Morphologie Du Cheval	34
Figure 8 : Standard Du Cheval Barbe	
Figure 9 : schéma d'un tube capillaire après centrifugation	39
Figure 10 : schéma d'une cellule de dénombrement	44
Figure 11 : quadrillage d'une cellule de Malassez	44
Figure 12 : exemple de cellules chevauchantes	46
Figure 13 : étape de la réalisation d'un frottis sanguin	49
Figure 14 : zone de lecture par le microscope	49
Figure 15 : Représentation de Cram d'une molécule d'acide cholique	52
Figure 16 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine non conjuguée	53
Figure 17 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine conjuguée	
Figure 18 : Formule semi-développée de la créatinine	58
Figure 19 : Formule semi-développée d'une molécule d'urée	58
Figure 20 : Schéma de la synthèse de l'urée à partir des acides-aminés	59
Figure 21 : Schéma du rôle de la créatine kinase dans le muscle	60
Figure 22	77
Figure 23	77
Figure 24 : principales composants d'un spectrophotomètre	78
Figure 25 : schéma simple d'un spectrophotomètre UV spectroscopy, techniques, instrumentation,	79
Figure 26 : Lames, Lamelles Et Tubes Capillaires	93
Figure 27 : L'ensemble des lames après coloration regroupées par mois	
Figure 28 : Frottis sanguin après coloration MGG	94
Figure 29 : Microscope Optique	95
Figure 30 : Neutrophile	96
Figure 31 : Eosinophile	96
Figure 32 : Monocyte	96
Figure 33 : Grand Lymphocyte	96
Figure 34 : Petit Lymphocyte	96
Figure 35 : Cuve en plastique	97
Figure 36 : Chronomètre	97
Figure 37 : Spectrophotomètre (Type Novaspec II)	
Figure 38 : Four Pasteur	98
Figure 39 : Réactifs Pour Chaque Paramètre	98
Figure 40 : Micropipettes	98
Figure 41 : Fiche Technique Demontrant Les Procédure De Préparation	99
Figure 42: Reactifs Du Calcium: R1, R2 Et Le Standard	99

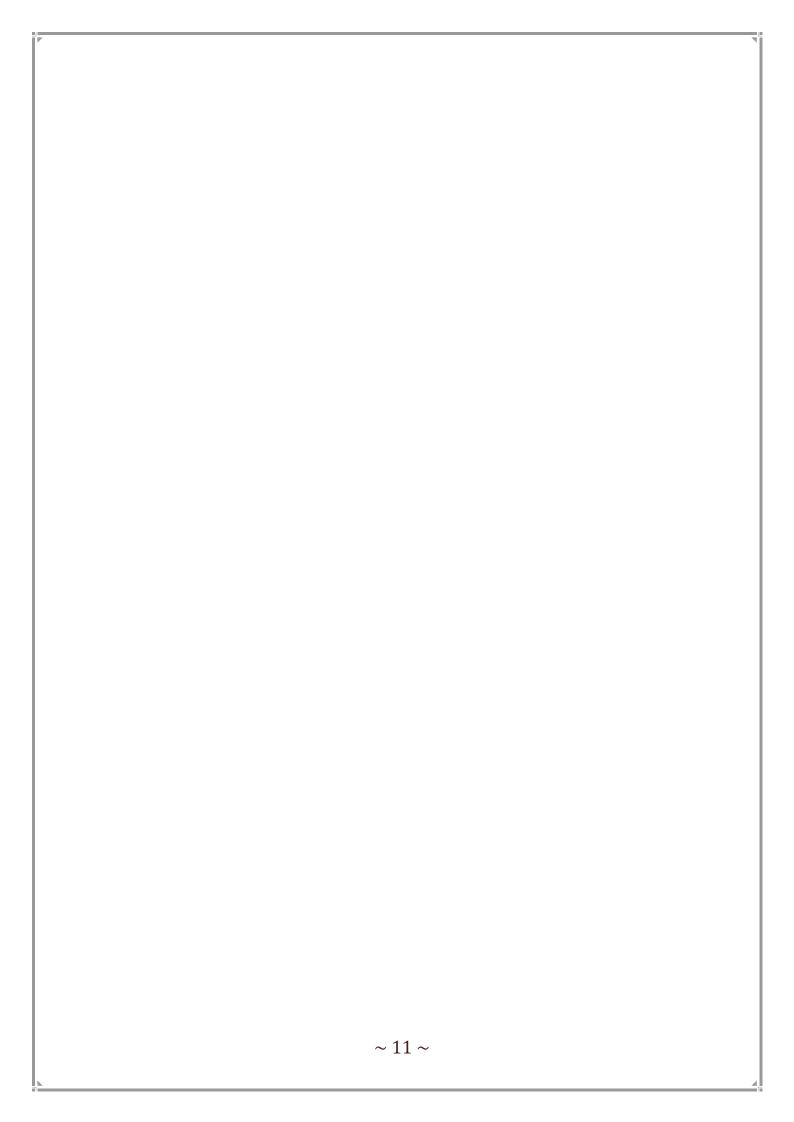
Liste des tableaux

Tableau 1:poids et mensurations (valeurs moyennes) relatifs aux barbes et arabe-barbe	27
Tableau 2: composition du lot étudié	86
Tableau 3 : Longueurs D'ondes Spécifique De Chaque Paramètre	102
Tableau 4 : Valeurs Mensuelle De L'hématocrite Et Du Taux Total Des Globules Blanc	103
Tableau 5: Formule Différentielle Leucocytaire Mois, De Novembre	104
Tableau 6 : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Janvier	105
Tableau 7 : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Février	106
Tableau 8 : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Mars	107
Tableau 9 : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois d'Avril	108
Tableau 10 : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Mai	109
Tableau 11 : Paramètres Biochimiques, Novembre 2014	
Tableau 12 : Paramètres biochimiques, Janvier 2015	
Tableau 13 : Paramètres biochimiques, Février 2015	112
Tableau 14 : Paramètres biochimiques, Mars 2015	
Tableau 15 : Paramètres biochimiques, Avril 2015	114
Tableau 16 : Paramètres biochimiques, Mai 2015	115
Tableau 17 : Unités De Mesure	116
Tableau 18 : Hématocrite et Taux Total des Globules blanc, Valeurs mensuelle moyenne et ecartype	117
Tableau 19 : Formule Leucocytaire Différentielle, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype	118
Tableau 20 : Biochimie Du Sang, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype	119
Tableau 21 : Biochimie Du Sang, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype	120
Tableau 22 : valeurs moyennes calculées pour les trois premiers mois de l'expérience et pour les trois de	erniers
	123
Tableau 23 : Valeurs Hématologiques Chez Le Barbe, EQUUS PRZEWALSKI, D'un Cheval En Bonne Santé,	Chez Les
Chevaux A Sang Chaud Et A Sang Froid Et Chez L'âne	124
Tableau 24 : Valeurs Biochimique Chez Le Barbe, EQUUS PRZEWALSKI Et D'un Cheval En Bonne Santé	125

Table des matières

Introduction	12
PARTIE I:	13
BIBLIOGRAPHIE BIBLIOGRAPHIE	13
Chapitre 1 : Ou est-ce due le cheval barbe ?	14
A. Présentation :	15
B. Origine:	15
C. Historique :	17
-L'empire Romain :	17
-Les Berbères :	18
-Les Arabes :	18
-Conquête de la péninsule ibérique (l'Espagne) :	19
-l'Europe occidentale (France et Angleterre) :	20
-La légende de « Godolphin Arabian » :	21
D. Description du cheval barbe :	26
1. Morphométrie:	27
2. Morphologie:	28
3. Le standard du barbe mis au point par l'OMCB :	28
4. Particularité anatomique du cheval barbe :	30
E. Une race aux qualités exceptionnelles :	30
-Vitalité et longévité :	30
-Qualité des tendons et des sabots :	30
-Adaptation au climat et alimentation :	31
-Apparences et allures :	31
-Caractère	31
F. Usage du cheval barbe :	32
Chapitre 2 : Les examens sanguins Chapitre 5 : Tes examens sanguins	36
Généralité	37
Connaissances actuelles sur les examens hématologiques et biochimiques chez le cheval :	37
A. Les Paramètres Hématologiques	38
A) Les érythrocytes	38
> L'hématocrite	39

	1-definition	39
	B) Les leucocytes	40
	C) Les plaquettes	42
	➤ La numération de la formule sanguine (FNS)	43
	> Technique de numération cellulaire	43
	➤ Confection Des Frottis Sanguins	46
	> Coloration Panoptique	50
	B. Les Paramètres Biochimiques	51
	A) Exploration de la fonction hépatique :	52
	B) Exploration de la fonction rénale :	57
	C) Exploration de l'intégrité du tissu musculaire :	60
	D) Exploration du système antioxydant :	62
	E) Le « lonogramme » :	64
	F) Cinétique enzymatique et demi-vie des molécules :	72
	G) Rappel sur la méthode de spectrophotométrie :	74
	RTIE II : EXPERIMENTATION BLIE II : EXLEUMENTATION	83
Intr	roduction	84
l.	Objectif	85
II.	Matériels et méthodes	86
1	l) Sélection et description du lot :	86
2	2) Collecte des données :	88
	a) Les prélèvements :	88
	b) Techniques d'analyse :	89
	❖ Analyses hématologiques :	90
	1-Le taux d'hématocrite :	90
	2- Le taux des globules blanc :	92
	3- formule leucocytaire différentielle :	93
	Analyses biochimiques :	97
3	3) Résultats :	116
III.	Discussion :	121
	A. Hématologie :	121
	B. Biochimie:	122
IV.	Conclusion :	126



Introduction

Le barbe, ce fameux cheval maghrébin, symbole de la fierté des peuples berbères. Compagnon de guerre, de chasse et de travail dans l'antiquité, Un cheval polyvalent de sport et de loisir dans le temps actuel.

Il occupe une place de choix dans l'histoire et la tradition et la culture algérienne. Et pourtant, il a passé dans l'oubli pendant des décennies surtout après la dissémination et la popularisation d'autres races dites « de sang » telles Le Pur-Sang Arabe et Le Pur-Sang Anglais.

La redécouverte du barbe fus couronnée par la création de l'organisation mondiale du cheval barbe (OMCB) en 1987 à Alger; et depuis, ce cheval à commencer à attirer les attention du monde entier.

Dans ce travail, nous allons essayer de lui établir des valeurs hématologiques et biochimiques spécifiques (région de Tiaret) mais d'abord, laissons-nous découvrir ce qu'est le cheval barbe ...

BIBLIOGRAPHIE BIBLIOGRAPHIE

DARTIE I: BARTIE I:

Chapitre 1 : Ou'est-ce que le cheval barbe? barbe?

A. Présentation:

Le barbe est l'une des plus anciennes races chevaline au monde, il se serait installé pendant la préhistoire en Afrique du nord donc, cette race est autochtone de la région du Maghreb (Algérie, Lybie, Maroc, Mauritanie et Tunisie). (www.elvage-narwali.fr/fr/lebarbe.html)

Il tient son nom du grec : ce sont eux qui pour désigner les populations de l'Afrique du nord utilisent le mot « Barbaros », ce qui signifie tout ce qui est : non grec ou étranger ; ce terme repris par les Romains puis par les Arabes a donné ultérieurement les vocables : Barbare, Barbarie, Barbaresque, Berbère puis beaucoup plus tard les français l'on nommé tout simplement « Cheval Barbe ». (http://handicapenselle.over-blog.org/pages/le barbe-774307.html)

B. Origine:

Ce grand cheval est certainement un cheval propre au nord de l'Afrique mais son origine fait toujours débat il a été traitée par différents auteurs et dont les opinions sont contradictoires :

- Certains affirment l'absence d'un cheval sauvage propre au Maghreb: ils disent que suite à des changements climatiques affectant la planète vers -2000 av J.C un grand mouvement de populations cavalières (provenant certainement de l'Europe centrale et de l'Asie) se déclencha amenant ainsi avec lui des chevaux de type: Tarpan, Mongol et Turcoman (chevaux primitifs domestiqués); ces différentes origines pourraient offrir au barbe quelques caractéristiques comme son exceptionnelle résistance au climat difficile, sa forte ossature, ses crins épais et denses, sa corpulence moyenne avec des épaules étroits et des membres fins et aussi la multiplicité de gènes de robes (Crème, Dun, Silver...). En conclusion, le barbe pour cette catégorie d'auteurs, provient de multiples origines et ne répond guère au concept de la race « pure et autochtone de l'Afrique du nord » ce n'est que le résultat d'une série d'évènements historiques, un assemblage en quelque sorte, s'ajoutant à eux l'adaptation aux variations climatiques. (http://www.cheval-barbe.net)
- -D'autres défendent un concept de pureté de race unique domestiquée localement : depuis les années 1980, appuyée sur diverses découvertes : gravures et peintures rupestre représentants des chevaux, ossements retrouves dans des gisements de plus de 4000 ans en Algérie. Une nouvelle hypothèse voit

la lumière c'est celle d'un cheval sauvage propre au Maghreb. Selon Yasmina Chaïd Saoudi¹, les squelettes exhumés en Algérie lors de fouilles archéologique, prouveraient la présence de ces chevaux ancestraux entre 30000 et 10800 ans avant notre ère, car il existe bel et bien entre « Equus algericus » et le barbe de nombreuses similitudes. (http://www.elevage-narwali.fr/fr/lebarbe.html)

Lors des colloques de l'OMCB ²(1987 et 2002) il a été démontré que ces ossements retrouvés reviennent à une espèce chevaline (ni zèbre ni âne) ayant les mêmes caractéristiques morphologiques du cheval barbe actuel. Ces confirmations sont basées sur des études paléontologiques et des analyses d'ADN. Les travaux menés au Maroc par le professeur Ouragh³ ont montré la découverte d'un marqueur génétique, GcD, propre à la race barbe et de ses variant dans les races qui en dérivent.

-Une autre question indissociable de celle de l'origine du barbe se pose : c'est celle du métissage⁴. Au cours de l'histoire du Maghreb, divers autres types de chevaux ont été introduits qui, par croisements. Probablement Ont modifié le type primitif.

Ce sont d'abord les carthaginois qui ont pu amener un cheval aryen : Les représentations au revers des monnaies ou sur les mosaïques en sont de bons indices: mais si ce cheval a pu avoir une incidence à l'EST du Maghreb, tel n'a pu être le cas dans le reste du pays, ce qui exclut des croisements significatifs qui n'auraient pas manqué de lui donner des traits différents.

Le problème est identique pour les lourds chevaux romains, plus encore pour les chevaux byzantins. Dans ce cas, un métissage n'aurait pu se faire qu'au nord du limes⁵. Ce qui aurait développé des caractères différents de part et d'autre de la muraille ; Tel n'est pas le cas.

L'introduction de chevaux germaniques par les vandales aurait, elle, marqué plus volontiers l'ouest du Maghreb. Mais Roux ⁶a pu montrer le peu d'impact possible d'un cheval germanique.

L'apport de la conquête musulmane pourrait poser plus de problèmes, si l'on ne savait pas l'intérêt porté par les conquérants à ce cheval dont on oublie souvent qu'ils l'ont alors introduit au Proche-Orient et préféré à leurs propres chevaux. L'apport hilalien est le plus difficile à cerner. Sans doute, leurs chevaux (on ne connait pas de quel type ils étaient) épuisés par le long trajet et qui ont

¹ Docteur en paléontologie animale à l'Université d'Alger

² Organisation mondiale du cheval barbe

³ Professeur à L'institut Agronomique Et Vétérinaire Hassan II-Rabat. Spécialiste En Biologie Animale Appliquée

⁴ Croisement entre animaux de la même espèce mais de races différentes dans le but de créer une race aux caractéristiques

⁵ Le limes est le nom donné par les historiens modernes aux systèmes de fortifications établis au long de certaines des frontières de l'Empire romain. Le mot peut être considéré comme frontière ou limite. Pour les Romains, ce terme signifie qu'il s'agit d'une barrière pour défendre l'intérieur de l'Empire romain

⁶ Jean-Paul Roux, né le 5 janvier 1925 à Paris et mort le 29 juin 2009 à Saint-Germain-en-Laye, est un historien français spécialiste des mondes turc et mongol, et de la culture islamique.

probablement été renouvelés tout au long de celui-ci, auraient pu avoir auprès des populations maghrébines, les amener à les choisir comme reproducteurs aux dépens de leurs propres montures. Ce geste ne peut être significatif.

En constatant combien le cheval d'aujourd'hui est semblable à celui de l'Antiquité, comme entre l'Est et l'Ouest du Maghreb, dont l'histoire n'est pas la même, il ne diffère que par des détails liés au milieu dans lequel il s'est développé, nous devons admettre que ces croisements furent fort peu nombreux, en tout état de cause, insuffisants pour altérer la race. (www.afcb.perso.neuf.fr/chevalbarbe.htm) d'après Communication De Mr Abderrahmane Kadri A L'assemblée Générale Du15° Anniversaire De L'O.M.C.B

C. Historique:

L'histoire du barbe est très variée, très riche et très remarquable puisqu'elle fait partie de l'histoire de plusieurs civilisations qui se sont affilé sur l'Afrique du nord au cours du temps.

-L'empire Romain:

Après la désertification du Sahara, les conditions de vie difficiles ont façonné un type de cheval très résistant, habile et endurant qui était l'allié indissociable des berbères(les numides) et dont dépendait la survie des tribus : c'est sur des chevaux barbes que les numides se sont defender contre la domination carthaginoise.

Strabon⁷ (58 av J-C) a relaté dans ses écrits comment les cavaliers numides montaient à cru de petits chevaux rustiques, qu'ils dirigeaient sans mors, sans harnachement, avec seulement une corde autour de l'encolure ; les romains ont qualifié ce geste par le terme « infrenatus » qui signifie sans frein, sans mors. D'ailleurs ce sont eux qui nous ont rapporté les premiers témoignages sur le barbe : le roi Syphax a laissé des monnaies représentants un cavalier guidant son cheval seulement à l'aide d'une baguette ; sur la stèle du tombeau de Massinissa à El khroub (Constantine, Algérie) sont gravés des chevaux ressemblant aux barbe actuel

Déjà à cette époque le barbe représentait un trésor très apprécié. En effet, la cavalerie militaire romaine était insuffisante et médiocre du point de vue qualité de leurs chevaux : chevaux de traits, de grande taille, très lourds destinés que pour assumer les transports de lourdes charges, avec une telle cavalerie les romain ont bien connues des défaites, notamment celle de Cannes ou les troupes romaines furent battues par Hannibal et sa cavalerie Numide.

Face à de telles situations, il été impératif pour les romains d'adopter une stratégie efficace pour grossir les rangs de leur cavalerie ; les empereur romain décidèrent alors de faire appel au cavaliers numides pour renforcer leur armées et c'est ainsi qu'ils envahissaient l'Europe et les Gaules, ils ont

 $^{^{7}}$ Strabon (en grec ancien Στράθων / Strábôn, « qui louche », en latin Strabo), né à Amasée dans le Pont (actuelle Amasya en Turquie) vers 64 av. J.-C.1, mort entre 21 et 25 après J.-C., est un géographe et grammairien grec

aussi favorisé l'élevage du cheval barbe pour fournir à leur dignitaire des montures de qualité : résistant et courageux lors des batailles, endurants et rapides pour assurer le transport d'information entre les postes de commandement et les lieux de combat. Les grandes écuries des ruines romaines de Theveste (Algérie) ainsi que les mosaïques retrouves à Hadrumète près de Sousse (Tunisie) témoignent de l'importance donnée par les romains à l'élevage du barbe à cette époque, sachant que le roi Massinissa a fait participer le cheval barbe au développement agricole et à l'élargissement des relations commerciales de son royaume Cirta.

-Les Berbères :

Au Moyen-âge, à la fin de l'empire romain, le « limes africae » est détruit, de ce fait les nomades cavaliers du part et d'autre du limes retrouvèrent leur liberté; ainsi un système de transhumance « sud-nord et nord-sud » s'établit. Ce système pastoral est connu sous le nom arabe « ACHABA » qui veut dire « herbe ». Il produira les meilleurs moutons et les meilleurs chevaux.

Apres les romains, ce sont les Vandales qui gagnèrent l'Afrique du nord, ils ont ravagé les Gaules et pénétrer l'Espagne puis ils ont passés en Mauritanie ou ils ont pillés toutes les colonies romaines jusqu'arrivant à Carthage. Certains prétendent qu'ils ont fait ce long voyage sur leurs chevaux germaniques, ce qu'il n'été pas le cas. Vers 534 les vandales disparurent après avoir été vaincus par les Byzance, ces derniers se sont limités qu'aux cités du nord de l'Afrique.

Les Zénètes⁸ possédèrent à cette époque et pendant des siècles toutes les steppes présahariennes et les hautes steppes (Hauts Plateaux). Ils ne reconnurent jamais l'autorité de Byzance. Des siècles de liberté durant lesquels ils nomadisent avec leurs troupeaux, dans des pâturages d'hivers à Ghardaïa (Sahara) et dans des pâturages d'été à Tiaret (le Tell). Leurs chevaux sobres et endurants permettaient à leurs cavaliers de protéger leur « ACHABA » mais aussi de faire des razzias⁹ chez les tribus congénères. C'était de l'économie nomade.

-Les Arabes :

Au VIIème siècle, de nouveaux conquérants arrivent du MASHREK : les musulmans. Ils apportèrent l'islam ainsi que leurs chevaux arabes, les combattants de l'islam purent apprécier par le cheval autochtone du Maghreb qui été un adversaire sérieux à leurs propres montures.

Les nomades Zénètes étaient aussi bons cavaliers, voire meilleur que les arabes, ces derniers apportaient de l'orient la selle avec étriers et la ferrure pour chevaux donc, les berbères ont adoptés ces techniques réalisant ainsi un progrès considérable qui explique pourquoi la conquête du Maghreb fut très difficile et très longue (de 647 jusqu'à 709). Tandis que la conquête suivante, celle de l'Espagne, qui sera faite par les berbères sera très rapide (quelques années).

En effet, les berbères été les plus rudes ennemis que les arabes aient eu à combattre, donc, plutôt que de lutter contre eux, les arabes en firent des allies en leur offrant des responsabilités militaires et

⁸ Les Zénètes (en berbère : Izenaten), forment l'une des trois grands groupes berbères (avec les Isenhadjen et les Imasmouden). Ibn khaldoun a utilisé ce nom (Zénètes) pour désigner les populations nomades du nord de l'Afrique qui signifie : montagnards sédentaires de cette même région.

⁹ Une razzia est une attaque, une incursion rapide en territoire étranger, dans le but de prendre le butin. Le mot provient de l'arabe ġazwa (غزو : raid ; invasion ; conquête).

surtout après leur convertissement à l'islam. En très large majorité, ce sont les berbères et leurs chevaux qui furent chargés par les conquêtes suivantes de l'islam.

-Conquête de la péninsule ibérique (l'Espagne) :

En 711 (selon Ibn Khaldoun), l'émir berbère Tarik ben Ziad a envahi l'Espagne avec 8000 cavaliers et chevaux Zénètes, les renforts berbères ne cesseront pas de le rejoindre. En 712 c'est Moussa ben Nuçair qui débarque avec environ 15000 chevaux barbes ; et la conquête de la péninsule s'acheva en quelques années (719), la réussite des arabes tenait entièrement de la cavalerie mobile et très rapide qui défiait les guerriers bien armés et protégés par des armures, mais montés sur des chevaux lourds qui n'arrivent pas à progresser aussi vite qu'eux.

En ce qui concerne les berbères, leur présence majoritaire a notamment son importance dans la constitution du cheptel équin ; les chevaux barbes étaient beaucoup plus nombreux et destinés à toutes les utilisations : conquête, attelages, travaux agricoles... le barbe est devenu donc prééminent sur toute la péninsule ibérique, jusque dans les provinces reculés marquant même de son influence le poney descendant des tarpans (Sorraia) à qui il donna plus de taille et d'élégance.

Et c'est de cette façon que s'est produite la première importation massive du cheval barbe en Europe. Sachant que durant la domination romaine en Espagne, les barbes ont étés déjà élevés et utilisés par les romains sur ces territoires, la preuve c'est les traces laissées dans les parlers européens : le Genêt d'Espagne fut considéré longtemps comme le meilleur cheval de selle ; et ce n'est autre que le « Zénète d'Espagne » c'est-à-dire le produit né en Espagne de l'étalon berbère. Il faut noter qu'il n'y avait pas en Europe des chevaux de selle mais des chevaux lourds. Les chevaux de selle que montaient les nobles et les rois provenaient du Sud...

Après quelques siècles de gloire et de brillante civilisation, les arabes commencèrent à perdre du pouvoir et l'Espagne fut reconquise progressivement par les chrétiens, jusqu'à la chute finale du royaume Nasride de Grenade en 1492. Cela a couté très chère pour les deux côtés, l'Espagne a perdue environ 03 millions de ses habitants, peu de gens purent retourner au Maghreb, tandis que la majorité de leurs chevaux restèrent en Espagne. De ce fait, les influences berbères restèrent plus profondément ancrés comparée à celles des arabes. En observant le type des chevaux qui ont stabilisés leurs caractères (andalous et lusitaniens) on constate combien le barbe a influencé ces derniers.

Il est très important de mentionner que notre cheval Maghrébin a fait le tour de l'Atlantique par sa migration extraordinaire à bord des vaisseaux des « conquistadores » vers les Amériques à partir de 1492. Prolifique, il s'est depuis reproduit de façon étonnante et repeupler tout le nouveau monde qui était vide de chevaux! On prétend alors que toutes les races de steppes américaines : Mustang, Criollo, etc... sont des dérivés du barbe.

Notons encore qu'au Moyen-âge le barbe a été connu en Europe sous le nom de More ou Morisque après son introduction par les cavaliers marocains de la dynastie almoravide (Al Morabitun) en Espagne chrétienne. Les conquérants Aghlabides de Tunis ont l'introduis aussi dans le Mezzogiorno

¹⁰italien. Les rois autrichien Habsbourg appelèrent ce cheval « Napolitain », en 1580 ils fondèrent le haras de Lipizza; il est connu qu'une famille de Lipizzaners s'appelle « Napolitano », ces derniers se sont les dérivés du barbe tout simplement.

-<u>l'Europe occidentale (France et Angleterre)</u>:

Les chevaux barbes avaient une fort bonne réputation en Europe occidentale. En France, toutes les bonnes écuries sont remontées de barbe, il était le cheval de dressage favori des rois et c'est à propos de Henri III que l'on cite pour la première fois, au plus haut niveau, le cheval barbe. C'est en effet sur un barbe qu'il quitta Cracovie, ou il était roi de Pologne, pour regagner paris, lorsque la mort de son frère Charles IX, en 1574, lui laissa le trône de France; mais Henri IV va être le premier souverain français à s'intéresser vraiment aux chevaux barbes et à leur élevage.

Grâce à « Antoine de Pluvinel », grand écuyer du roi, que le barbe fut découvert et introduit dans les écuries royales de France, car sa docilité et ses qualités d'impulsion et d'équilibre faisaient de lui la monture idéale pour assurer la sécurité du futur louis XIII, auquel Pluvinel enseigne l'équitation sur un barbe nommé « Barbe Bay » plus célèbre sous le nom « Le Bonnite » (le meilleur). Le grand écuyer le démontre ainsi : « c'est le cheval le mieux dressé de la chrétienté, et il est le parangon de tous les chevaux de manège du monde, tant par sa beauté, que pour aller parfaitement, de bonne grâce, jusque terre à terre et à courbette ». Les gravures représentent « le bonnite » comme un cheval de taille moyenne, au corps puissant avec des membres fins aux pieds petits, une attache de queue basse, une encolure courte et forte, aux crins abondants, avec une tête formant un arc doux qui se termine par un bout de nez effacé.

Toutefois, l'homme de cheval le plus connu de son époque « François Robichon de la Guérinière » et qui est considéré comme le père de l'équitation française, reconnaissait le barbe comme étant le meilleur cheval d'art équestre.

Le cheptel équin français étant composé de chevaux de traits, ne répondait pas aux besoins de la cavalerie militaire et les usages privés, il fallait donc aller sans cesse acheter des chevaux de l'étranger (barbarie). Cette raison économique décida Colbert (créateur des Haras Nationaux Français) à encourager la production en France de chevaux de selle, la race barbe fut choisie comme la seule et unique pouvant honorer les objectifs des Haras Nationaux.

En Angleterre, c'est à Henri VIII, contemporain de François 1^{er} et de Charles Quint, que le prince de Mantoue (Italie) offrit plusieurs juments barbes qui furent mises à la reproduction au haras d'Eltham, de cette façon Henri VIII, puis ses successeurs, multiplièrent ce cheval dans les iles britanniques.

Le duc de Newcastle, auteur de « Nouvelle Méthode Et Invention Extraordinaire De Dresser Les Chevaux » témoigna aussi de sa préférence pour le barbe « pour le modèle, pour la force, pour son naturel agréable et sa docilité »

¹⁰ Le Mezzogiorno désigne l'ensemble des régions péninsulaire et insulaire qui correspondent au sud de l'Italie ; D'un point de vue historique le Mezzogiorno désigne les régions italiennes qui correspondent à l'ancien royaume des Deux-Siciles, intégré à l'Italie en 1861, à la suite de l'Expédition des Mille.

Revenons aux rois d'Angleterre, jacques 1^{er} passionné de courses de chevaux, créa le premier hippodrome (Newmarket). Ainsi Charles 1^{er} et Charles II ont misent en place une politique d'élevage en vue d'améliorer les performances de leurs chevaux, celle-ci se basait sur l'importation de chevaux orientaux. Parmi ces chevaux on site les juments appelées : Royales Mares et Barb Mares, autres juments que possédai Oliver Cromwell, un éleveur anglais, et qu'il faisait couvrir par l'étalon « Morocco Barb » appartenant au General Fairfax.

Sous Guillaume XIII, on estime l'importation d'environ 200 reproducteurs orientaux de diverses origines : Turque, Akkal-Tekhe, Arabe et Barbe, destinés à améliorer les performances des races anglaises. Jacques II poursuivit la politique d'élevage en achetant à M. Cruwen deux étalons barbes qui avaient été offert à louis XIV par le sultan du Maroc. Ces barbes furent nommés « Cruwen Bay barb » et « Toulouse barb ».

Un nombre énorme de chevaux barbes et orientaux a pu envahir l'Angleterre, mais un seul parmi eux a pu changer vraiment l'histoire de son cheptel équin ; malgré que nombreux sont ceux qui le prétend un cheval de race arabe

-La légende de « Godolphin Arabian » :

Contrairement aux autres étalons importés spécialement en vue d'améliorer les races anglaises, cet étalon est arrivé en Angleterre par hasard et tardivement après un curieux cheminement. Pourtant, il a fortement marqué sa descendance au point de devenir le cheval le plus cité dans l'histoire des races anglaises.

Cet étalon a été offert au louis XV, roi de France, par le bey de Tunis avec 07 autres étalons. Mais ce dernier, préférant des chevaux plus massifs (appelés des courtauds), dédaigna alors ce cadeau. Les Ecuries Royales ne surent pas utiliser le potentiel de ces chevaux, ils les ont mis en vente.

L'un de ces chevaux, un barbe de robe baie sombre, nommé Scham, a été acheté par un marchand de Paris qui cherchait un animal pour tirer sa charrette, mais ce noble cheval royal, a été la victime de maltraitance par son nouveau maitre au point ou un jour, il gisait au sol dans l'une des pavés de Paris. Frappé par son maitre au milieu d'une énorme foule, il fut observé par un anglais dénomme Croke, venu acheter des chevaux de Paris.

En mauvais état et couvert de blessures le cheval faisait pitié à voir. Malgré sa détresse, il brillait encore dans ses yeux une noblesse qui marqua fortement Croke. Ce dernier décida alors de le racheter de son déshonorant maitre qui n'hésita pas à en demander une somme importante en affirmant qu'il provient des écuries royales. Après qu'il se renseigna au niveau de l'administration, Croke découvre l'origine prestigieuse de l'étalon et décida alors de le garder pour lui.

Arrivé en Angleterre, Scham fut soigné et après le décès de Croke, il fut transféré dans les écuries de lord Godolphin qui semblait ignorer l'origine barbe et devait penser que c'était un étalon arabe.

Le cheval Scham très agréable de caractère et facilement maniable, servait de souffleur pour tester les juments et éviter leur coups de pied qui risquent de blesser les reproducteurs ; mais ce n'était pas

toujours le cas, l'étalon a réussie accidentellement de saillir la jument Roxana, à ce moment-là, personne n'imagina que sera le résultat.

Roxana donna naissance au Poulin « Lath », mais ce n'est qu'après plusieurs années que lord Godolphin étonné de le voir devenir plus grand que sa mère, s'aperçue qu'il était extraordinaire. Lath a gagné ensuite plusieurs courses et devenait célèbre, de ce fait le cheval imprévu rendit ainsi la gloire a son père oublié.

Les hommes prirent conscience très tardivement de la qualité de cet étalon et ce n'est qu'à la fin de sa vie qu'il fut mis à la reproduction sous le nom de Godolphin Arabian. Il donna par la suite d'autres chevaux célèbres comme : Cade, Regulus, Hérold, Eclipse...

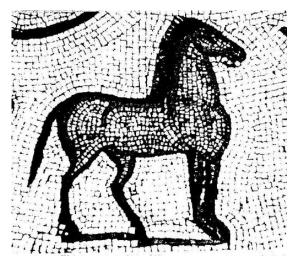
Ce sont les qualités foncières des barbes qui, grâce à une sélection sévère par l'épreuve sportive, ont permis aux Anglais de fabriquer le Pur-Sang Anglais. (http://www.cheval-barbe.net)





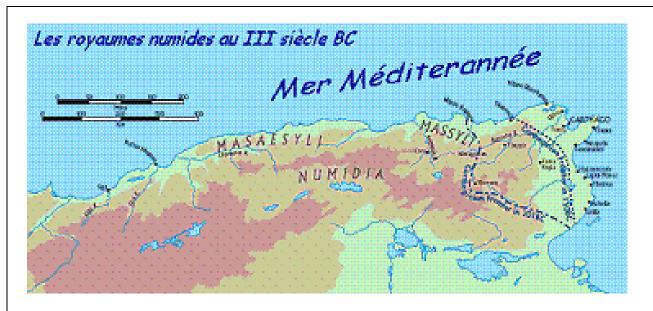








<u>Figure 1 :</u> Différentes peintures, gravures rupestres et mosaïques représentant le cheval barbe



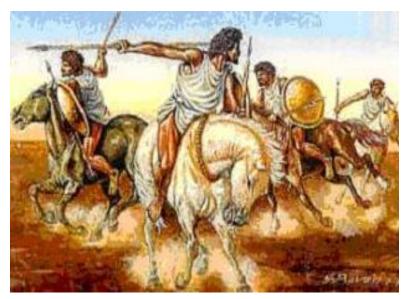


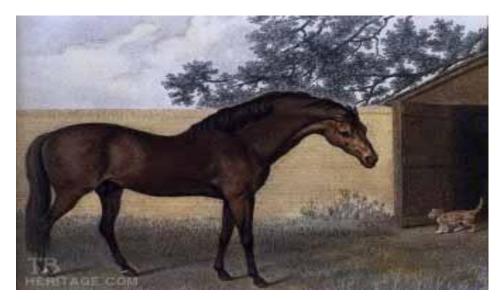




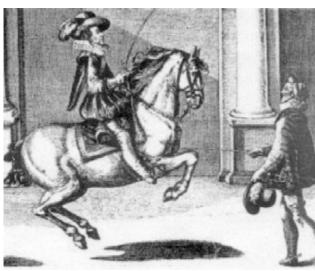


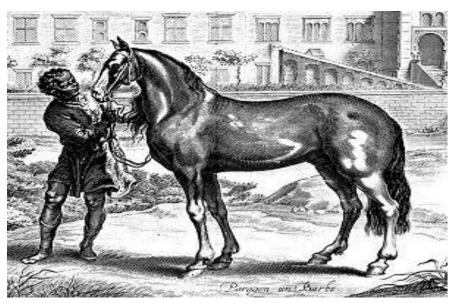


Figure 2 : le barbe et le peuple numide









<u>Figure 3</u>: chevaux barbes célèbres : Godolphin Arabian, statut du roi joseph 1^{er}-Lisbonne, Louis XIII et le cheval barbe bai « le bonnite »

D. Description du cheval barbe :

Nombreuses sont les personnes qui s'avouent déroutées par la présentation officielle du cheval barbe, mais malgré sa diversité, cette race n'échappe pas à la définition de caractéristiques physiques communes entre ses différents types. Il faut noter que le barbe est classé parmi les 23 plus belles races chevalines du monde d'après la revue : « cheval pratique ».

On dit souvent que les différents types de barbes proviennent de leur adaptation aux différentes régions du Maghreb (selon leur pays d'origine : Algérie, Maroc, Tunisie, voire Lybie ou Mali). La taille et la morphologie du barbe sont différentes selon qu'il se développe depuis des générations dans des régions de pleines, de montagnes ou à la limite nord du désert. La température et la pluviométrie agissent sur la végétation et le développement d'un animal est fonction de ce que va être son alimentation au fil des générations.

Le barbe est plus grand, plus rustique dans ses formes dans l'est du pays, de taille moyenne dans les régions du centre, il est plus petit et plus élégant dans l'ouest (Tamzali 1989) d'où la distinction de trois grands types principaux :

- Le barbe des pleines littorales riches (de l'Algérie et du Maroc), plus grand et mieux développé et peut être moins caractéristique de sa race.
- Le barbe des montagnes (Algérie, Maroc et Tunisie), plus petit et plus sure des pieds mais moins élégant.
- Le barbe des hauts plateaux à la limite du Sahara, réputé par sa frugalité (Kadri, 2006 ; Haras nationaux français, 2009d). C'est un cheval à peine plus léger, plus loin du sol, très élégant.

Qu'il soit de l'atlas ou des hauts plateaux, le barbe reste toujours un cheval agile, docile, résistant aux variations climatiques (sirocco et neige), sobre et endurant à la fatigue

1. Morphométrie:

Les principaux mensurations et indices (moyennes moindres carrés ± erreur standard) relatifs aux Barbes, Arabe-Barbes des régions de l'Est et de l'Ouest algérien. Par *GUEDAOURA, 2010* :

Tableau 1:poids et mensurations (valeurs moyennes) relatifs aux barbes et Arabe-Barbe

Paramètres	Barbe	Arabe-barbe
(mensuration)		
Hauteur (cm) :		
Au garrot	151.3	150.6
A la croupe	150.7	150.4
Longueur (cm):		
Totale	148.2	149.4
Scapulo-iliaque	109.6	107.8
Poids vif	412.7	401.0
(kg)		

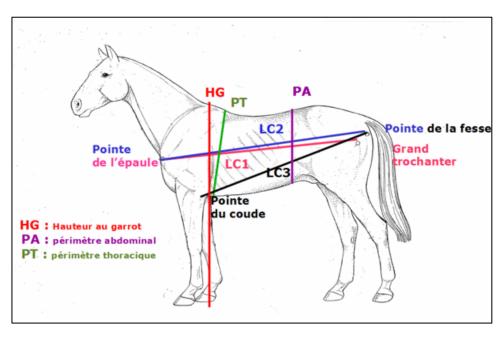


Figure 4 : différentes mensurations utilisées pour l'estimation du poids d'un cheval

2. Morphologie:

Le barbe a une morphologie de cheval porteur et efficace. Lymphatique au repos, il bouillonne dès

qu'on le sollicite, c'est un faux calme allié à une grande intelligence. Si la morphologie idéale du barbe

est précisée, celle de l'arabe-barbe ne peut l'être. Elle est fonction du pourcentage de sang arabe de

chaque individu, mais il n'est pas toujours révélateur du type car l'usage auquel on destine ce cheval

(sport, endurance, obstacle, dressage, attelage, polo, etc...) a aussi sa part d'influence sur la

morphologie de ce dernier.

Globalement, le barbe est un cheval carré de taille moyenne qui pèse environ 400 kg au maximum

avec une encolure chargée, des épaules étroites et des membres qui sont fins.

En ce qui concerne les robes, principalement sont grise (du gris fer jusqu'au blanc). Elles peuvent êtres

pommelées, truitées, rouannées avec une grande évolution tirant vers le blanc qui s'accroit avec l'âge.

Les robe alezane et baie (jusqu'au noir qui reste rare) viennent ensuite.

Dans son berceau (la région du Maghreb), on trouve que le barbe est plutôt gris et alezan en Tunisie ;

plutôt gris en Algérie et de robe baie et grise au Maroc.

Les robes : Palomino, Isabelle sont présente dans la race mais sont très rare. Divers témoignages

attestent également la présence d'autres types de robe : pie, éclaboussé, tacheté ; ces dernières sont

fréquentes chez les mustangs appelés aussi Spanish Barbs, se sont les chevaux qui ont échappés aux

conquistadores et qui étaient très appréciés par les indiens.

3. Le standard du barbe mis au point par l'OMCB :

Coordonnées Ethniques :

Format : Moyen : Eumetrique

Proportion: Medioligne

Profil: Convexe Légèrement Busqué

Taille: Moyenne: 1m55

~ 28 ~

Longueur Scapulo-Ischiale Egale A La Taille

Indice Corporel T/L: Egale A 1 (Cheval Carré)

Tour De Canon: Minimum 18 Cm

Robe: grise, baie ou alezane

Crins : abondant et épais

Caractères Morphologique:

Tête: assez forte, chargée en ganache, naseaux effacés

Oreilles : plutôt courtes

Œil : arcade effacée, œil un peu couvert

Encolure : bien greffée, rouée

Garrot : bien édifié, fortement marque

Epaule : en bonne place

Poitrine: haute et large

Dos: tendu et tranchant

Rein: court, puissant, parfois voussé

Croupe : en pupitre

Queue : attachée en bas

Fesses : coupées « court » musclées

Cuisse : sèches, plates

Jarrets : bas, larges, secs, parfois coudés et clos

Pieds : secs et petits (<u>www.afcb.perso.neuf.fr/chevalbarbe.htm</u>)

4. Particularité anatomique du cheval barbe :

L'une des particularités du barbe est la présence de cinq vertèbres lombaires au lieu de six communément connue chez les autres chevaux. Même s'il n'y ait jamais eu d'étude systématique à ce sujet, plusieurs publications anatomiques précisent cette particularité (http://www.handicapenselle.over-blog.org).

Les vertèbres lombaires sont un peu le point faible de la colonne vertébrale des équidés car ce sont les seules à flotter comme un pont suspendu, seulement tenues par les muscles suspenseurs (www.elevage-narwali.net).

N'avoir que cinq vertèbres lombaires mobiles donne l'avantage de moins fatiguer les muscles pour supporter une charge. Cela ne gêne en rien la souplesse du dos, bien au contraire puisque les muscles ne tétanisent pas et c'est ce qui explique la résistance, l'endurance et la sobriété connues chez la majorité des barbes. C'est l'une des qualités que les éleveurs tentent de vérifier mais aussi de fixer génétiquement chez le cheval barbe (www.association-tiwizi-suisse.ch/cheval%20barbe.htm).

E. <u>Une race aux qualités exceptionnelles :</u>

Il est important de reconnaître que la race barbe a été le plus souvent décrite non par son modèle, mais par les qualités particulière de ses chevaux.

Le barbe est apprécié pour son influx nerveux, son allant naturel et sa bonne volonté, il sait d'instinct gérer son effort, son équilibre naturel et sa maniabilité lui donnent légèreté et allures relevées.

-Vitalité et longévité :

Les barbes donnent parfois l'impression qu'ils ne se déprécient pas avec l'âge, ce qui faisait dire en 1778 par Sollyssel écuyer du roi « les barbes meurent mais ne vieillissent jamais » (www.cheval-barbe.net).

-Qualité des tendons et des sabots :

Ceux qui pratiquent l'endurance savent que la race barbe a une qualité de tendon remarquable avec une récupération tendineuse hors norme : les risques d'engorgement après des efforts important sont

très faibles voire nuls. Les bondages sont inutile il suffit juste d'assurer une bonne douche des membres et de remettez le cheval au pré pour qu'il récupère.

Il faut noter que la qualité de la corne de ses sabots, très dure et très résistante, supporte de rester déferrée et se maintient en état avec de simples parages ce qui rend donc le barbe un cheval facile à entretenir surtout en termes d'économie. (<u>www.cheval-barbe.net</u>).

-Adaptation au climat et alimentation :

Il supporte la chaleur et le froid même les conditions les plus extrêmes : neige et sirocco, mais il apprécie moins l'humidité (surtout associée au vent) (www.cheval-barbe.net).

Il possède la plus grande résistance aux causes de misères physiologiques ; c'est bien le propre de cette race de résister aux intempéries, a la misère et aux privations. Le barbe s'acclimate parfaitement à la vie dans le désert (www.ecologie.ma/le-cheval-barbe-du-maroc).

Le barbe est un cheval qui se maintient en état avec peu, c'est la raison pour laquelle qu'on peut dire qu'il se contente d'une ration de moitié (au minimum) de ce que mangerait un cheval de selle français par exemple (www.cheval-barbe.net).

On retient ce célèbre diction sur lui « il peut la faim, il peut la soif, il peut le froid, il peut le chaud, jamais il n'est fatigue » (www.ecologie.ma/le-cheval-barbe-du-maroc/).

-Apparences et allures :

Le barbe est un faux calme. Au repos, encolure basse, on pourrait presque le croire indolent. Mais, en action c'est le feu qui s'anime : les barbes sont rapides et puissants et c'est le cas en Fantasia ou les barbes sont lancés en galop cote à cote ; et pourtant avant ou après la fantasia, les chevaux sont attachés, calmes et inébranlables.

Ce cheval est très confortable, il a une excellente tension dorsale et une souplesse latérale du rachis très bonne, sont port de tête est assez haut et ses foulées sont plutôt relevées et toniques (www.cheval-barbe.net).

-Caractère

Il convient en premier lieu de rétablir la vérité sur une fausse réputation, colporté par certains auteurs qui signalent à la fois la grande docilité des barbes et en même temps leur mauvais caractère, ce qui paraît assez contradictoire.

Ce cheval pourvu d'une grande intelligence, apprend très vite mais il sait être rebelle à tous les excès de violence et d'autorité. Pour ceux qui connaissent les barbes, il est très clair que ces chevaux plein de fierté n'apprécient pas ces manques de respect, mais leur énorme bonne volante les a toujours conduits pourtant à servir l'homme, même dans des circonstances les plus difficiles (les guerres et les conquêtes...)

Lorsqu'ils sont traités « normalement » ils sont au contraire très joueurs, proche de l'homme. Mais surtout, attachant, attentifs et respectueux et d'un courage légendaire (<u>www.cheval-barbe.net</u>).

L'ancienneté de la race fait de lui un cheval tardif. « Fini » vers 7 ans, voire plus, donc il convient de profiter de ce laps de temps pour tisser des liens affectifs forts avec lui et il vous offrira sa quintessence (www.elevage-narwali.net).

F. Usage du cheval barbe:

Ce cheval qui a traversé les siècles, voire les millénaires, et qui a traversé les cantinent, a probablement contribué à la formation de plusieurs races : les Camarguais, Andalous et par extension les Lipizans, les Mustangs, origine de la plupart des chevaux d'Amérique du Nord, les Criollos d'Amérique du Sud...

A l'origine, il était utilisé comme « cheval de guerre » par les numides, par les arabe et même par l'armée allemande pour gagner Moscou. C'est un cheval d'extérieur et de loisir par excellence, monture rêvée pour le tourisme équestre et l'endurance.

Aujourd'hui, il est encore utilisé à l'obstacle par les adultes et les enfants de toute l'Afrique du Nord. Il excelle à l'attelage dans toutes les villes et campagnes du Maghreb. Cette utilisation se développe en France. Il présente d'extraordinaires facultés d'assimilation de ce que l'on veut lui enseigner et il est vraiment dans son élément comme cheval de spectacle.

C'est un sportif polyvalent, plus qu'un décathlonien, dépassant systématiquement et largement la moyenne dans toutes les disciplines, le large éventail de ses possibilités n'est pas encore totalement exploité. Il est le cheval de loisir par excellence. Son extrême polyvalence, sa facilité et sa gentillesse, sa rusticité, gage d'une véritable économie d'usage, font de lui le cheval d'instruction idéal. (http://www.abcb.be/index.html)

En Europe, le barbe est en train de retrouver la place qu'il mérite auprès des cavaliers de loisir, d'endurance, de spectacle, de dressage et bientôt de concours de saut d'obstacle.

En France lorsqu'on parle du cheval barbe, on englobe évidement l'arabe-barbe qui est inscrit au même stud-book. L'arabe-barbe est le cheval de sport par excellence, il est utilisé dans toutes les disciplines. (www.afcb.perso.neuf.fr/chevalbarbe.htm)

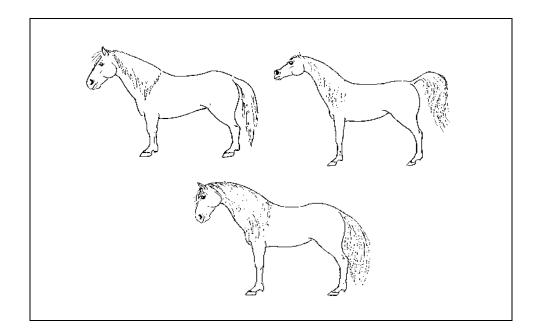
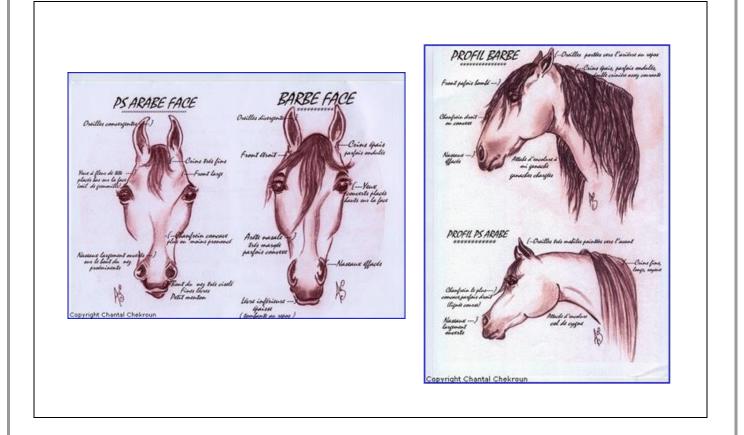


Figure 5 : Comparaison entre un cheval Européen, un Arabe et un Barbe



<u>Figure 6</u> : Comparaison De La tête d'un Barbe et celle d'un Pur-Sang-Arabe

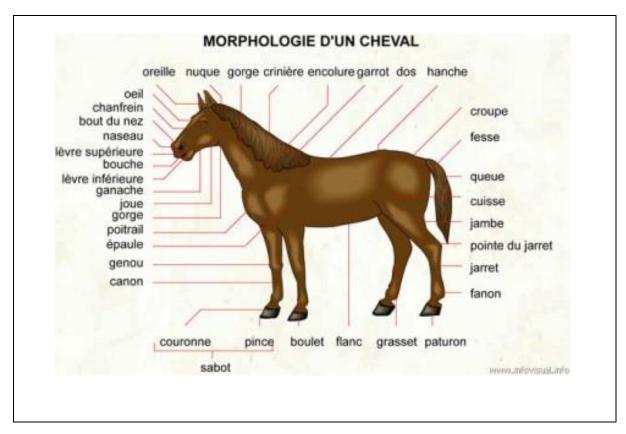


Figure 7 : Morphologie Du Cheval

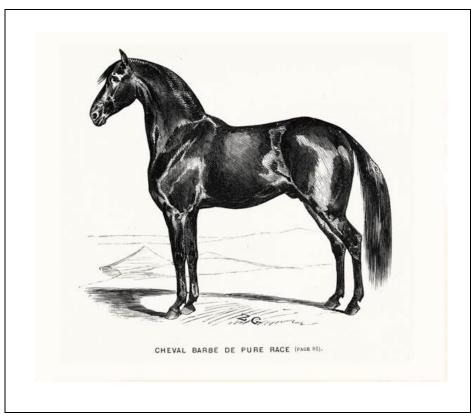
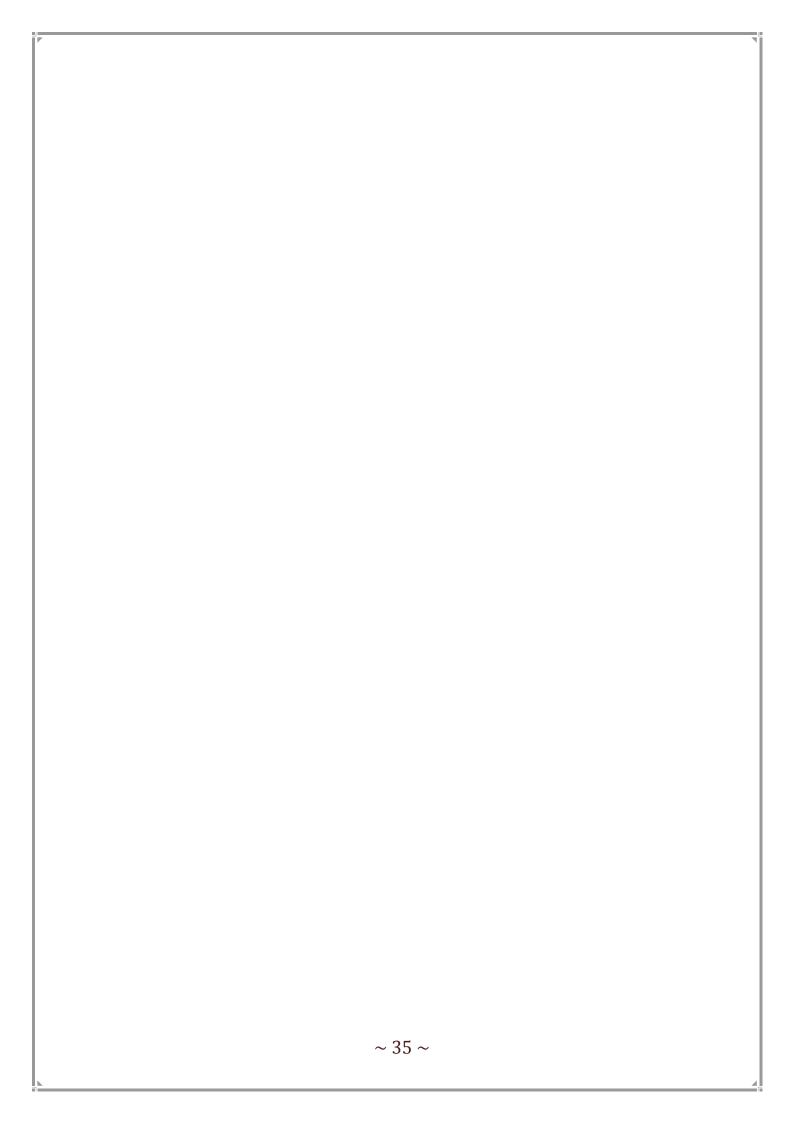
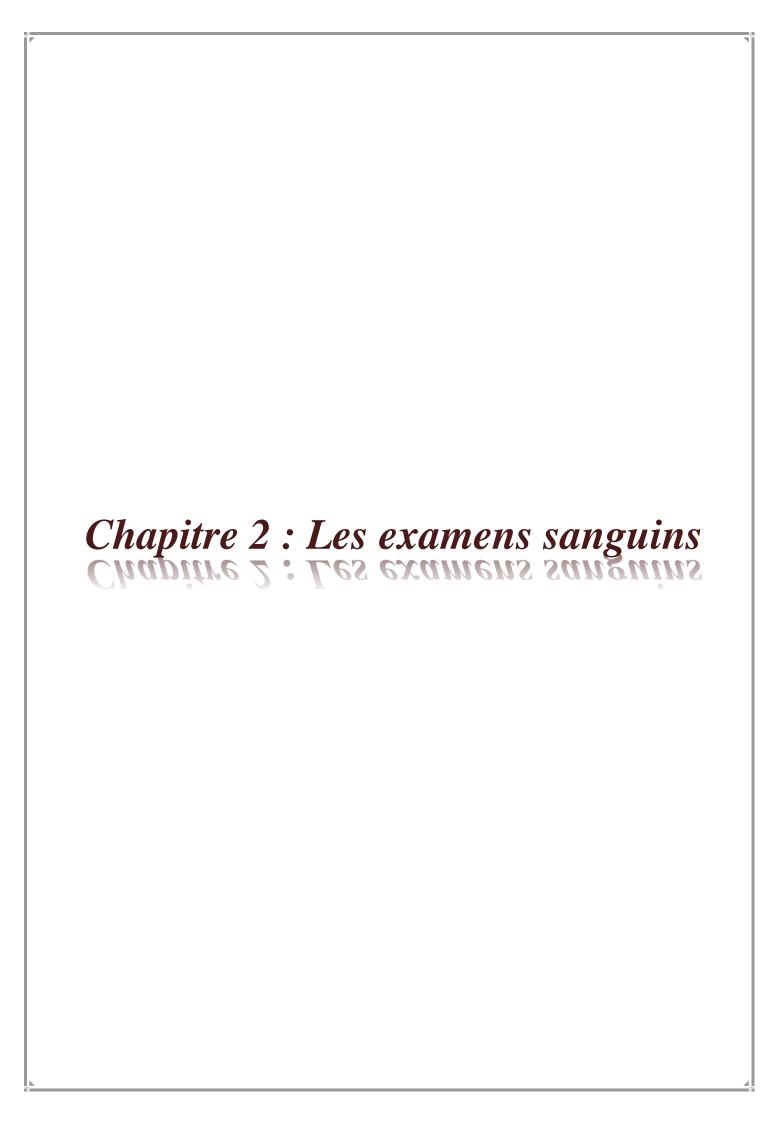


Figure 8: Standard Du Cheval Barbe





Généralité

Couramment utilisés en médecine vétérinaire, les examens sanguins constituent un examen complémentaire de choix dans de nombreuses situations. Le prélèvement sanguin est dans la majorité des cas un prélèvement de sang veineux, mais il est aussi possible de prélever du sang artériel, notamment pour l'étude des gaz artériels. Les deux principaux sites de prélèvement de sang veineux sont la veine jugulaire externe et le sinus veineux facial. Le prélèvement sanguin est rapide à mettre en œuvre et permet la mesure de nombreux paramètres, qui peuvent être classés en trois grandes catégories :

<u>-l'hémogramme</u>: appréciation quantitative et qualitative des cellules, ou éléments figurés, présentes dans le sang. L'hémogramme comporte: la numération: dénombrement des différents types cellulaires: érythrocytes, leucocytes et plaquettes; la formule sanguine: pourcentages respectifs des leucocytes; le frottis sanguin: observation des cellules sanguines au microscope après étalement sur lame et coloration.

<u>- les paramètres biochimiques</u> : appréciation quantitative et qualitative des molécules présentes dans le plasma ou le sérum.

<u>- la mise en évidence de la présence d'un agent pathogène</u> : directe : frottis, mise en culture bactériologique, Polymérase Chain Réaction (PCR), isolement de virus ; indirecte : titration des anticorps. Les examens sanguins peuvent être réalisés dans un laboratoire, à la clinique ou directement sur le terrain grâce à des analyseurs portables. Ces derniers permettent parfois d'obtenir des résultats immédiats —au chevet du malade .

Connaissances actuelles sur les examens hématologiques et biochimiques chez le cheval :

Le sang est composé d'éléments solides : les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes, en suspension dans un milieu liquide appelé plasma. Lorsque le sang coagule, la fraction liquide restante,

appelée sérum, ne contient plus les facteurs de la coagulation, dont le fibrinogène fait partie, mais elle contient des produits de la dégradation des facteurs de la coagulation. Les fonctions du sang, autres que le transport d'oxygène et des cellules de l'immunité, sont assurées par le plasma. Le plasma est constitué d'eau, d'électrolytes, de métabolites, de nutriments, de protéines et d'hormones. Nous allons étudier dans un premier temps les éléments solides du sang, avant de nous intéresser à certaines molécules plasmatiques.

A. Les Paramètres Hématologiques

A) Les érythrocytes

1. Structure

Appelées aussi globules rouges ou hématies, ce sont les cellules quantitativement majoritaires dans le sang. Dépourvues de noyau et d'organites, leur métabolisme est basé sur la glycolyse. Chez le cheval leur diamètre est compris entre 5 et 6 µm et ils tendent à former des rouleaux lors de la réalisation de frottis (Grondin et Dewitt, 2010 ; Latimer et Rakich, 1992 ; Reagan, 2008a), mais cette agglutination en rouleaux est réversible et n'est pas pathologique (Cordonnier et Fontaine, 2005). Une particularité du cheval est qu'environ 1% des hématies présente un corps de Howell-Jolly, qui est un reliquat de noyau (Cordonnier, 2009).

2. Fonction

Leur principale fonction est le transport de dioxygène (O2) des poumons aux tissus et le transport de dioxyde de carbone (CO2) des tissus aux poumons. Leur forme ronde biconcave augmente le rapport surface/volume et optimise les échanges gazeux.

3. Régulation

Elles sont synthétisées dans la moelle osseuse hématopoïétique et leur synthèse est estimée chez les Mammifères à 2,5 milliards d'érythrocytes par kilogramme de poids et par jour, soit environ 1,25.1012 érythrocytes par jour chez un cheval de 500kg. La synthèse se fait en continu, tout au long de la vie de l'animal (Cordonnier et Fontaine, 2005). La durée de vie d'une hématie varie d'une espèce à l'autre, elle est comprise entre 140 et 155 jours chez le cheval (Grondin et Dewitt, 2010). Les hématies en fin

de vie sont phagocytées par les macrophages de la rate, du foie et de la moelle osseuse, la rate étant l'organe le plus apte à reconnaître les hématies endommagées. En effet, dans la rate, les globules rouges sont obligés de passer entre les cellules endothéliales des sinus veineux et ceux endommagés, qui sont moins souples, se retrouvent séquestrés dans le système réticulé de la rate et phagocytés (Baerlocher, 1994; Weiss, 1984).

4. Interprétation

Leur nombre s'exprime en globules rouges par millimètre cube de sang (GR/mm3). Un nombre anormalement bas de globules rouges est souvent un signe d'anémie. Il peut résulter d'un défaut d'érythropoïèse, ou d'une destruction des hématies circulantes. Un nombre anormalement élevé de globules rouges est appelé polyglobulie. Elle peut être primitive, par exemple lors d'une tumeur des cellules souches de la moelle osseuse hématopoïétique, ou secondaire, par exemple lors d'hypoxie chronique.

► L'hématocrite

1-definition

L'hématocrite est le rapport du volume occupé par les hématies et du volume sanguin total. Pour le calculer, du sang est prélevé sur anticoagulant (par exemple l'éthyldiamine tétracétate ou EDTA) puis placé dans un tube capillaire et centrifugé. A l'issue de la centrifugation, on divise la longueur du tube occupée par les hématies par la longueur totale occupée par le sang.

2. Interprétation

L'hématocrite s'exprime en pourcentage. La mesure de l'hématocrite permet d'objectiver une

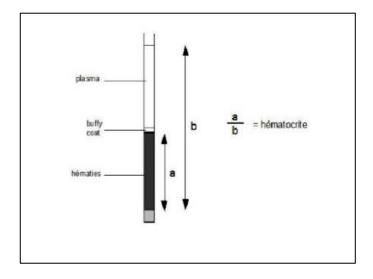


Figure 9 : schéma d'un tube capillaire après centrifugation

éventuelle anémie et permet d'évaluer l'hémoconcentration du sang : l'hématocrite est augmenté en cas de déshydratation ou en cas de polyglobulie.

B) Les leucocytes

1. Structure

Les leucocytes, aussi appelés globules blancs, sont les cellules du système immunitaire. Dans le sang, on les classe en trois grandes catégories : les granulocytes ou polynucléaires, les lymphocytes et les monocytes. Tous sont de forme ronde et possèdent un noyau.

- Les granulocytes ont un noyau plurilobé et sont divisés en trois sous-catégories en fonction de leur morphologie et des propriétés tinctoriales de leurs granules cytoplasmiques : les granulocytes neutrophiles, les granulocytes éosinophiles et les granulocytes basophiles.
- -Les granulocytes neutrophiles sont les leucocytes quantitativement majoritaires dans le sang périphérique chez le cheval. Leur diamètre varie de 10 à 12 μ m. La segmentation du noyau est un peu moins marquée chez le cheval que chez d'autres espèces (Reagan, 2008b).
- -Les granulocytes éosinophiles sont un peu plus grands que les granulocytes neutrophiles et leurs granules cytoplasmiques nombreux et ronds leur donnent un aspect de mûre (Latimer et Rakich, 1992).
- -Les granulocytes basophiles sont eux aussi un peu plus grands que les granulocytes neutrophiles. Ils possèdent de nombreux granules cytoplasmiques de petite taille, qui apparaissent plus sombres que les granules des granulocytes éosinophiles (Latimer et Rakich, 1992). Le cheval est l'espèce chez laquelle on observe le plus fréquemment des granulocytes basophiles, alors qu'ils sont très rarement observés dans les autres espèces domestiques (Reagan, 2008b).
 - Le deuxième type cellulaire quantitativement majoritaire dans le sang périphérique est représenté par les lymphocytes .lls ont une taille intermédiaire entre celle des hématies et celle des granulocytes neutrophiles. Leur noyau est rond à ovale, parfois légèrement indenté, et leur rapport nucléo-plasmique est élevé. (Latimer et Rakich, 1992 ; Reagan, 2008b)
 - Les monocytes sont les plus grands leucocytes circulants, avec un diamètre allant de 15 μm à 20 μm. La forme de leur noyau est variable : il peut être ovale, bilobé, en forme de fer à cheval, trilobé ou irrégulier. Ils peuvent parfois présenter des pseudopodes (Latimer et Rakich, 1992; Reagan, 2008b).

2. Fonction

Les granulocytes (Murray, 2002 ; Deldar, 1998): - les granulocytes neutrophiles, impliqués dans la phase aiguë de l'inflammation et dans la phagocytose des bactéries. Les granulocytes éosinophiles, impliqués dans les réactions d'hypersensibilité et dans certaines infestations parasitaires et les

granulocytes basophiles, ils contiennent de l'histamine et de l'héparine et sont impliqués dans certaines réactions d'hypersensibilité immédiates et retardées. Ils interviennent également dans les processus inflammatoires, le métabolisme lipidique et la coagulation sanguine. Les monocytes sont les précurseurs des macrophages qui phagocytent les bactéries (Murray, 2002 ; Deldar, 1998). Les lymphocytes sont impliqués dans la mise en place de la réponse immunitaire face à un agent infectieux et dans des processus de lyse des cellules infectées ou tumorales (lymphocytes T), ainsi que dans la synthèse d'anticorps (plasmocytes issus de la différenciation de lymphocytes B) (Murray, 2002 ; Deldar, 1998).

3. Régulation

Les leucocytes sont synthétisés dans la moelle osseuse hématopoïétique avant, pour certains, de subir une phase de maturation dans la moelle osseuse ou dans le thymus. La synthèse des granulocytes chez les mammifères est estimée à 1 milliard de cellules par kg de poids et par jour, soit 5.1011 cellules par jour chez un cheval de 500kg (Cordonnier et Fontaine, 2005).

4. Interprétation

Le taux sanguin de leucocytes totaux s'exprime en valeur absolue, généralement en leucocytes par millimètre cube de sang (leucocytes/mm3) ou en milliers de leucocytes par millimètre cube de sang (103 leucocytes/mm3) Le taux sanguin des différentes populations leucocytaires prises une à une s'exprime de deux manières : en valeur absolue, comme les leucocytes totaux en valeur relative, c'est-à-dire la proportion de la population, ou lignée, leucocytaire considérée par rapport à la population leucocytaire totale. La valeur relative est donc un pourcentage (%).

Une augmentation du nombre de leucocytes, ou leucocytose, s'interprète différemment en fonction de la population leucocytaire mise en cause :

- Leucocytose neutrophilique : phénomène inflammatoire et/ou infectieux o leucocytose éosinophilique : phénomène parasitaire et/ou allergique
- Leucocytose basophilique : rarement observée
- -Lymphocytose: néoplasie lymphoïde, parfois suite à une exposition a un antigène (welles, 2010).
- Monocytose : rarement observée. Une diminution du nombre de leucocytes, ou leucopénie, marque une immunodépression. Il peut parfois y avoir association leucopénie d'une lignée-leucocytose d'une

autre lignée. C'est le cas en situation de stress : le leuco-gramme se trouve modifié selon une formule dite : de stress . La formule de stress est caractérisée par une neutrophilie modérée, une lymphopénie, une éosinopénie et un comptage variable des monocytes (carakostas, 1981a ; carakostas, 1981b ; Osbaldiston et Johnson, 1972).

C) Les plaquettes

1. Structure

Les plaquettes, aussi appelées thrombocytes, sont des fragments cellulaires anucléés ronds mesurant environ de 2 μ m à 4 μ m de diamètre. Chez le cheval, les plaquettes apparaissent moins colorées que dans les autres espèces domestiques (Reagan, 2008c; Cordonnier, 2009).

2. Fonction

Lors de l'hémostase, on distingue trois phases : La formation d'un agrégat de plaquettes ; La formation d'un réseau de fibrine autour de l'agrégat de plaquettes ; La dissolution partielle ou totale du caillot par la plasmine

Les plaquettes, qui interviennent dès la première phase de l'hémostase, permettent la coagulation en se fixant aux parois vasculaires lésées (Rand et Murrey, 2002).

3. Régulation

Les plaquettes, au même titre que les globules rouges et les leucocytes, sont synthétisées dans la moelle osseuse hématopoïétique. Leur synthèse est estimée chez les Mammifères à 2,5 milliards de plaquettes par kilogramme de poids et par jour, soit environ 1,25.1012 plaquettes par jour chez un cheval de 500kg. La synthèse se fait en continu, tout au long de la vie de l'animal (Cordonnier et Fontaine, 2005). Leur durée de vie est plus courte que celle des hématies puisqu'elle est en moyenne de 9 à 12 jours. Une partie des plaquettes circulantes est séquestrée dans la rate et peut être libérée dans le sang par contraction splénique. Les plaquettes en fin de vie sont phagocytées par des macrophages dans la rate, et dans une moindre mesure, dans le foie et dans la moelle osseuse (Deldar, 1998).

4. Interprétation

Le taux sanguin de plaquettes s'exprime en plaquettes par millimètres cubes de sang (pqt/ mm3) Une thrombopénie, c'est-à-dire un nombre anormalement bas de plaquettes, peut- être due à : une synthèse insuffisante : lors d'une atteinte de la moelle osseuse, par exemple ; une perte excessive : par hémorragie ou par consommation excessive de plaquettes, comme c'est le cas lors de Coagulation Intravasculaire Disséminée (CIVD). Une thrombocytose, c'est-à-dire un nombre anormalement élevé de plaquettes, a différentes origines :

- → Artéfactuelle : des fragments cellulaires provenant d'érythrocytes ou de leucocytes peuvent engendrer une pseudothrombocytose
- → La thrombocytose physiologique : elle correspond à la mise en circulation des plaquettes normalement séquestrées dans la rate, par contraction de cette dernière (Wardyn, 2008)
- → La thrombocytose secondaire : la thrombopoïèse est stimulée de façon exagérée par les cytokines, dans un contexte inflammatoire ou néoplasique (Sellon, 1997).

La numération de la formule sanguine (FNS)

La numération cellulaire est la détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis de milieu liquide. On exprime les résultats par concentration cellulaire, c'est-à-dire en nombre de cellules par litre.

La numération cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une lame de comptage spéciale : cellule de numération.

La formule sanguine appelée aussi hémogramme est un examen de numération cellulaire, un comptage des éléments figurés du sang, il s'agit d'une étude tant quantitative que qualificative.

La formule sanguine comprenne plusieurs paramètres à étudier, nous citons ici: l'hématocrite (Ht), taux d'hémoglobine, volume globulaire moyen (VGM), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), taux de réticulocytes, le nombre de plaquettes, le taux total des globules blanc et celui des différents variantes des cellules lymphocytaires, la vitesse de sédimentation (VS).

> Technique de numération cellulaire

1-dilution préalable

Lorsque la suspension cellulaire est trop concentrée, il est nécessaire de réaliser une dilution préalable. En effet, quand il y a un grand nombre de cellule par unité de volume, il est difficile de compter les cellules.

2-utilisation de la cellule de numération

a) Présentation:

Une cellule de numération est une lame porte objet dans laquelle est creusée une chambre de comptage de volume connu. C'est une lame épaisse en verre comportant des rigoles et un quadrillage. Il existe deux types principaux de cellules de numération :

- -cellule de Thoma
- -cellule de Malassez (la plus courante)

Le volume de comptage est déterminé par la surface du quadrillage gravé sur la lame, et par la profondeur de la chambre

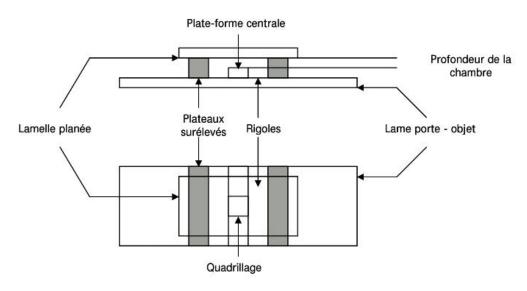
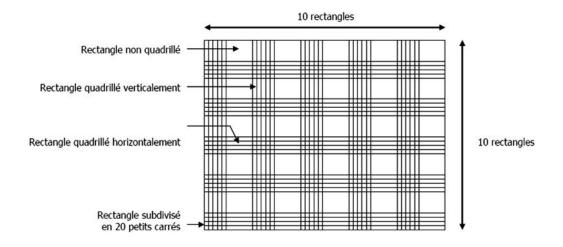


Figure 10 : schéma d'une cellule de dénombrement

b) La cellule de Malassez : cette cellule comporte un quadrillage spécifique comportant 100 rectangles



<u>Figure 11</u> : quadrillage d'une cellule de Malassez

parmi eux, on trouve 25 rectangles qui sont divisés en 20 petits carrés afin de faciliter le comptage. Le volume correspondant au quadrillage total est égal à **1 mm³**, chaque rectangle correspond à un volume 100 fois plus faible, soit **0.01 mm³**.

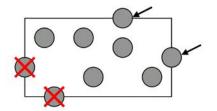
c) remplissage de la cellule de numération :

- Humecter les deux plateaux latéraux. Faire adhérer parfaitement la lamelle aux plateaux latéraux :
 pour cela placer la lamelle sur ces plateaux, puis à l'aide des pouce posés sur la lamelle, exercer
 une pression sur la lamelle tout en pratiquant un mouvement de va et vient jusqu'à perception
 d'une résistance.
- Placer la cellule de comptage sur une surface plane. Homogénéiser la suspension cellulaire, et prélever celle-ci à l'aide de la pipette légèrement incliné près de la lamelle sur la plate-forme centrale quadrillée.
- → Le remplissage doit être fait en une seule fois, sans bulle d'air, et sans faire déborder le liquide dans les rigoles. Laisser sédimenter les cellules sur le quadrillage quelques minutes, et passer à la numération.
- Apres utilisation, la lame porte objet et la lamelle planée sont immerger dans un bain d'eau de javel pendant 5 minutes, puis sont rincées avec de l'eau de distillé et essuyées avec du papier (sans frotter, particulièrement au niveau du quadrillage).

3-Numération

- Observer à l'objectif x10 pour repérer la position du quadrillage, et vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter (si la répartition est mauvaise, recommencer)
- Observer ensuite à l'objectif x40 pour réaliser le comptage (un rectangle par champs)
- Compter les cellules contenues dans 4, 10, 20 ou dans la totalité des 100 rectangles du quadrillage.

<u>Remarque</u>: pour les cellules chevauchant les lignes du quadrillage, compter seulement celles qui chevauchent 2 arêtes du rectangle sur 4 (en pratique, on choisit de prendre en compte les cellules chevauchant la ligne horizontale supérieure, et la ligne verticale droite.



Numération sur le rectangle = 7 cellules Figure 12 : exemple de cellules chevauchantes

4- calcul de la concentration cellulaire

Apres avoir effectué la manipulation, on calcule la concentration cellulaire de la suspension de cellules étudiée. Soit : - n : nombre de cellules comptées.

- V : volume de comptage.

- f : facteur de dilution.

- N : nombre de cellules par litres.

- Si on a n cellules dans V litres, alors on a N cellules dans un litre :

$$N \times V = n \times 1 \rightarrow N = n / v$$

- Si la solution avait été diluée : N = (n / v) x f (www.biotech.spip.ac-rouan.fr)

Confection Des Frottis Sanguins

Un frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre, dans le but d'observer les cellules qui y sont présentes et de les dénombrer. Il permet également de repérer d'éventuels parasites dans le sang. Pour atteindre ce but, le frottis doit subir une coloration pour révéler certaines cellules qui sans cela seraient transparentes, donc non visibles.

Le principe de confection d'un frottis consiste donc à étaler une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, de manière à obtenir une seule couche de cellules, qui après coloration et fixation, pourra permettre d'effectuer l'étude morphologique des éléments figurés du sang, et de déterminer s'il y a anomalies de présence, d'aspect ou de nombre de cellules.

a-Conditions à observer pour confectionner un bon frottis sanguin :

La réalisation ou la confection d'un frottis sanguin de bonne qualité ou d'un bon frottis sanguin doit suivre une procédure précise avec un minimum d'entrainement et une maitrise parfaite de la manipulation des produits sanguins. La réalisation d'un bon frottis nécessite également la maitrise des manipulations à effectuer en adéquation avec le matériel choisi.

- Les matériels utilisés pour la confection d'un frottis sanguin :

- Une aiguille stérilisée pour le prélèvement du sang
- Alcool à 90° (ou désinfectant)
- 2 lames de verre ou une lame et une lamelle
- Un microscope
- Eventuellement des colorants

- Mode opératoire :

La procédure de réalisation ou de confection d'un bon frottis sanguin doit suivre les étapes suivantes :

- Disposer d'échantillon de sang ou faire le prélèvement du sang capillaire ou du sang veineux du sujet.
- Il faut homogénéiser le prélèvement ou l'échantillon de sang par des mouvements de retournement doux et successifs pour éviter l'apparition de caillot.
- Prélever, à l'aide d'une pipette bien propre et préalablement désinfectée, 10uL de sang
- Déposer la goutte de sang prélevée sur une lame en verre (environ 2cm x5 cm), dégraissée et identifiée à 1 cm environ du bord lame.
- Placer le bord de la lame rodée ou de la lamelle sur la lame et glisser celle-ci jusqu'à ce qu'elle entre au contact avec la goutte, en maintenant un angle de 45°.
- La goutte de sang se répartie régulièrement par capillarité en une couche mince uniforme le long du bord de la lamelle en quelques secondes.

- Faire glisser alors la lamelle, jusqu'au bout, d'un mouvement assez lent et régulier en maintenant le contact et la pression nécessaire pour que le sang s'étale. Un bon frottis doit être contenu entièrement sur la lame, bords et franges compris.
- Si le frottis est jugé correct, sécher immédiatement le frottis en agitant à l'air par des mouvements d'éventails vifs. Temps de séchage minimum 5 minutes.
- Identifier enfin le frottis

b. Qualités d'un bon frottis sanguin :

Les qualités d'un bon frottis sanguins sont relatives à sa présentation. Ainsi, un frottis de qualité doit respecter les critères suivants :

- · Il doit posséder une tête, un corps et une queue en empreinte de pouce
- · Il ne doit être ni trop mince (sinon pauvre en éléments), ni trop épais (sinon éléments rétractés non identifiables) et régulier avec des bords parallèles à la lame mais distants d'eux avec une extrémité arrondie. En un mot, il doit être sans franges excessives.
- · Il ne doit atteindre ni les bords, ni les extrémités de la lame (sinon les éléments les plus volumineux seront perdus)
- · Il doit être correctement séché (sinon présence d'artefacts et les hématies seront crénelées)
- · Il ne doit pas présenter de stries verticales ou horizontales (cas où l'étalement est mal rodé) ou des trous (cas où la lame est mal dégraissée).

En un mot, un bon frottis sanguin doit être uniforme

c. Les frottis sur les lamelles

La procédure de réalisation d'un bon frottis sur lamelle est la suivante :

- Déposer une goutte de sang capillaire sur une lamelle couvre objet.
- Poser une deuxième lamelle sur la goutte de sang à 45 degrés de la première.
- Tirer rapidement sur un angle de la lamelle supérieure en maintenant la lamelle inférieure avec l'autre main afin de permettre un étalement homogène du sang suivant l'arête de la lamelle.

- Le frottis, une fois jugé bon, est rapidement séché à l'air à l'abri des poussières. (AMOU, 2002)

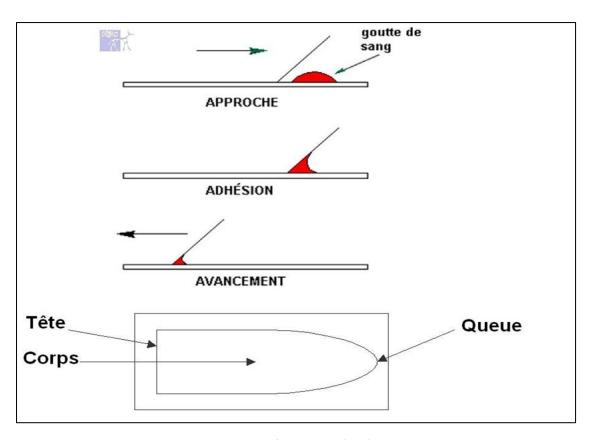


Figure 13 : étape de la réalisation d'un frottis sanguin

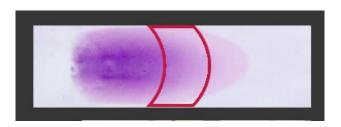


Figure 14 : zone de lecture par le microscope

Coloration Panoptique

a) Coloration MGG:

La coloration permet de réaliser la formule sanguine et médullaire. Le principe de cette coloration repose sur l'action combinée de deux colorants neutres: le May-Grünwald (contenant un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène) et le Giemsa dilué au 1/10 (contenant lui aussi de l'éosine, et un colorant basique, l'azur de méthylène). Il existe deux colorants de Giemsa : le Giemsa rapide (Giemsa R) et le Giemsa lent (Giemsa L). Le Giemsa R est préparé de façon à permettre une action colorante en 10 minutes. Il est utilisé pour les frottis secs et les gouttes épaisses. Le Giemsa L est préparé de façon à permettre une action colorante en 20 minutes. Il est utilisé pour les frottis humides et les coupes.

Le May-Grünwald et le Giemsa anges neutres aux propriétés bien distinctes. Ils ne sont pas actifs en milieu alcoolique et n'agissent de façon sélective qu'au moment de leur libération en solution aqueuse tamponnée de PH=7. Cette libération provoque la précipitation des colorants neutres. Le May-Grünwald colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes. Le Giemsa colore le cytoplasme des monocytes, des lymphocytes et la chromatine des noyaux.

<u>Mode opératoire</u>: Il existe en général deux techniques pour faire la coloration du frottis sanguin. Ces deux techniques de colorations se présentent comme suit :

- Technique de Coloration par recouvrement qui consiste à :
- Couvrir le frottis avec 1ml de May-Grünwald pur pendant 3 minutes
- Ajouter avec précautions 1 ml de solution tampon et réaliser le mélange sans débordement
- Eliminer l'excès de colorant par égouttage ou rinçage rapide.
- Couvrir le frottis avec la solution de Giemsa R dilué dans une solution tampon au 1/30
- Laver rapidement à l'eau courante ou dans une solution tampon
- Laisser la lame sécher à l'air.

- Attendre le séchage complet avant observation au microscope.
 - Technique de Coloration par bain qui consiste à :
- Faire un bain de May-Grünwald pur
- Faire un bain de Solution tampon
- Faire un bain de Giemsa R dilué dans une solution tampon au 1/20
- Laver rapidement le frottis à l'eau courante ou dans une solution tampon
- Laisser la lame sécher à l'air.
- Attendre le séchage complet avant observation au microscope.

b) Les résultats de coloration panoptique :

Lorsque le frottis coloré est bien sèche, on passe à l'observation qui se fait au microscope à l'objectif 40 X ou à l'immersion (100 X et oculaires faibles) afin de voir les résultats et de les interpréter. Si on utilise un grossissement plus puissant on verra mieux les détails des cellules. Il faut déplacer la lame en faisant des "créneaux" pour ne pas repasser au même endroit et compter 100 leucocytes (ou mieux 200) ce qui donne immédiatement le résultat. Au laboratoire on utilisera un compteur de cellules pour le comptage.

B. Les Paramètres Biochimiques

Les paramètres biochimiques sont des molécules dont le dosage nous renseigne sur le statut d'un organe. Souvent, un paramètre biochimique n'est pas spécifique d'un organe et il faut combiner les dosages de plusieurs paramètres biochimiques pour statuer sur l'état d'un organe. C'est pourquoi nous aborderons les paramètres biochimiques en les regroupant selon l'organe commun sur lequel ils apportent une information.

A) Exploration de la fonction hépatique :

1. Les acides biliaires

a) Structure

Les acides biliaires sont des molécules organiques possédant une chaîne carbonée aliphatique hydrophobe à l'extrémité de laquelle existe une fonction acide -COOH, qui, sous sa forme basique -COO-, est hydrophile. Cette structure amphiphile permet la formation de micelle et la solubilisation des graisses dans un milieu aqueux.

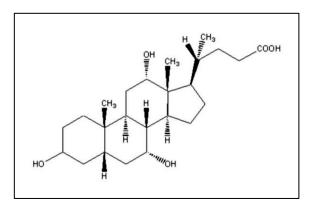


Figure 15 : Représentation de Cram d'une molécule d'acide cholique

b) Fonction

Ils ont un rôle majeur dans la digestion des lipides et des molécules liposolubles dans l'intestin.

c) Régulation

Les acides biliaires sont synthétisés exclusivement par le foie à partir du cholestérol et constituent environ 2/3 des solides totaux de la bile. Ils sont synthétisés sous forme d'acides biliaires primaires et sont sécrétés par les hépatocytes dans la bile, conjugués à la taurine (forme majoritaire chez le cheval) ou à la glycine. Dans la plupart des espèces domestiques, les deux principaux acides biliaires primaires sont l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Les acides biliaires suivent ensuite un cycle entéro-hépatique : après avoir été sécrétés dans le duodénum, la majeure partie des acides biliaires (98 à 99%) est réabsorbée dans l'iléon et la partie restante est réabsorbée dans le gros intestin, où les acides biliaires primaires deviennent des acides biliaires secondaires, l'acide lithocholique et l'acide déoxycholique, sous l'action d'enzymes bactériennes. Une infime fraction est éliminée dans les fèces. Les acides biliaires primaires et secondaires sont ensuite prélevés de la circulation portale par le foie pour être à nouveau sécrétés dans la bile (Tennant et Center, 2008 ; Hornbuckle, 2008).

d) Interprétation

Les acides biliaires s'expriment en micromoles par litre de sang (µmol/L). Certaines situations pathologiques entraînent un passage anormal des acides biliaires dans la circulation périphérique : les affections hépatocellulaires : parasitaires, virales, bactériennes ou autres.

La cholestase : obstruction des voies biliaires par des parasites, ou encore des lithiases. Un shunt vasculaire porto-systémique.

2. La bilirubine totale

a) Structure

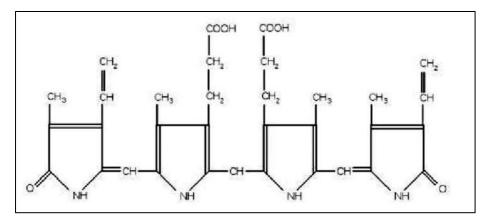
La bilirubine est une molécule organique issue du catabolisme des chromoprotéines, et principalement de l'hémoglobine. Ce pigment qui donne sa couleur verte à la bile existe sous deux formes dans l'organisme : une forme dite non conjuguée, dite aussi forme libre ou forme indirecte, et une forme dite conjuguée, appelée aussi forme directe. La forme non conjuguée est liposoluble, tandis que la forme conjuguée est hydrosoluble. La bilirubine totale désigne l'ensemble des deux formes.

b) Fonction

La bilirubine permet l'élimination de l'hémoglobine plasmatique non liée à l'haptoglobine sous forme d'une molécule moins toxique pour les reins. Elle aurait un rôle antioxydant, dans le plasma, mais aussi et surtout au niveau des membranes cellulaires (Ferreira et Reid, 2008).

c) Régulation

Lors du catabolisme de l'hémoglobine, les globines sont hydrolysées en acides- aminés et l'hème est transformé par le système hème oxygénase en bilirubine non conjuguée.



<u>Figure 16</u> : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine non conjuguée

Le transport de la bilirubine non conjuguée dans le plasma est assuré par l'albumine. Dans le foie, la bilirubine pénètre dans les hépatocytes grâce à un système de transport facilité. Elle subit alors une glucuronoconjugaison, c'est-à-dire la fixation d'acides glucuroniques qui la rendent hydrosoluble, pour devenir la bilirubine conjuguée. Chez le chien et le cheval, une petite partie de la bilirubine non-conjuguée peut être conjuguée par le rein (Cordonnier et fontaine, 2005). Une fois conjuguée, la bilirubine est sécrétée dans la bile par un mécanisme de transport actif.

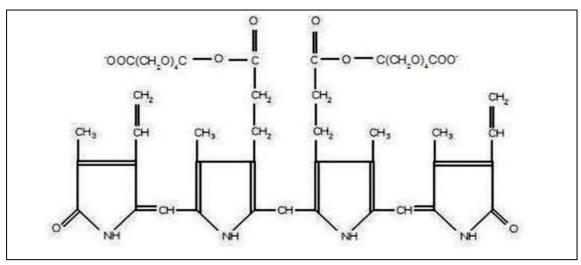


Figure 17 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine conjuguée

Dans l'iléon terminal et le côlon, la bilirubine conjuguée est dégradée par des enzymes bactériennes en urobilinogènes (incolores). Une petite partie des urobilinogènes est réabsorbée et réexcrétée à travers le foie, mais la majeure partie est oxydée en urobilines et excrétée avec les fèces auxquels elle donne leur couleur (Murray, 2002b).

d) Interprétation

La bilirubinémie s'exprime en micromoles par litre (µmol/L) ou en milligrammes par litre (mg/L) L'augmentation de la bilirubinémie est responsable des ictères. Elle peut être augmentée selon plusieurs mécanismes :

La libération massive d'hèmes dans le sang, lors d'anémie hémolytique. Les hépatocytes sont alors sains mais la quantité de bilirubine à conjuguer dépasse leur capacité fonctionnelle. L'augmentation concerne alors surtout la bilirubine non conjuguée.

L'atteinte des hépatocytes, qui sont alors moins aptes à capter et conjuguer la bilirubine non conjuguée, et moins aptes à sécréter la bilirubine conjuguée dans les voies biliaires. L'augmentation concerne alors les deux formes de bilirubine.

La cholestase. L'obstruction des voies biliaires empêche la sécrétion de la bile dans le duodénum et la bilirubine conjuguée passe dans la circulation sanguine. L'augmentation concerne alors surtout la bilirubine conjuguée.

3. La gamma glutamyl transférase

a) Structure

Le gamma glutamyl transférase (GGT) est une enzyme de nature protéique se présentant sous forme de dimère. Elle est localisée essentiellement dans la membrane plasmique des tubules rénaux et dans le réticulum endoplasmique des hépatocytes (Murray, 2002c).

b) Fonction

La GGT est une carboxypeptidase qui clive le groupe glutamyl C-terminal de substrats pour les transférer à des peptides, ou à d'autres molécules telles que la glycylglycine (Shaw, 1983) ou encore à l'eau (Hoffmann et Solter, 2008). Toutes les cellules à l'exception des cellules musculaires ont une activité GGT membranaire et cytosolique (Boyd, 1983; Milne et Doxey, 1985).

c) Régulation

La GGT étant une enzyme, sa quantité est régulée par son expression génomique, et son activité par la présence ou non de son cofacteur, et par la quantité de substrats à métaboliser.

d) Interprétation

Ce n'est pas la quantité de GGT qui est dosée directement mais son activité enzymatique, et elle s'exprime en unités internationales par litre à 30°C (UI/L à 30°C). Les plus grandes quantités de GGT cellulaires se retrouvent au niveau de la bordure en brosse des épithéliums des voies biliaires et des tubules rénaux (Hoffman et Solter, 2008). Lors de cholestase, l'accumulation de bile engendre une pression dans les voies biliaires qui induit la synthèse de GGT, ensuite libérées dans le sang.

4. Les protéines totales

a) Structure

Les protéines sont des polymères d'acides-aminés. Les protéines sériques sont divisées en 2 catégories : - L'albumine C'est une protéine de petite taille. Elle assure sa fonction grâce à l'existence à sa surface de plusieurs sites de fixation d'affinités variables au niveau desquels elle établit des liaisons non covalentes avec les molécules qu'elle transporte. - Les globulines Les globulines sont subdivisées en α -globulines, β -globulines et γ -globulines selon leur vitesse de migration électrophorétique, les protéines les plus petites migrant le plus rapidement : - α -globulines : chez la plupart des espèces on distingue une fraction rapide (α 1-globulines) et une fraction lente (α 2-globulines). Elles comprennent notamment : les lipoprotéines, la macroglobuline, l'haptoglobine, la céruloplasmine, ou encore l'amyloïde A. - β -globulines : comme pour les α -globulines, on distingue une fraction rapide (β 1-globulines) et lente (β 2-globulines). Elles comprennent notamment : les protéines du complément, la transferrine, la ferritine, la protéine C-réactive, le fibrinogène, les IgM, ou encore les IgA. - γ -globulines : ce sont des immunoglobulines : IgA, IgM, IgE en γ 1, IgG en γ 2 (Eckersall, 2008)

b) Fonction

Les protéines sériques assurent de nombreuses fonctions : - Maintien de la pression oncotique - Transport de molécules liposolubles - Immunité - Messagers chimiques (insuline, adrénaline,...) - Médiateurs de l'inflammation - Coagulation - Système tampon

L'albumine en particulier a deux principales fonctions qui sont le maintien de la pression oncotique et le transport dans le sang de molécules liposolubles, comme par exemple la bilirubine ou les hormones stéroïdiennes, et d'ions, comme le calcium Ca2+, le cuivre Cu2+ ou encore le zinc Zn2+ (Rand et Murray, 2002).

c) Régulation

L'albumine est synthétisée par le foie et représente environ la moitié des protéines totales. Son temps de ½ vie est d'une vingtaine de jours chez le cheval (Mattheeuws et al. 1966). Les globulines sont pour la plupart elles aussi synthétisées par le foie, mais certaines sont fabriquées par des cellules plasmatiques, comme par exemple la synthèse des γ-globulines par les plasmocytes ou encore par les cellules endothéliales, voire par d'autres cellules (Eckersall, 2008). La dégradation de l'albumine a lieu aussi bien dans le foie que dans d'autres organes tels que les muscles, les reins et la peau (Eckersall, 2008).

Cependant le foie est le site majeur de dégradation des acides-aminés (Stryer, 1995a). Les protéines destinées à être dégradées sont marquées par une petite protéine, l'ubiquitine, puis digérées par un complexe protéasique qui consomme de l'Adénosine Triphosphate (ATP) (Stryer, 1995b).

d) Interprétation

La protéinémie s'exprime en grammes par litre (g/L). - Une hyper protéinémie est le signe d'une inflammation, d'un phénomène infectieux, ou d'une déshydratation - Une hypo protéinémie peut avoir pour origine une insuffisance de production de protéines, en cas d'atteinte hépatique, ou une fuite de protéines : hémorragie, pertes par voie digestive : vomissements, diarrhée ; pertes par voie rénale : syndrome néphrotique

Toutefois la protéinémie seule peut manquer de spécificité, et il est parfois nécessaire de coupler son dosage à celui de l'albuminémie, afin de savoir si la modification de la protéinémie est due à une variation de l'albuminémie, de la globulinémie ou des deux (Eckersall, 2008):

- En ce qui concerne l'albuminémie, qui s'exprime aussi en g/L :
- Hyper albuminémie : déshydratation
- Hypo albuminémie : pertes de protéines par voies digestive et/ou rénale et/ou création d'un troisième compartiment, insuffisance hépatique.
 - En ce qui concerne la globulinémie, qui s'exprime aussi en g/L : Hyperglobulinémie : processus infectieux en cours, Hypoglobulinémie : immunodépression

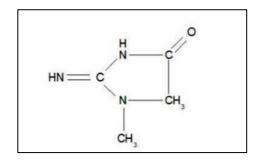
B) Exploration de la fonction rénale :

1. La créatinine

a) Structure

La créatinine est une molécule organique qui se forme dans les muscles et est issue de la dégradation de la créatine phosphate, par déshydratation irréversible et perte d'un groupement phosphate (Rodwell, 2002).

Figure 18 : Formule semi-développée de la créatinine



b) Fonction

Elle permet l'élimination des molécules de créatine phosphate altérées.

c) Régulation

Chez le cheval, la quantité de créatinine formée chaque jour dépend uniquement de la quantité de créatine synthétisée, et donc de la masse musculaire de l'individu. En effet, chez le cheval il n'y a pas de créatinine d'origine exogène car son régime alimentaire ne comprend pas de viande. La créatinine est excrétée par le rein, où elle filtre librement à travers le glomérule, sans sécrétion tubulaire chez le cheval. (Finco et Groves, 1985). Son excrétion dans les urines est donc proportionnelle à la masse musculaire de l'individu (Rowell, 2002).

d) Interprétation

La concentration sanguine en créatinine est appelée créatininémie et s'exprime en milligrammes par décilitre (mg/dl). La créatinine filtrant librement à travers le glomérule, une augmentation de la créatininémie signe une atteinte rénale glomérulaire. Plus rarement elle s'interprète comme une lyse massive de myocytes.

2. L'urée

a) Structure

L'urée est une petite molécule azotée hydrophile issue du catabolisme protéique, capable de passer à travers les membranes plasmiques.

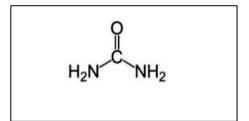


Figure 19 : Formule semi-développée d'une molécule d'urée

b) Fonction

L'urée est considérée comme le mode de transport beaucoup moins toxique d'une molécule toxique : l'ammoniac.

c) Régulation

Lors du catabolisme protéique, les protéines sont dégradées en acides-aminés dont la désamination entraîne la formation d'ammoniac. Celui-ci est capté presque exclusivement par le foie (White et al. 1973) qui le transforme alors en urée. La formation d'une molécule d'urée consomme deux ions ammonium NH4+. La biosynthèse de l'urée peut être divisée en quatre étapes: -transamination, désamination oxydative du glutamate, transport de l'ammoniac, réactions du cycle de l'urée.

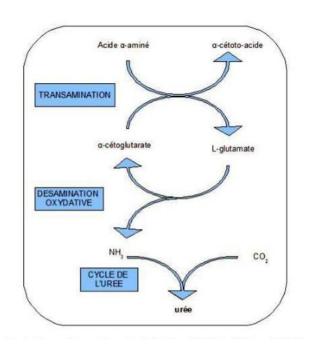


Figure 20 : Schéma de la synthèse de l'urée à partir des acides-aminés

L'urée est principalement excrétée par les reins, mais d'autres voies d'excrétion existent.

Dans le rein, l'urée filtre librement à travers la membrane glomérulaire et par conséquent dans le filtrat glomérulaire la concentration de l'urée est la même que dans le plasma. Une partie de l'urée est ensuite réabsorbée passivement dans les tubules. Elle rejoint l'espace interstitiel puis la circulation sanguine générale via la vascularisation rénale (Braun et Lefebvre, 2008).

d) Interprétation

La concentration sanguine en urée est appelée urémie et s'exprime en grammes par litre (g/L) L'augmentation de l'urée plasmatique peut provenir d'une : augmentation du catabolisme protéique, diminution de l'excrétion urinaire C'est donc potentiellement un indicateur d'atteinte rénale. Toutefois, chez le cheval, il est moins fiable que la créatinine, car l'urée peut être métabolisée par la microflore intestinale. En effet, dans les intestins, les uréases bactériennes dégradent l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone CO2. Une partie de cet ammoniac est à nouveau recapté par le foie

pour être à nouveau transformé en urée. Donc une petite partie de l'urée est éliminée sous forme d'ammoniac dans les intestins (Eckersall, 2008). L'interprétation de l'urémie ne se fait donc pas seule, mais combinée à celle de la créatininémie.

C) Exploration de l'intégrité du tissu musculaire :

1. La créatine-kinase

a) Structure

La créatine kinase (CK), ou encore créatine phosphokinase (CPK), est une enzyme pour laquelle il existe des isoenzymes dont les trois principales sont: MM, MB et BB. Elles se trouvent majoritairement dans le cerveau pour l'isoenzyme BB, dans le cœur pour l'isoenzyme MB et dans les muscles striés squelettiques pour l'isoenzyme MM. Une quatrième variante, l'isoenzyme Mt, est localisée entre la membrane externe et la membrane interne des mitochondries et contribue à l'activité CK du cœur (Hoffmann et Solter, 2008).

b) Fonction

Dans les muscles striés squelettiques, la créatine phosphate constitue une réserve d'énergie dans les premiers temps de l'effort musculaire en permettant la formation rapide d'ATP à partir d'ADP. Lorsque le muscle est relâché et le besoin en ATP moins important, le rôle de la créatine kinase est de catalyser la réaction de phosphorylation de la créatine, recréant ainsi un réservoir de créatine phosphate (Murray, 2002d).

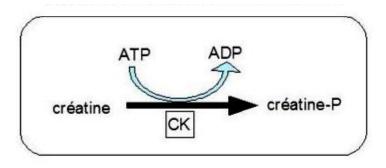


Figure 21 : Schéma du rôle de la créatine kinase dans le muscle

c) Régulation

La CK étant une enzyme, sa quantité est régulée par son expression génomique, et son activité par la présence ou non de son cofacteur, et part la quantité de substrats à métaboliser.

d) Interprétation

Dans le sang, ce n'est pas la quantité de CK qui est directement mesurée, mais son activité sérique, et elle est exprimée en unités internationales par litre (UI/L). La CK ayant une localisation intracellulaire, sa présence dans la circulation sanguine est le signe de lésions cellulaires. L'augmentation de l'activité sérique de la CK marque donc une souffrance musculaire en cours ou récente.

2. L'aspartate aminotransférase

a) Structure

L'aspartate aminotransférase (AST), anciennement appelée glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) est une enzyme appartenant au groupe des aminotransférases, ou transaminases. L'AST est localisé dans le cytosol, mais aussi dans les mitochondries où elle est plus concentrée. Elle a pour cofacteur le pyridoxal-5'- phosphate (Hoffmann et Solter, 2008).

b) Fonction

Le rôle des aminotransférases est de catalyser le transfert d'un groupe α -aminé d'un acide-aminé à un céto-acide. Le plus souvent, le groupe α -aminé est transféré sur une molécule d' α -cétoglutarate pour être converti en ion ammonium NH4+ (Stryer, 1995a). L'aspartate aminotransférase est une des enzymes les plus importantes du groupe des aminotransférases. Elle catalyse le transfert du groupe α -aminé suivant (Stryer, 1995a) :

L-aspartate + α -cétoglutarate \rightarrow oxaloacétate + glutamate

c) Régulation

L'AST étant une enzyme, sa quantité est régulée par son expression génomique, et son activité par la présence ou non de son cofacteur, et par la quantité de substrats à métaboliser.

d) Interprétation

Dans le sang, ce n'est pas la quantité d'AST qui est directement mesurée, mais son activité sérique exprimée en unités internationales par litre (UI/L). L'AST n'est pas spécifique d'organe, car si son activité est élevée dans les muscles striés squelettiques et cardiaque, elle a aussi une activité importante dans le foie ainsi que dans d'autres organes et tissus, dont les érythrocytes. (Cornelius, 1959 ; Cardinet, 1967). Toutefois c'est un marqueur sensible lors de dommage des tissus mous, notamment lors de lésions hépatiques ou musculaires. Une augmentation de l'activité sérique de l'AST est considérée comme due à une lésion, réversible ou non, des hépatocytes ou des myocytes. Pour faire la distinction, l'interprétation de l'activité sérique de l'AST est combinée à celle de l'activité sérique de la CK.

D) <u>Exploration du système antioxydant :</u>

1. La superoxyde dismutase

a) Structure

Le superoxyde dismutase, SOD, est une enzyme présente dans le cytosol et dans les mitochondries. L'enzyme cytosolique a pour cofacteurs le cuivre (Stryer, 1995b) et le zinc, tandis que l'enzyme mitochondriale a pour cofacteur le manganèse. La SOD est présente dans tous les principaux tissus aérobies et notamment les poumons (Mayes, 2002).

b) Fonction

Le superoxyde, O2•-, est un oxydant puissant produit par le métabolisme cellulaire, principalement issu de l'auto-oxydation de l'hémoglobine érythrocytaire (Johnson and al. 2005). Les oxydants peuvent réagir avec les protéines, les acides nucléiques, les lipides et d'autres molécules en altérant leur structure. Cependant, il existe des enzymes dont le rôle est de réduire ces oxydants en molécules non toxiques pour l'organisme. C'est le cas de la SOD qui catalyse la réaction suivante :

Le peroxyde d'hydrogène formé, H2O2, est ensuite converti en eau, H2O, et en dioxygène, O2 par la catalase, une enzyme présente dans de nombreux types cellulaires (Mayes, 2002).

c) Régulation

La SOD étant une enzyme, sa quantité est régulée par son expression génomique, et son activité par la présence ou non de son cofacteur, et par la quantité de substrats à métaboliser.

d) Interprétation

Dans le sang, ce n'est pas directement la quantité de SOD qui est mesurée, mais son activité sérique, qui peut s'exprimer en unités internationales par litre (UI/L). Toutefois, du fait de son rôle vis-à-vis de l'hémoglobine, il est plus pertinent de rapporter son activité à la quantité d'hémoglobine dans le sang et donc d'exprimer son activité en unités internationales par gramme d'hémoglobine (UI/gHb) L'activité sérique de la SOD augmente : lors de stress oxydatif : par exemple lors de l'augmentation du métabolisme cellulaire à l'effort L'activité sérique de la SOD diminue : lors de carence en cuivre (Andrewartha et Caple, 1980 ; Williams 1975) ,lors de carence en zinc (Hirose, 1992).

2. La glutathion peroxydase

a) Structure

La glutathion peroxydase, GPX, est une enzyme ayant pour cofacteur le sélénium. Elle est notamment localisée dans les érythrocytes (Mayes, 2002).

b) Fonction

Elle protège les lipides membranaires et l'hémoglobine de l'oxydation par les peroxydes issus du métabolisme des GR et de la plupart des cellules de l'organisme (Murray, 2002a), en catalysant la réaction entre le glutathion réduit (GSH) et un peroxyde (R-O-O-H) pour donner du glutathion oxydé (GSSG), beaucoup moins réactif que les peroxydes, et de l'eau (H2O) (Mayes, 2002):

 $R-O-O-H + 2 GSH \rightarrow R-OH + H2O + GSSG$

c) Régulation

La GPX étant une enzyme, sa quantité est régulée par son expression génomique, et son activité par la présence ou non de son cofacteur le sélénium (Beilstein et Whanger, 1983; Caple, 1978; Thompson, 1976), et par la quantité de substrats à métaboliser.

d) Interprétation

Dans le sang, ce n'est pas directement la quantité de GPX qui est mesurée, mais son activité sérique, qui peut s'exprimer en unités internationales par litre (UI/L). Toutefois, du fait de son rôle vis-à-vis de l'hémoglobine, il est plus pertinent de rapporter son activité à la quantité d'hémoglobine dans le sang et donc d'exprimer son activité en unités internationales par gramme d'hémoglobine (UI/gHb) L'activité sérique de la GPX augmente : Lors de stress oxydatif : par exemple lors de l'augmentation du métabolisme cellulaire à l'effort. L'activité sérique de la GPX diminue : Lors de carence en sélénium.

E) Le « Ionogramme »:

Les ions sont présents dans les différents fluides du corps et l'ionogramme représente la mesure des taux sanguins d'ions. Dans l'étude de la répartition des fluides dans le corps, le modèle adopté est le suivant : le compartiment intracellulaire, le compartiment extracellulaire, le compartiment vasculaire et le compartiment interstitiel.

Les ions se distinguent entre eux par : la nature de leur charge : positive dans le cas des cations, négative dans le cas des anions ; le nombre de charges : une pour les ions monovalents, deux pour les ions divalents, ...etc.

Les taux sanguins en ions sont exprimés en millimoles par litre (mmol/L) ou en milliéquivalents par litre (mEq/L), unité qui prend en compte la charge de l'ion :

Valeur en mEq/L = valeur en mmol/L x nombre de charges par exemple : 1 mmol/L de Ca $2+ \longrightarrow 2$ mEq/L de Ca2+

1. Les ions monovalents

a) Sodium

1. Structure

Le sodium, Na+, est un cation appartenant à la famille des alcalins.

2. Fonction

Le sodium fait partie des ions déterminant le gradient électrochimique des membranes cellulaires. Il est en forte concentration dans le compartiment extracellulaire, et en faible concentration dans le compartiment intracellulaire. Il tend donc à entrer passivement dans les cellules. C'est le cation le plus représenté dans le compartiment extracellulaire. Le sodium joue également un rôle primordial dans l'émission des potentiels d'action.

3. Régulation

Le sodium est apporté par l'alimentation. Trois mécanismes permettent son absorption dans l'intestin:

- Diffusion passive selon le gradient électrochimique
- Co-transport avec des électrolytes : entrée simultanée de chlorure, Cl-, ou sortie simultanée d'un proton, H+
- -Entrée couplée à celle d'une molécule organique : glucose, acide aminé L'absorption a lieu sur toute la longueur des intestins mais elle est plus marquée dans l'iléon et le côlon (Hornbuckle, 2008).

L'élimination du sodium se fait par différents mécanismes : filtration rénale : après filtration glomérulaire, le sodium est réabsorbé dans le tube proximal, dans la branche ascendante de l'anse de Henlé et dans le tube distal sous influence de l'aldostérone (Braun et Lefebvre, 2008). Sudation chez certaines espèces, dont le cheval (McConaghy, 1995)

4. Interprétation

La concentration sanguine en Na+ est appelée natrémie et s'exprime en millimoles par litre (mmol/L) ou en milliéquivalents par litre (mEq/L) .Une augmentation anormale de la natrémie, appelée hypernatrémie, peut être due à (Carlson and Bruss, 2008): un gain excessif de Na+ : apport alimentaire excessif, rétention sodée (par exemple lors d'hyperaldostéronisme) ; des pertes hydriques excessives lors de déshydratation sans perte de Na+ : diarrhée.

Une diminution anormale de la natrémie, appelée hyponatrémie, peut être due à (Carlson et Bruss, 2008): une perte excessive de Na+ : par voie rénale (atteinte tubulaire, hypoaldostéronisme), par voie digestive (diarrhée), par création d'un troisième compartiment, ou lors de sudation importante

Un gain excessif en eau, par exemple en cas de perfusion avec des solutés pauvres en Na+.

b) Le potassium

1. Structure

Le potassium, K+, est un cation appartenant à la famille des alcalins.

2. Fonction

Le potassium fait partie des ions déterminant le gradient électrochimique des membranes cellulaires.

A l'inverse du sodium, il est en faible concentration dans le milieu extracellulaire, et en forte concentration dans le milieu intracellulaire. Il tend donc à sortir passivement des cellules.

3. Régulation

Le potassium d'origine alimentaire est presque entièrement absorbé dans la partie proximale de l'intestin grêle. L'absorption se fait par diffusion passive, rendue possible par un fort gradient de concentration entre la lumière intestinale et le plasma (Hornbuckle et al. 2008).

L'élimination du potassium se fait par différents mécanismes : filtration rénale : après filtration glomérulaire, le potassium est réabsorbé dans le tube proximal, dans la branche ascendante de l'anse de Henlé, dans le tube distal et le tube collecteur médullaire. De manière concomitante, il est sécrété par le tube distal et le tube collecteur cortical, sous influence de l'aldostérone (Braun et Lefebvre, 2008) ; sudation chez certaines espèces, dont le cheval (McConaghy, 1995).

4. Interprétation

La concentration sanguine en K+ est appelée kaliémie et s'exprime en millimoles par litre (mmol/L) ou en milliéquivalents par litre (mEq/L). Une augmentation anormale de la kaliémie, appelée hyperkaliémie, peut survenir suite à (Carlson and Bruss, 2008):

- → Un gain excessif en K+ : perfusion avec des solutés riches en potassium, défaut d'excrétion (obstruction des voies urinaires, atteinte tubulaire, acidose métabolique)
- → Passage extracellulaire : hémolyse, effort intense; des pertes hydriques excessives lors de déshydratation sans perte de K+.

Une diminution anormale de la kaliémie, appelée hypokaliémie, peut survenir suite à (Carlson and Bruss, 2008) des pertes excessives : digestives (diarrhée), rénales (insuffisance rénale, hyperaldostéronisme, acidose tubulaire) ; passage intracellulaire : insuline, catécholamines ; un gain excessif en eau : perfusion avec des solutés pauvres en potassium.

c) Le chlore

1. Structure

L'ion chlorure est un anion appartenant à la famille des halogénés.

2. Fonction

Le chlore fait partie des ions déterminant le gradient électrochimique des membranes cellulaires. Au même titre que le sodium, il est en forte concentration dans le milieu extracellulaire, et en faible concentration dans le milieu intracellulaire. Il tend donc à entrer passivement dans les cellules.

3. Régulation

L'absorption intestinale de Cl- suit celle du Na+ par Co-transport. Dans certains cas, l'entrée d'un ion Cl- se fait en échange de la sortie d'un ion HCO3- (Hornbuckle et al. 2008) L'élimination du Cl- se fait par différents mécanismes :

- → Filtration rénale : les mouvements des ions Cl-suivent ceux des ions Na+ (Braun et Lefebvre, 2008)
- → Sudation chez certaines espèces, dont le cheval (McConaghy, 1995)

4. Interprétation

La concentration sanguine en chlore est appelée chlorémie et s'exprime en millimoles par litre (mmol/L) ou en milliéquivalents par litre (mEq/L).

Une augmentation anormale de la chlorémie, appelée hyperchlorémie, peut survenir suite à (Carlson et Bruss, 2008): un gain excessif : ingestion massive de sel, déshydratation, acidose métabolique ; un défaut d'excrétion : hyperaldostéronisme, réabsorption rénale augmentée lors d'acidose (Saxton et Seldinn, 1986)

Une diminution anormale de la chlorémie, appelée hypochlorémie, peut survenir suite à (Carlson et Bruss, 2008) des pertes excessives : lors de sudation importante, en cas de défaut de réabsorption tubulaire, séquestration dans un troisième secteur, alcalose métabolique ; à un gain excessif en eau : perfusion avec des solutés pauvres en Cl-.

2. Les ions divalents:

a) Le calcium

1. Structure

L'ion calcium est un cation appartenant à la famille des alcalino-terreux. Le calcium est surtout présent dans les os, mais aussi dans les cellules et dans le plasma. Le calcium plasmatique existe sous trois formes : en complexe avec des acides organiques, lié à des protéines et ionisé. La fraction ayant une activité biologique est celle représentée par le calcium ionisé Ca2+ dont la proportion par rapport au calcium plasmatique total est d'environ 50 % (Rosol et Capen, 1997; Lopez, 2006). La proportion de calcium ionisé varie en fonction du pH sanguin et donc du statut acido-basique.

2. Fonction

Le calcium et le magnésium sont les deux principaux ions bivalents de l'organisme. Le calcium est majoritairement extracellulaire, tandis que le magnésium est majoritairement intracellulaire. Les ions calciques ont de nombreuses fonctions dans l'organisme dont : l'excitabilité neuromusculaire la formation d'os la coagulation sanguine les processus de sécrétion l'intégrité membranaire et le transport à travers les membranes plasmiques les réactions enzymatiques la libération des hormones et des neurotransmetteurs l'action intracellulaire d'un certain nombre d'hormones.

3. Régulation

Le calcium est fourni par l'alimentation et son absorption dans le tractus digestif se fait selon deux mécanismes : un transport transcellulaire saturable et un transport intercellulaire non saturable (Favus, 1992). Le transport saturable est un mécanisme dépendant de la vitamine D activée, qui a lieu dans le duodénum, mais aussi dans le caecum et le côlon (Favus, 1992; Mc Dowell, 1992; Karbach et Feldmeier, 1993). Le transport non saturable a lieu pour sa part dans l'intestin grêle et dépend de la concentration luminale en Ca2+.

L'excrétion du calcium est effectuée par le rein et 98% ou plus du calcium filtré par les glomérules rénaux sont réabsorbés. La majeure partie (70%) est réabsorbée de manière passive dans le tubule contourné proximal, une partie moindre est réabsorbée dans la branche ascendante large de l'anse de Henlé (le mécanisme précis est inconnu) et la dernière partie est absorbée au niveau du tubule contourné distal par un transport actif stimulé principalement par l'hormone parathyroïde (Bindels, 1993).

La concentration sérique en calcium est régulée par un système endocrinien complexe faisant intervenir deux hormones : la parathormone : son action permet la mobilisation des réserves osseuses de calcium et une augmentation de la calcémie, la calcitonine : son action permet au contraire le stockage du calcium sous forme osseuse et entraîne une diminution de la calcémie.

4. Interprétation

La concentration sanguine en calcium est appelée calcémie et s'exprime en milligrammes par litre (mg/L) ou en millimoles par litre (mmol/L). Le plus souvent c'est la calcémie totale qui est mesurée, même si la calcémie ionisée a plus d'intérêt d'un point de vue biologique.

Une calcémie anormalement élevée, ou hypercalcémie, peut survenir suite à (Braun et Lefebvre, 2008) un gain excessif : apports alimentaires excessifs ; un défaut d'élimination par diminution de l'excrétion urinaire du calcium.

Une hyperparathyroïdie primaire ou secondaire à une insuffisance rénale chronique; Une calcémie anormalement basse, ou hypocalcémie, peut survenir suite à un défaut d'absorption intestinale : carence, hypovitaminose D due à une carence ou à une hyperphosphatémie, une élimination excessive par augmentation de l'excrétion urinaire de calcium.

b) Le magnésium

1. Structure

Le magnésium est le quatrième cation le plus important de l'organisme. Sa répartition est approximativement la suivante : 60% dans le tissu osseux sous forme d'hydroxyapatite, 38% dans les tissus mous et 1 à 2% dans le milieu extracellulaire. Les tissus mous qui contiennent le plus de magnésium sont les muscles striés squelettiques, le cœur et le foie, avec une concentration intracellulaire proportionnelle à l'activité métabolique de la cellule. De la même manière que le calcium, le magnésium plasmatique existe sous trois formes : lié à des protéines (principalement l'albumine), complexé à des anions de petites taille (phosphate, lactate), ionisé (Mg2+) qui est la forme physiologiquement active. Chez les chevaux, la forme ionisée représente environ 60% du magnésium sérique total (Lopez, 2006).

2. Fonction

Le magnésium intervient dans le fonctionnement de la pompe Na+/K+ATPase, dans la régulation des pompes du calcium et du potassium, dans la transmission neuromusculaire et dans de nombreux processus enzymatiques et hormonaux. Il joue aussi un rôle dans la contraction des muscles striés squelettiques, dans le tonus vasomoteur et dans l'excitabilité du muscle cardiaque et dans le péristaltisme viscéral (Stewart, 1998).

3. Régulation

Le magnésium est fourni par l'alimentation et son absorption dans le tractus digestif se fait selon deux mécanismes : diffusion intercellulaire et transport actif transcellulaire (Flatman, 1991). Une première partie est absorbée dans la moitié proximale de l'intestin grêle, et une deuxième partie plus importante au niveau de la moitié distale de l'intestin grêle et du gros intestin. L'augmentation de l'ingestion de magnésium n'augmente pas sa digestibilité. Le magnésium est filtré par le glomérule rénal et en partie réabsorbé au niveau du tubule proximal, et dans la branche ascendante de l'anse de Henlé (Rosol et Capen, 1996). La réabsorption tubulaire est accrue quand la concentration sérique en magnésium est basse, tandis que l'excrétion est stimulée par l'aldostérone (Meij et Mol, 2008).

4. Interprétation

La concentration sanguine en magnésium est appelée magnésémie et s'exprime en milligrammes par litre (mg/L) ou en millimoles par litre (mmol/L). Une magnésémie anormalement élevée, ou hypermagnésémie, peut être corrélée à : Une atteinte rénale, Une fatigue musculaire.

Une magnésémie anormalement basse, ou hypomagnésémie peut s'expliquer par : Une carence alimentaire, L'hyperaldostéronisme.

c) Le phosphore

1. Structure

Le phosphore inorganique se trouve à 90% sous forme d'hydroxyapatite [Ca10(PO4)6(OH) 2] dans la matrice minéralisée des os. Les 10% restant sont localisés dans les tissus mous, dans le compartiment intracellulaire. Le phosphore inorganique, est surtout présent dans le sang sous forme d'ion phosphate (HPO42-et H2PO4-), avec un ratio de quatre ions HPO42- pour un ion H2PO4- à pH physiologique (Knochel et Jacobson, 1986). C'est pourquoi les termes phosphore et phosphates sont employés indifféremment.

2. Fonction

Le phosphate est un constituant des phospholipides, des phosphoprotéines, des acides nucléiques, de l'ATP, et de l'hydroxyapatite, et à ce titre joue un rôle primordial dans l'intégrité des membranes cellulaires, le métabolisme énergétique ainsi que dans la contraction musculaire, la délivrance d'O2 aux tissus et le maintien de l'intégrité du squelette.

3. Régulation

Le phosphate d'origine alimentaire est absorbé dans le duodénum et dans le jéjunum (Care, 1994) et également dans le gros intestin chez les chevaux (Barlet et al. 1995). Le passage de la barrière intestinale se fait selon deux mécanismes (Favus, 1992): par transport facilité grâce à un Cotransporteur Na+/phosphate et par diffusion passive. L'excrétion du phosphore est effectuée par les reins. Elle dépend des importances Relatives du taux de filtration glomérulaire et du taux maximal de réabsorption tubulaire (Yanagawa et Lee, 1992). La réabsorption a lieu au niveau du tubule proximal

(Braun and Lefebvre, 2008). Comme dans le cas du calcium, le taux sérique de phosphore est sous régulation hormonale. Principalement par la parathormone qui diminue le taux de réabsorption tubulaire et augmente donc l'excrétion rénale (Murer and al. 1996). D'autres inhibiteurs du Cotransport Na+/phosphate produisent le même effet, c'est le cas de la calcitonine et du facteur atrial natriurétique. A l'inverse le Co-transport Na+/phosphate est stimulé par l'insuline, ou encore l'hormone de croissance (Kempson, 1996).

4. Interprétation

La concentration sanguine en phosphate est appelée phosphatémie et s'exprime en milligrammes par litre (mg/L).

-Une phosphatémie anormalement élevée, ou hyperphosphatémie peut être provoquée par (Rosol and Capen, 1997): Une lyse cellulaire massive, Une intoxication à la vitamine D, l'insuffisance rénale chronique. Des maladies endocriniennes telles l'hypoparathyroïdisme, l'hypersomatotropisme, ou encore l'hyperthyroïdisme (Chew et Meuten, 1982).

-Une phosphatémie anormalement basse, ou hypophosphatémie peut être causée par (Rosol and Capen, 1997): Une mal distribution secondaire à une charge trop importante en hydrates de carbone, Une alcalose respiratoire, Une acidose métabolique, Une décharge de catécholamines, Une carence en vitamine D.

F) Cinétique enzymatique et demi-vie des molécules :

Définition de la demi-vie :

La demi-vie d'une molécule correspond au temps au bout duquel la concentration de cette molécule est divisée par deux. Cette donnée est utilisée en biologie car la dégradation de la plupart des molécules n'est pas une fonction linéaire du temps. La demi-vie permet une comparaison plus aisée des durées de vie des différentes molécules. Lorsque la lésion d'un organe entraîne la libération de molécules dans la circulation sanguine, en connaissant leurs demi-vies respectives, il est possible d'estimer quand la lésion a eu lieu et si elle a encore cours. C'est la cinétique enzymatique

À t0 survient une lésion qui entraîne la libération dans le sang de deux enzymes. À t1 la lésion est récente, l'enzyme 1 voit son activité sérique fortement augmentée, tandis que l'activité sérique de l'enzyme 2 est modérément augmentée. À t2, la lésion est plus ancienne, l'activité sérique de l'enzyme 1 est quasiment redevenue normale, tandis que l'activité sérique de l'enzyme 2 est encore fortement augmentée.

Exemple d'application clinique :

Les paramètres de l'exploration de l'intégrité du tissu musculaire :

-L'AST a une demi-vie d'environ 3-4 jours (Bernard et Divers, 1989) plus longue que celle de la CK, d'environ 9 heures (Volfinger et al. 1994). Une élévation de l'activité sérique de la CK témoigne donc d'une lésion en cours ou récente, tandis qu'une augmentation de l'activité sérique de l'AST témoigne d'une lésion récente ou ancienne.

-Les paramètres sanguins, qu'ils soient hématologiques ou biochimiques, apportent de nombreuses informations sur l'état de santé d'un animal. Toutefois, ils s'interprètent rarement seuls et c'est la combinaison de plusieurs paramètres qui apportera l'information la plus précise. Ainsi, de manière courante, les organes sont explorés de la manière suivante :

→Le système hématopoïétique : NFS.

→Le foie : protéines, bilirubine et acides biliaires pour détecter l'insuffisance hépatique, GGT et bilirubine pour objectiver la cholestase.

→ Les reins : urée et créatinine pour objectiver une atteinte glomérulaire, calcium et phosphore pour objectiver une atteinte tubulaire ou glomérulaire.

→ Le tissu musculaire : CK et AST pour objectiver l'intégrité des myocytes, magnésium pour le fonctionnement des myocytes.

→ Équilibre hydro-électrolytique : sodium, potassium, chlore et hématocrite. (CAPUCINE PAROT, 2011)

G) Rappel sur la méthode de spectrophotométrie :

En biochimie, les paramètres a analysé sont soit sous forme de molécule ou bien sous forme d'ions ; ces forme peuvent absorber ou fléchir des rayons lumineux spécifiques lors de leur exposition a un flux de lumière. La quantification de ces rayons fléchis ou absorbés par une molécule ou un composé peut nous conduire à quantifier cette dernière dans une solution quelconque, cette méthode s'appelle la spectrophotométrie.

1-Présentation:

La spectrophotométrie nous permet l'étude de solutions colorées sous différents rayons lumineux : dans l'infrarouge (1100nm au maximum), dans le visible et dans l'ultraviolet (190nm). (www.eduscol.education.fr/tp_spectro.pdf)

C'est une méthodologie extrêmement courante pour :

- Déterminer la concentration d'une molécule
- Suivre la cinétique de formation d'un produit au cours d'une réaction enzymatique
- Mesurer l'absorbance d'un éluât au cours d'une chromatographie pour tracer le profil d'élution
- Apprécier le degré de pureté d'une molécule purifiée

Cette méthode présente de nombreux avantages : méthode facile à mettre en œuvre ; possibilité d'utilisation de molécules biologiques en solution ; simplicité et rapidité des mesures ; permet de tester l'effet de divers paramètres (pH, température...). (www.biochimej.univ-angers.fr/Page2/tesxttd/8tpmethodologie/3spectrophotometrie/1spectrophotometrie.htm)

-Pour la spectrophotométrie UV-visible : elle présente une grande sensibilité (limites de détection atteignant 10⁻⁴ à10⁻⁵ jusqu'à 10⁻⁶ M) ainsi une sélectivité largement adaptable : l'existence d'une longueur d'onde que seul le corps à doser absorbe, ce qui dispense d'une séparation chimique des composants ; une grande précision : les erreurs ne dépassent pas les 5 %.

2-Domaine spectral utilisé:

Pour obtenir des résultats fiables, il faut s'assurer que l'on analyse bien l'échantillon souhaité. Cette remarque est une évidence: elle constitue pourtant une des principales limitations de la spectrométrie. Le faisceau incident peut en effet être absorbé par des éléments intermédiaires:

- par la cuve: le verre absorbe la plus grande partie du spectre IR et le lointain UV,
- par des fibres optiques (si l'appareil en comporte) à cœur silice,
- par l'oxygène de l'air: en dessous de 190 nm l'absorption par l'oxygène trouble systématiquement toutes les mesures,
- par les impuretés sur le trajet de la lumière : la vapeur d'eau, le CO2 atmosphérique parasitent la mesure sur les appareils à simple rayon,

• par le solvant: le tableau ci-dessous indique les longueurs d'onde limites en dessous desquelles le solvant absorbe le faisceau incident.

3-Les applications :

La spectrométrie s'utilise principalement dans deux cas:

- → en laboratoire afin d'établir un tracé quantitatif d'un spectre d'absorption ou de réflexion en fonction de la longueur d'onde,
- → en analyse industrielle soit pour déterminer la composition d'un échantillon, soit pour mesurer des paramètres (couleur, turbidité, ...).
- -Parce que la majorité des molécules organiques complexes est transparente aux radiations de longueur d'onde supérieure à 180nm, la mesure d'un pic d'absorption entre 200 et 400nm indique clairement la présence de molécules instaurées ou de groupes d'atomes tels les sulfures ou les halogènes. Ce genre de données complète parfaitement d'autres méthodes en particulier la spectrométrie IR et de masse, la résonance magnétique nucléaire, la solubilité et le point d'ébullition.
- -En outre de nombreuses substances inorganiques ou organiques qui n'absorbent pas les UV ou le visible, réagissent avec des chromophores dont on peut aisément suivre l'évolution :
- L'analyse mono-composante : on utilise directement la loi de Beer-Lambert. A la limite, dans le cas d'une solution limpide sans recouvrement des spectres d'absorption des composés, il suffit d'une seule longueur d'onde pour effectuer la mesure. La qualité de la mesure dépend directement du calibrage initial.
- L'analyse multi composants : elle demeure plus répandue dans le spectre IR.
- Turbidité et analyse granulométrique : la turbidité est un paramètre qui caractérise les suspensions de particules solides dans un liquide. Celles-ci provoquent une diffusion de la lumière incidente. On accède ainsi à leur concentration, leur taille, leur indice de réfraction.
- Mesure des couleurs : on analyse la lumière réfléchie par une surface. La couleur correspond au complémentaire du spectre réfléchi.

4- Principe de fonctionnement :

La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm environ, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques.

Elle s'applique à des groupements d'atomes (ex : molécules, ions, polymères) qui absorbent le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS.

a) Analyse quantitative:

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-VIS est très utilisée (beaucoup plus que l'analyse qualitative) car l'absorption est plus ou moins importante selon le nombre de groupements d'atomes placés sur le trajet de la lumière : des lois connues relient cette absorption à ce nombre dans certaines conditions opératoires. Ce sont les lois de Lambert et de Beer.

-Loi de Lambert :

La proportion de lumière incidente absorbée par un milieu transparent est indépendante de l'intensité de la lumière (pourvu qu'il n'y ait pas d'autres changements physiques ou chimiques dans le milieu).

Ainsi, des milieux successifs d'égale épaisseur transmettent une égale proportion de l'énergie incidente.

La loi de Lambert s'exprime par : $T = I / I_0$

Avec:

 I_0 = intensité de la lumière incidente, I = intensité de la lumière transmise (I toujours inférieure à IO),

T = transmittance

Il est commun d'exprimer la transmittance par un pourcentage:

$$% T = I / I_0$$

-Loi de Beer :

L'absorption de la lumière est directement proportionnelle à la fois à la concentration du milieu absorbant et à l'épaisseur de la cuve où se trouve le milieu.

Une combinaison de ces deux lois (la loi de Beer-Lambert) donne la relation entre l'absorbance (A) et la transmittance (T) :

$$A = log (I_0 / I) = log (100 / T) = \epsilon c x$$

Avec:

A = absorbance (sans unité), ε = coefficient d'absorption molaire ou d'extinction (dm3. mol-1. cm-1), c = concentration molaire (mol. dm-3), x = longueur de la cuve (cm) ou trajet lumineux.

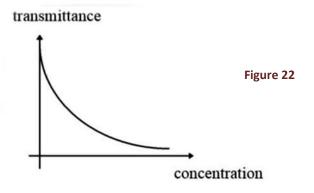
Il est important de noter que **ɛ** est une fonction de la longueur d'onde et donc que la loi de Beer-Lambert est seulement vraie en lumière monochromatique.

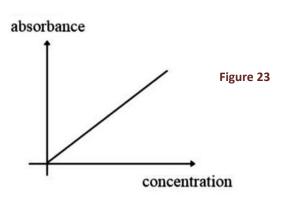
La relation entre transmittance et concentration n'est pas linéaire (figure 22), mais la relation entre l'absorbance et la concentration est linéaire (figure 23), ce qui est à la base de la plupart des analyses quantitatives.

- L'absorption de la lumière UV- VIS est quantitativement exploitable car très précise. En effet, concernant les transitions électroniques, l'écart d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité (d'un électron) est relativement important. A température ambiante, il est donc hautement probable que toutes les molécules soient à l'état électronique fondamental. De plus, l'absorption et le retour à l'état fondamental sont des processus rapides et l'équilibre est rapidement atteint.
- Au contraire, en spectrométrie IR l'écart d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité est relativement peu important, et donc une proportion significative des molécules peut être à l'état excité à température ambiante.

L'absorption IR est ainsi non seulement dépendante de la concentration, mais également du nombre de molécules à l'état excité. Cette dernière information étant difficile à obtenir, les inexactitudes de mesure de l'absorbance IR limitent l'usage de la spectrométrie IR pour les analyses quantitatives.

La simple relation linéaire entre l'absorbance et la concentration et la facilité relative de mesure de la lumière UV-VIS sont donc les raisons pour lesquelles la spectroscopie UV-VIS est à la base d'un grand nombre de méthodes d'analyse quantitative.





b) Appareillage:

Les spectromètres classiques comprennent les mêmes éléments, qu'ils soient utilisés dans le domaine UV-VIS que dans le domaine IR : une source, un porte-échantillons, un monochromateur, un détecteur, un appareil de lecture.

Toutefois, la disposition de ces éléments diffère selon les deux domaines spectraux.

- En UV-VIS, le porte-échantillons est placé à la sortie du monochromateur, et non pas juste après la source, afin d'éviter de détériorer des molécules fragiles avec tout le rayonnement UV de la source et de provoquer des fluorescences.
- En IR, on place le porte-échantillons entre la source et le monochromateur.

Les sources les plus employées sont celle au deutérium qui émet fortement dans l'UV mais peu dans le VIS et une lampe au tungstène qui émet fortement dans le VIS mais peu dans la région basse de l'UV.

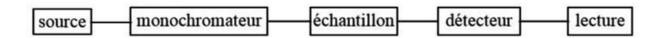


Figure 24: principales composants d'un spectrophotomètre

Elles émettent un spectre continu et quelques raies atomiques qui permettent de faire un calibrage en longueur d'onde par exemple

Le monochromateur est généralement composé d'une fente d'entrée, d'un dispositif de dispersion (un prisme ou un réseau holographique par exemple) et d'une fente de sortie.

La lumière polychromatique de la source est focalisée sur la fente d'entrée du monochromateur qui transmet sélectivement une bande étroite de lumière.

Cette lumière, à certaines longueurs d'onde, traverse l'échantillon, et agit sur les molécules de la solution selon les principes énoncés précédemment (excitation des électrons puis rémission de lumière), avant d'atteindre le détecteur.

Les détecteurs couramment employés sont des tubes photomultiplicateurs et, plus récemment, des photodiodes.

Dans les spectromètres à absorption, les détecteurs mesurent l'intensité I de la lumière non absorbée par l'élément à doser. Cette lumière passe donc à travers la cuve sans que les photons agissent sur les électrons de l'élément. Dans de tels spectromètres, tous les éléments sont situés sur la même ligne.

Dans les spectromètres à fluorescence, les détecteurs mesurent l'intensité I de la lumière réémise par l'élément, après que celui-ci ait absorbé la lumière I₀ provenant de la source. Dans de tels spectromètres, le porte-échantillons n'est plus sur la ligne où se situent les autres éléments mais se trouve à 90°. Ainsi, la lumière I₀ venant de la source ne peut arriver au détecteur et fausser ses mesures.

La lecture de l'absorbance d'un échantillon est déterminée en mesurant l'intensité de la lumière atteignant le détecteur sans échantillon (c'est le « blanc ») et l'intensité de la lumière atteignant le détecteur après avoir traversé l'échantillon.

c) Méthodologie:

- Cas de dosage d'un seul élément

Le blanc utilisé doit contenir la solution à laquelle l'élément étudié a été retiré.

Dans un premier temps, on cherche la longueur d'onde d'absorption maximale de cet élément, en traçant son spectre d'absorption (A en fonction de λ) : λ max est déterminée.

Ensuite, à λ max (pour n'effectuer qu'une seule mesure tout en évitant au mieux les lumières parasites), on trace la courbe d'étalonnage de l'élément. Pour cela, on prépare environ 5 échantillons à des concentrations connues et on mesure à chaque fois l'absorbance A. Parmi ces 5 échantillons, on prépare un échantillon qui donne A = 0 (solvant seul sans l'élément étudié) et un autre qui donne A = 100% (élément seul).

Cette courbe d'étalonnage permet de calculer le coefficient d'extinction $\mathbf{\varepsilon}$ défini précédemment. Alors, les concentrations inconnues de l'élément peuvent être déterminées, à λ max, en reportant sur la courbe les absorbances mesurées. Notons que les mesures ne sont valables que si l'absorbance ne dépasse pas 3.

d) Mise en œuvre:

Le schéma général d'un spectrophotomètre à absorption moléculaire UV-visible ayant été présenté dans le paragraphe précédent, nous allons détailler dans cette partie les différents instruments qui le constituent.

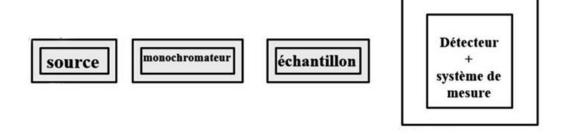


Figure 25: schéma simple d'un spectrophotomètre UV spectroscopy, techniques, instrumentation,

1- Les sources

Pour la plupart des spectrophotomètres UV-visible, on utilise principalement deux types de lampes afin de couvrir la totalité du spectre.

Ainsi, pour la partie UV du spectre, on emploie des lampes au deutérium ou parfois au xénon à haute pression. Les lampes au deutérium émettent en effet un rayonnement dont les longueurs d'onde sont comprises approximativement entre 180 et 400 nm. Ce sont des lampes à arc remplies de deutérium gazeux à basse pression qui émet un spectre continu, ce qui simplifie la prise en compte des données. De plus, elles émettent quelques raies atomiques qui permettent de faire un calibrage précis. Cependant, ces lampes nécessitent un préchauffage de 30 minutes et ont une durée de vie d'environ 1000 heures, ce qui peut s'avérer gênant lors des applications industrielles où l'on travaille en continu.

En ce qui concerne la partie visible du spectre, les plus utilisées sont les lampes halogène au quartz à filaments de tungstène dont le rayonnement, continu, est compris entre 350 et 1300 nm. La présence de l'halogène augmente sensiblement la durée de vie de la lampe (1500 à 2000 heures). Ces deux lampes sont donc utilisées de façon complémentaire et simultanée pour couvrir la totalité du spectre UV-visible.

2- Monochromateurs et poly-chromateurs

La fonction du monochromateur est de sélectionner une longueur d'onde parmi le spectre du rayon incident. Les plus simples sont composés de filtres ne laissant passer qu'une seule longueur d'onde; il est possible d'en utiliser plusieurs afin d'obtenir différentes longueurs d'onde. Cependant leurs possibilités sont limitées: les filtres sont peu précis dans leur sélection et ne sont utilisables que dans le domaine visible. De plus, balayer le spectre entier nécessite une multitude d'interventions.

-Les monochromateurs les plus utilisés sont composés en général d'une fente d'entrée, d'un dispositif de dispersion comme un prisme ou un réseau, et d'une fente de sortie. L'échantillon et le détecteur, placés juste derrière le monochromateur, ne seront donc traversés que par un domaine étroit de longueurs d'onde. Pour changer de longueur d'onde, il suffit alors de faire pivoter le dispositif de dispersion. En réitérant cette opération, le spectre entier sera balayé.

-Le poly-chromateur sépare le spectre en d'étroites bandes grâce à un réseau holographique fixe. Ce dernier se trouve derrière l'échantillon: l'échantillon reçoit tout le rayonnement UV, néfaste à certaines cellules donc n'assure pas la protection de l'échantillon à doser.

Les deux sortes d'instruments ont donc chacun leurs avantages et leurs inconvénients et leur choix d'utilisation dépend de l'expérience à réaliser.

3- Les détecteurs

Il existe deux types principaux de détecteurs: le détecteur uni-canal et le détecteur multicanal. En fait, le premier convient à un monochromateur alors que le second est utilisé avec un poly-chromateur.

- Le détecteur uni-canal le plus utilisé est le photomultiplicateur. Celui-ci est en fait une amélioration du photo-tube, auquel a été rajouté un système d'amplification interne. En effet, la lumière incidente arrive sous forme de photon sur la cathode du photomultiplicateur. Par effet, photoélectrique, il apparaît des électrons qui, grâce aux électrodes placés dans le tube de l'instrument, se multiplient. En fait, le photomultiplicateur est un tube à électrons contenant une photocathode qui produit des électrons quand elle est exposée à la lumière. Pour un électron à la cathode, il y en a 106 à l'anode. On remarque que la tension de sortie est proportionnelle au flux lumineux.
- En ce qui concerne les détecteurs multicanaux, les différents instruments ont tous le même principe de fonctionnement: en effet, le faisceau lumineux arrive sur un cristal de silicium dont la structure électronique va être modifiée grâce aux photons incidents; des électrons excités vont alors passer de la bande de valence à la bande de conduction. Ces porteurs de charge libres vont être utilisés de différentes manières selon le type de détecteurs.

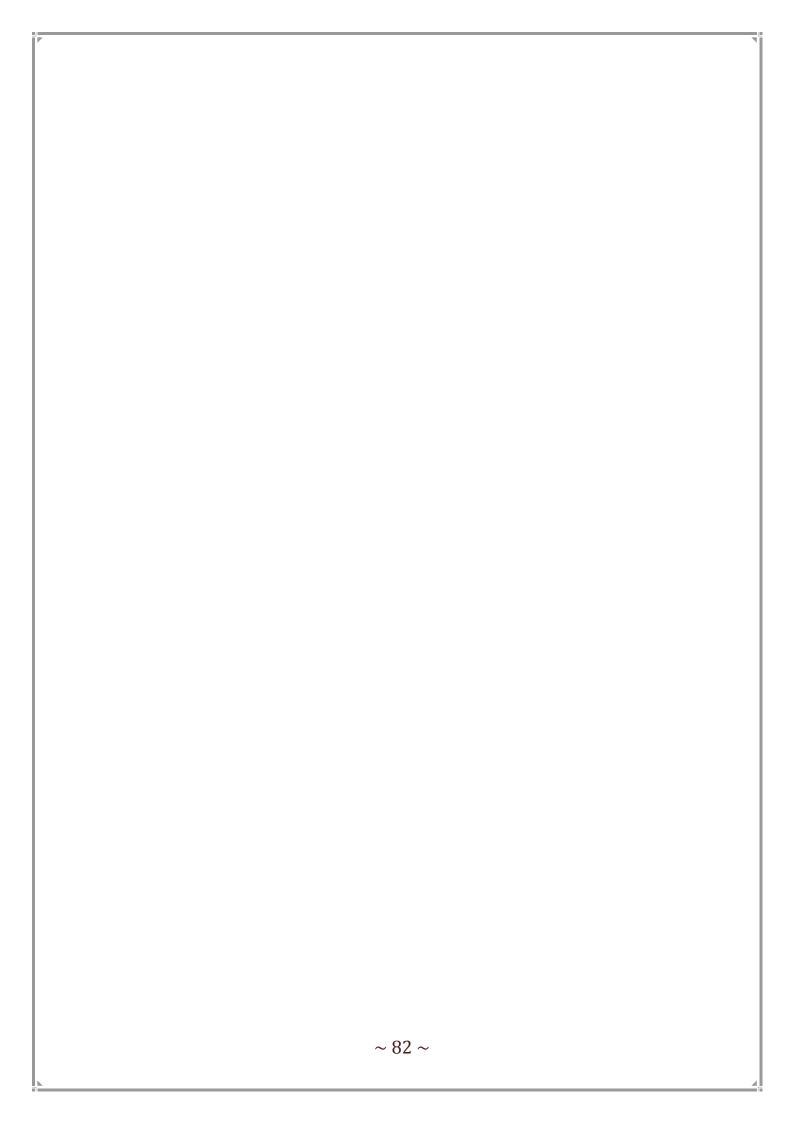
4- Le recueil du signal

Le détecteur est relié grâce à un convertisseur, à un microprocesseur, qui non seulement recueille toute la série de mesures, mais également, dans certains spectrophotomètre, conduit le pivotement du système optique (réseau ou prisme).

Grâce à l'amélioration de la reproductibilité des mesures, la spectrophotométrie par absorption UVvisible apporte maintenant des réponses qualitatives.

La spectrophotométrie par absorption UV-visible peut être utilisée soit pour une mesure qualitative grâce au tracé du spectre d'absorption en fonction de la longueur d'onde, soit pour une analyse industrielle en déterminant la composition d'un échantillon grâce à la loi de Beer- Lambert.

Actuellement, grâce aux spectrophotomètres modernes, on préfère effectuer une analyse multicomposante plutôt qu'une analyse mono-composante: on obtient ainsi en moins de 1 seconde la totalité des données, ce qui permet de résoudre des problèmes de plus en plus complexes et de comparer les spectres de différents échantillons. (www.spin.mines-stetinne.fr/uv-vis2.pdf)



EXPERIMENTATION EXPÉRIMENTATION

PARTIE II:

Introduction

La race barbe comme citer dans la première partie, c'est une race sujette à de multiple variation du faite de son aptitude à l'adaptation aux différentes conditions environnementales, ainsi que la vaste étendue de son berceau (Afrique du nord) donc il n'est pas rare de trouver de multiples types de chevaux barbes . Ces variations sont marquées même à l'échelle individuelle ou plus précisément au niveau sanguin en raison des différents facteurs physiologique (Age, sexe, l'alimentation, gestation, stress, saison...) et qui sont susceptibles d'influencer un ou plusieurs paramètres du sang.

Il est aussi important de savoir que l'utilisation dans laquelle sont destinés les chevaux a aussi sa part d'influence sur leurs paramètres sanguins, non seulement pour le barbe comme race mais c'est une particularité de toute l'espèce chevaline par rapport aux autres mammifères et cela s'explique par les exigences métaboliques induites par l'effort auquel sont soumis les chevaux, ces exigences peuvent varier selon le degré, la fréquence et même la durée de cet effort.

En médecine équine, ces variations constituent un grand défi et surtout quand on est face à des chevaux de sport de haut niveau, comme le barbe, et qui exigent un suivie médico-sportif stricte, pendant ou hors les compétitions ; ce suivie est basé principalement sur des bilans sanguins.

Le rôle du médecin vétérinaire dans ce cas est donner une bonne interprétation de ces bilans sans tomber dans l'échec d'une surestimation des résultats. Pour atteindre ce but, il est impératif de prendre en considération toute les données cliniques et leurs facteurs influençant, mais aussi de connaître les valeurs de normes spécifiques à un tel ou tel paramètre.

Donc, la recherche de ces valeurs référentielles pour le cheval barbe de la région de Tiaret, sera notre but dans cette étude.

I. Objectif

Le but de cette partie expérimentale est d'établir des valeurs de référence concernant certains paramètres hématologiques et biochimiques chez le cheval Barbe avec un seul facteur influant qui est « la saison » ; pour cela des prélèvements sanguins ont étés réalisés ainsi que des analyses de laboratoire appropriés.

Les résultats obtenus seront classées par mois et pour chaque mois les valeurs moyennes et l'ecartype seront calculés.

Par la suite, les valeurs finales seront comparées avec celles d'autres études établies chez quelques races chevalines.

II. Matériels et méthodes

1) Sélection et description du lot :

a. Sélection:

Nous avons mené cette étude sur un lot de 10 chevaux de race barbe et Arabe-Barbe, pendant une période de 07 mois s'étalant de : « Novembre 2014 jusqu'à Mai 2015 » ; durant laquelle on a pu réaliser 06 prélèvements de sang qui correspondent aux mois de : Novembre, Janvier, Février, Mars, Avril et Mai.

Ces chevaux siègent au niveau de l'ONDEEC de TIARET (OFFICE NATIONAL DE L'ELEVAGE EQUIN ET CAMELIN). Pendant les deux dernier mois de l'expérience : Avril et Mai, deux de ces chevaux ont quitté l'office après leur transfert à d'autres Wilayas, donc le lot a été réduit à 8 chevaux.

Le lot est composé exclusivement de chevaux de sexe males, tous adultes leur moyenne d'âge est de 9 ans ; hors les compétitions, les sujets sont maintenus dans leur box au sein de l'ONDEEC, où on leur procure l'entretien et les soins si nécessaire.

Tableau 2: composition du lot étudié

Sujets	Race	Age (ans)
А	BARBE	8
В	BARBE	8
С	BARBE	7
D	BARBE	13
Е	ARABE-BARBE	13
F	ARABE-BARBE	10
G	ARABE-BARBE	7
Н	BARBE	11
ı	ARABE-BARBE	8
J	BARBE	9

b. <u>Description</u>:

L'ensemble des sujets ayant servi d'échantillon, participe à différents concours de sport donc sont considérés comme chevaux sportif de haut niveau ; ils sont même utiliser comme reproducteur selon la demande.

Le régime alimentaire est basé essentiellement sur l'orge, une ration de 02 à 02.5 Kg d'orge distribué deux fois par jour, le matin à 11 :00 h et le soir à 18 :00h. L'abreuvement et la paille sont à volonté.

L'état général des sujets s'avère bon, leur appétit aussi. Aucun incident pathologique n'a été détecté tout au long de l'expérience sauf pour deux cas :

- Le sujet D, de race barbe âgé de 13 ans présentai déjà un mélanome au niveau de la face, cette pathologie est d'ordre génétique, elle est fréquente chez les individus ayant des robes claires (blanc à gris clair) mais sans aucune influence sur leur état de santé.
- Le sujet J, un barbe âgé de 9 ans a présenté une fourbure, il a été traité le mois de février à la veille du prélèvement ce qui a engendrer la coagulation de son sang après les prélèvements, le tube concerné été celui à EDTA destiné à l'analyse hématologique donc, cet analyse n'a pas été réalisé pour ce sujet pour le mois de février. Noter que ce cheval, disant qu'il possède toutes les caractéristiques d'un barbe a acquis le titre du « standard barbe » lors d'une compétition au Maroc.

En revenant à la durée de l'expérience, on a cité au premier paragraphe que pendant les 07 mois on a réalisé que 06 prélèvements, on a due manquer le mois de Décembre en raison de la participation de nos chevaux à des compétions sportives et qui nous a empêchées de réaliser les prélèvements.

2) Collecte des données :

a) Les prélèvements :

Chaque mois la prise d'échantillon sanguin se réalisait sur l'ensemble des sujet entre 09 :00h et 10 :00h du matin avant la distribution de leur ration. Noté qu'avant, lors et après les prélèvements les chevaux sont au repos dans leur box.

Du sang veineux de la veine jugulaire droite ou gauche selon les cas est prélevé à l'aide d'une aiguille montée sur une seringue de 10 CC (figure 19) ; puis conserve dans des tubes adaptés. Dans cette étude deux types de tube ont étés utilisés :

- -tube violet à EDTA pour l'analyse hématologique
- -tube vert à héparine pour le dosage biochimique

Par la suite, le sang récolté est conservé au froid puis directement transporté, de l'ONDEEC vers le laboratoire de biochimie au sein de l'institut vétérinaire de Tiaret.



Figure 18: Tubes Utilisés Pour La Collecte De Sang



Figure 19 : Type De Seringue Utilisée Pour La Prise De Sang

b) Techniques d'analyse:

En arrivant au laboratoire de l'institut, les tubes sont identifiés par des lettres (A, B, C....) ; pour chaque sujet il y a 02 tubes portant la lettre qui lui correspond.

La séparation du sang contenu dans les tubes à héparine est la première étape de l'analyse biochimique, cela nécessite une centrifugation pendant 5 minutes à une vitesse de 12000 tours par minute (Figure 21).

Le plasma sanguin obtenu après centrifugation est transféré dans des tubes secs à l'aide d'une pipette, ces tubes sont étiquetés puis conservés au congélateur (Figure 20); de cette manière on pourra augmenter la durée de conservation sans risque d'altération des enzymes contenues dans le plasma (cette durée peut atteindre jusqu'à 06 mois).

Pour l'hématologie c'est le contraire, les analyses doivent se faire dans les 24 heures qui suivent le prélèvement pour obtenir des résultats fiables, donc ces paramètres sont les premiers à explorer.



Figure 21: Centrifugeuse Pour La Separation Du Sang



Figure 20 : Plasma Sanguin Conservé Dans Des Tubes Secs

❖ Analyses hématologiques :

Le sang utilisé pour l'analyse hématologique est celui récolté dans les tubes à EDTA (tube violet) ; 03 paramètres ont étés mesurés en hématologie : Taux d'hématocrite, le taux des globules blanc total et le taux de chaque lignée lymphocytaire.

1-Le taux d'hématocrite :

- Il permet d'estimer le volume des globules rouges par rapport au volume total du sang, la méthode utilisée dans cette étude est celle d'une lecture manuelle.

Pour commencer il faut s'assurer de l'identification des tubes (violets), on peut les agiter doucement (par des mouvements en 8) pour homogénéiser leur contenu, par la suite on utilise des tubes capillaires pour pipeter du sang, ces derniers sont maintenus entre le pouce et le majeur dans un sens incliné, on laisse le sang monter par capillarité jusqu' à environ 1 cm de l'extrémité tout en évitant la formation des bulles d'air et qui peuvent en conséquence fausser les résultats. L'autre extrémité doit être bourrée, on aura besoin d'une pâte à scellement, dans cette étude une pâte de mastique a été utiliser afin d'assurer une bonne fermeture pour cette extrémité.

-L'étape suivante consiste à une centrifugation pendant 05 minutes à 12000 tours/minute (Figure 22); il faut toujours veiller à ce que l'emplacement des microtubes soit d'une manière équilibré et en respectant l'ordre (chaque tube spécifique à un sujet on le place sur un chiffre qui correspond à sa lettre puis on place le deuxième tube sur un chiffre qui correspond au premier mais du cote opposé par rapport à l'axe de la centrifugeuse par exemple : le 01 pour le « A » puis le 13 pour le « B », le 04 pour le « D », 16 pour le « C » etc...). (Figure 23)

A la fin de la centrifugation, chaque tube capillaire est divisé en 02 compartiments : le plasma et les hématies (Voir Figure09 partie bibliographique et Figure 24).



Figure 22 : Centrifugeuse spéciale hématocrite

- La lecture nécessite l'utilisation d'une échelle spéciale : une plaque de lecture (Figure 25) comportant des graduations de 0 à 100 ; on place le microtube centrifugé sur la plaque et on le fait basculer le long de cette échelle d'une façon à ce que les délimites de son contenu (plasma et hématie) soient exactement situés sur le 0 (pour les globules rouges) et sur le 100 (pour le plasma).
- -Une fois le tube et mis en place, on repère le pourcentage qui correspond à la délimite supérieure des hématies, l'espace occupé par la pâte à scellement ne doit pas être inclus dans la lecture du pourcentage.
- -On refait la même chose pour le reste des microtubes centrifugés, les résultats obtenus de chaque mois pour chaque sujet sont mentionnés dans le tableau 2



Figure 23 : Disposition des tubes capillaire à l'intérieur de la centrifugeuse



Figure 24 : Aspect des tubes capillaire après centrifugation



Figure 25 : L'échelle utilisée pour la lecture de l'hématocrite

2- Le taux des globules blanc :

Il permet une estimation relative du nombre des cellules lymphocytaires par millimètre cube de sang ; en suivant toujours la méthode manuelle, un comptage cellulaire au microscope optique a un grossissement X40.

Pour faciliter cette tâche, on fait recours à un soluté : le lazarus, ce dernier engendre l'éclatement des globules rouges et ça nous permet d'avoir que des lymphocytes bien visible au microscope.

<u>-La préparation</u>:

Un volume de 50 μ l de sang est pris de chaque tube puis ajouté à 950 μ l de lazarus, la réaction est immédiate, donc la lecture se fais directement, il faut juste avoir un mélange bien homogénéisé.

Pour la lecture, on aura besoin d'une cellule Malassez et d'une lamelle, les deux doivent êtres lavées par l'eau de robinet et bien essuyées par l'alcool avant et après chaque utilisation.

L'humidification des deux bords de la lamelle assure son adhésion sur la cellule de dénombrement

-la lecture:

A l'aide d'une micropipette, on remplit l'espace séparant la lamelle et la cellule de Malassez (celui qui contient les petits carreaux) par la solution : lazarus + sang, le liquide doit immerger complètement cette surface sans dépasser les bords pour respecter le volume précis du quadrillage (1 mm³).

Ensuite, on passe à l'observation au microscope optique, sur l'objectif 40 ; on repère le quadrillage, il existe deux lignes en haut et en bas qui délimitent ce dernier, les cellules se trouvant en dehors de ces deux ligne ne sont pas inclues dans le comptage seul les éléments qui se trouvent entre ces ligne et qui sont éparpillés sur la série des 05 rectangles quadrillés seront dénombrer.

On peut refaire le comptage cellulaire pour confirmer le premier, en passant sur un deuxième champ à droite ou à gauche du premier.

Le nombre de cellule obtenu (n) est multiplier par 200, facteur de dilution, car l'utilisation du lazarus nous a permet aussi la dilution de l'échantillon sanguin : N = n*200.

Les résultats sont exprimées en : N lymphocyte /millimètre cube, voir (tableau 2)

3- formule leucocytaire différentielle :

Ce paramètre est complémentaire à celui qui le précède, il existe 05 variétés de cellules lymphocytaires à dénombrer : les poly-nucléés (PN) neutrophiles, PN basophiles, PN éosinophiles, les monocytes et les lymphocytes.

Le dénombrement dans ce cas se fait sur un frottis sanguin et la lecture par microscope optique à un Grossissement X100.

-Réalisation du frottis sanguin :

- On commence par laver les lames en verre par l'eau de robinet, on les sèche puis on les essuie par du papier buvard imbibé de l'alcool.
- Les lames utilisées doivent être marqué en gravant pour chaque sujet la lettre qui lui correspond.
- On prend une goutte de sang par un tube capillaire et on la pose à 1 cm de l'extrémité de la lame
- On étale la goutte de sang en faisant glisser une deuxième lame, posée sur la goutte et portée sur un angle de 45° par rapport à la première.



Figure 26: Lames, Lamelles Et Tubes Capillaires

- Le frottis obtenus doit répondre aux normes : il doit être fin, se sèche rapidement à l'air, ne contient pas d'égratignures, ne dépasse pas les bords de la lame et doit avoir une partie distale sous forme arrondie.
- Dernièrement, on laisse les lames sécher quelques instants à l'air.

-Coloration des frottis:

Pour une meilleure distinction des cellules sanguines avec leur noyaux, nous devons faire recoure à une coloration différentielle complexe dite de : May – Grünwald – Giemsa (MGG) basé sur deux colorant le May – Grünwald (MG) et le Giemsa (G)

- On commence toujours par préparer une dilution du Giemsa, la quantité utilisé est selon le besoin mais en respectant les proportions suivantes :
 - → Pour un volume donné, on utilise 1/10 du colorant « G » et 9/10 d'eau distillé. Dans notre étude nous utilisions 20 CC en total composée de 2 CC de colorant et 18 CC d'eau distillé.
- On pose les lames sur un bac de coloration, elles doivent être maintenues sur un plan horizontal bien droit, ce qui permettra au colorant d'atteindre toutes les parties du frottis d'une façon équivoque.
- On doit toujours commencer notre coloration par le colorant : May –Grünwald (MG) ; la quantité utilisé n'est pas précise, à l'aide d'une seringue on fait repartir le colorant sur toute les lames et on le laisse agir pendant 5 minutes.
- A la fin des 5 minutes, il ne faut pas rincer les lames, il faut juste éliminer le surplus du colorant et puis on couvre les lames à nouveau par l'eau distillé pendant 1 minute.
- Pendant ce temps, on peut filtrer la préparation du Giemsa: en la versant à travers un morceau de coton dans un deuxième récipient. De cette façon on va retenir le maximum de débris de colorant sédimentés.
- Ensuite, on élimine l'eau distillé et on recouvre les lames par le Giemsa pendant une durée de 15 à 20 minutes.
- Après 20 minutes, on rince suffisamment les lames par de l'eau de robinet jusqu'à ce que l'eau qui coule des lames devienne transparente.
- On égoutte les lames puis, on essuie par du papier leur face inferieur pour éliminer le colorant qui y siège. Il est possible aussi de laisser les lames sécher à l'air jusqu'à la lecture.



Figure 27 : L'ensemble des lames après coloration regroupées par mois

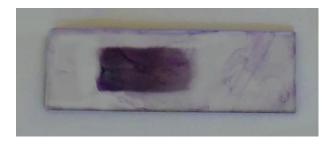


Figure 28: Frottis sanguin après coloration MGG

-La lecture :

À cette étape, nous avons besoin d'un microscope optique ajusté sur l'objectif 100 et d'une huile à immersion : qui est l'huile de cèdre, une goutte posé au milieu de la lame (sur le frottis bien sûr) quand souhaite observer.

Le dénombrement des différentes cellules lymphocytaires est basé sur l'identification morphologique de ces dernières. Les cellules sanguines du cheval sont bien particulières et bien visibles au microscope par rapport à d'autre espèces et leur différentiation se base principalement sur : la taille des cellules, l'aspect du noyau (mono-lobulé ou polylobé), l'absence ou la présence des granulations et si sont présentes quel aspect prennent-elles (voir chapitre1 : bibliographie, partie 2 : les examens sanguins, paramètres hématologiques).

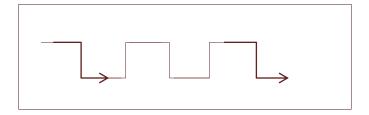
Après la mise en place de la lame sur le microscope et à l'aide du macro-vice, nous allons tromper l'objectif dans la goutte d'huile puis, par des mouvements à gauche et à droite nous allons étaler celle-ci sur la zone de lecture (au milieu du frottis).



Figure 29: Microscope Optique

On choisit un champ quelconque et on repère la première cellule, le dénombrement commencera de ce point ; en

respectant toujours le même sens : vers la droite ou vers la gauche on continue de balayer le champ de lecture par la méthode dite : lecture en méandres démontrée ci-dessous :



On passe d'un champ à un autre jusqu'à atteignent le nombre de 100 cellules, ce nombre sera composé d'une variété de cellules lymphocytaires selon les cas, on peut rencontrer les 05 variétés ensembles, parfois absence d'une ligné comme on peut trouver une variété majoritaire par rapport aux autres.

A la fin de cette lecture on obtiendra une formule différentielle des globules blanc qui renferme : les valeurs relatives en pourcentage et les valeurs absolues en N lymphocyte / mm³; la valeur absolue est obtenue par : la multiplication du nombre de cellule trouvé sur le frottis par le nombre total des globules blanc. (Voir les tableaux 4, 5, 6, 7, 8,9, 10)

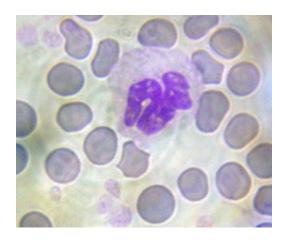


Figure 30 : Neutrophile

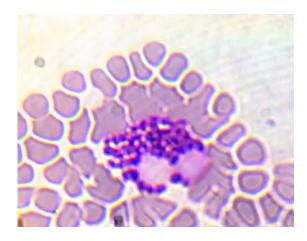


Figure 31: Eosinophile

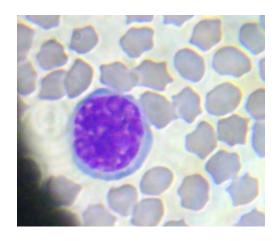


Figure 33 : Grand Lymphocyte

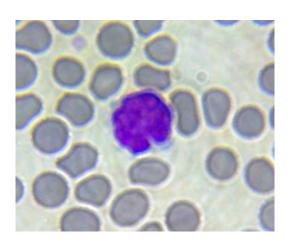


Figure 32 : Monocyte

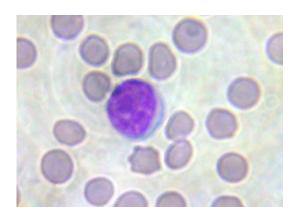


Figure 34 : Petit Lymphocyte

❖ Analyses biochimiques :

La biochimie du sang comporte un nombre important de paramètres et de composés à évaluer, et qui s'interprètent selon la fonction à exploré, sachez qu'il existe des paramètres communs entre 02 fonctions ou plus, donc ne peuvent pas être à eux seuls significatif et ils doivent être accompagné par d'autre valeur concernés par la fonction à explorer.

Dans ce travail on a essayé de grouper un nombre de paramètres (14) les plus importants et les plus sollicités chez un cheval de sport et qui englobent les principaux fonctions : hépatique, rénale et musculaire :

- 1. ASAT (Aspartate Aminotransférase)
- 2. ALAT (Alanine Amino Transférase)
- 3. PAL (Phosphatase Alcaline)
- 4. δGT (Le Gamma Glutamyl Transférase)
- 5. Protéines total
- 6. Albumine
- 7. Glucose

- 8. Triglycérides
- 9. Cholestérol
- 10. Créatinine
- 11. Urée
- 12. Phosphore
- 13. Magnésium
- 14. Calcium

1-Preparation:

- -Pour l'ensemble des paramètres, le matériel utilisé et sa préparation sont les mêmes, le dosage est basé sur la spectrophotométrie. Cette méthode nécessite :
- Un spectrophotomètre
- Des Cuves en plastique (1 cm de largeur)
- -Four pasteur

- -Réactifs pour chaque paramètre
- -Micropipettes + embouts adéquats
- -Chronomètre



Figure 35 : Cuve en plastique



Figure 36: Chronomètre



Figure 38: Four Pasteur



Figure 37: Spectrophotomètre (Type Novaspec II)



Figure 39 : Réactifs Pour Chaque Paramètre



Figure 40 : Micropipettes

- -L'échantillon, qui est le plasma congelé au paravent, doit avoir une température ambiante et redevenir liquide, donc sa décongélation est le premier geste à faire avant de commencer le travail ; ainsi les réactifs nécessaires et qui sont généralement conservés au froid, on doit les ressortir du frigo au moins 10 à 15 minutes avant de commencer.
- -Chaque composé ou molécule est neutralisé par un réactif selon des concertations précises données par le fabricant du réactif ; pour obtenir des résultats exacts, il est indispensable de respecter les

proportions et les volumes lors de la préparation de notre échantillon. Ces informations sont mentionnées sur une fiche technique qui accompagne le réactif. Cette fiche comporte :

-La méthode de préparation du réactif, la méthode de préparation de l'échantillon : quantité et proportion, délais et mode d'incubation (à température ambiante ou par four pasteur), la longueur d'onde spécifique absorbé par le paramètre et la concentration du réactif qui sera inclue dans les calculs par la suite.

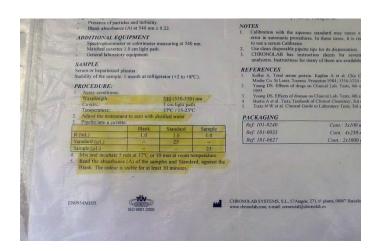


Figure 41 : Fiche Technique Demontrant Les Procédure De Préparation

-On débute le travail par le remplissage des cuves à l'aide des micropipettes réglées sur le volume précis, en suivant toujours les instructions de la fiche. On commence au premier lieu par le réactif, pour certains paramètres il existe un seul produit désigné par : le R1, et pour d'autre on trouve deux : le R1 et le R2 ; chaque fois quand change de produit, il faut changer de lambeaux pour ne pas mélanger les produit

-Les cuves utilisées sont au nombre des échantillons qu'on possède, plus 02 cuves supplémentaires, l'une contiendra seulement le réactif est qu'on appelle : le blanc, l'autre va contenir le réactif + le standard, appelé : standard ; ce dernier accompagne le réactif et représente le composé qu'on souhaite analyser.

-Le temps en analyse biochimique a la plus grande importance du moment où le plasma est mélangé au réactif avec ou sans incubation, les interactions entre les 02 solutés commencent déjà donc on doit garder l'œil sur le chronomètre pendant tout le travail est surtout lors de la lecture.



Figure 42 : Reactifs Du Calcium : R1 , R2 Et Le Standard

2- lecture

En général, la lecture se fait de la même façon pour l'ensemble des paramètres avec quelques modifications concernant la longueur d'onde, le temps de lecture ou le calcul. Dans ce paragraphe on va parler des procédures d'une manière générale, par la suite on va détailler la méthode pour chaque paramètre.

-La première des choses à faire est d'ajuster le spectrophotomètre sur la longueur d'onde correspondante au paramètre à analyser, ensuite on passe à la lecture et qui diffère d'un paramètre à l'autre mais le plus important c'est de commencer toujours par le blanc suivie du standard puis la mesure des échantillons.

Il est très important aussi de respecter la bonne orientation des cuves à l'intérieur du spectrophotomètre d'une manière à ce que la zone transparente de la cuve soit en parallèle avec la source du rayon lumineux. Ainsi, il faut remettre le couvercle après l'introduction de l'échantillon pour éviter tout autre rayon ou matériaux parasites pouvant fausser la lecture.

Un autre point important aussi, qui est le calibrage ou l'étalonnage du spectrophotomètre, avant toute mesure le spectrophotomètre doit être ajusté sur une valeur de référence : le zéro qui signifie une absorbance nulle et qui sera la base de ses mesures par la suite, dans l'analyse biochimique la solution utiliser pour le calibrage est le blanc : on introduit la cuve contenant le blanc et on appuie sur la touche zéro, le spectrophotomètre va afficher la valeur zéro, par la suite on continue la lecture.

a) Cas des enzymes: ALAT, ASAT, PAL

-On passe le blanc au premier lieu, une valeur 0 s'affiche, on fait passer deuxièmement le standard c'est lui qui va servir de référence donc on appuie sur le zéro; pendant ce temps on prépare le premier échantillon et on l'incube au four pasteur pendent une minute et après rapidement on le met à l'intérieur de la chambre de lecture et on referme le couvercle, la lecture commence dès lors

-03 temps et 03 valeurs à prendre : à T_1 = 60 secondes ; T_2 = 120 secondes ; T_3 = 180 secondes. En total trois minutes et trois lectures.

On suit la même procédure pour le reste des échantillons sans oublier d'appuyer sur le zéro avant de mettre la cuve suivante.

- Le calcul :
$$\frac{(AbsET2 - AbsET1) - (AbsET3 - AbsET2)}{2} \times [c]$$

AbsE = absorbance de l'échantillon à t1, t2 et t3

[C]= concentration du réactif, pour l'ALAT et ASAT = 17500 ; pour PAL = 3300

b) Cas de l'enzyme: GGT

- c'est toujours la même procédure, le blanc prend la valeur zéro, le standard sert de calibrage ; mais une quatrième valeur vient s'ajouter au calcul : T_0

Au moment où on introduit l'échantillon à l'intérieur du spectrophotomètre, une première valeur s'affiche : elle correspond à T_0 on doit la mentionner en plus des absorbances à T_1 ; T_2 et T_3

- Le Calcul :
$$\frac{(AbsET1 - AbsET0) - (AbsET2 - AbsET1) - (AbsET3 - AbsET2)}{3} \times [c]$$

AbsE = à t0, t1, t2 et t3

[C]= concentration = 1111

c) Cas de la Créatinine:

Les valeurs du blanc et du standard sont prise en considération toute comme celle des échantillons et le tout est inclus dans le calcul.

La lecture est en deux temps : à 30 secondes et à 90 secondes, on doit préparer chaque échantillon séparément : on prépare le premier, on passe à la mesure des qu'on finit on prépare le deuxième, et puis le troisième.... Etc. à la fin on aura la formule suivante :

- → Absorbance du blanc à : 30 secondes et 90 secondes (AbsB)
- → Absorbance du standard à: 30 secondes et 90 secondes (AbsS)
- → Absorbance de l'échantillon à: 30 secondes et 90 secondes (AbsE)

- Le calcul :
$$\frac{(AbsE90 - AbsE30) - (AbsB90 - AbsB30)}{(AbsS90 - AbsS30) - (AbsB90 - AbsB30)} \times [c]$$

[C]= concentration = 20

d) Cas des autres des paramètres :

Dans ce cas les mélanges nécessitent une incubation soit au four pasteur, 37°C pendant 5 minutes ou à température ambiante pendant 10 minutes, nous dans cette étude et vue du nombre des échantillons, le temps de préparation des cuves était d'environ 10 minutes donc, la température du laboratoire était suffisante pour l'incubation.

- Apres la préparation, on passe directement à la lecture : le blanc pour le calibrage, le standard affiche une valeur, celle-ci sera la base du calcul ; on les passe les échantillons l'un après l'autres dans le spectrophotomètre, la première valeur qui s'affiche pour chaque cuve sera mentionnée. A la fin nous aurons :
 - → L'absorbance de l'échantillon : une seule valeur pour chacun.
 - → L'absorbance du standard : constante.

- Le calcul : $\frac{AbsE}{AbsS} \times [c]$

- Les concentrations :

 \rightarrow Protéine = 70

 \rightarrow Albumine = 50

 \rightarrow Glucose = 1

→ Cholestérols, Triglycérides = 20

 \rightarrow Urée = 50

→ Créatinine = 20

 \rightarrow Phosphore = 50

→ Magnésium = 20

 \rightarrow Calcium = 10

Tableau 3: Longueurs D'ondes Spécifique De Chaque Paramètre

paramètres	Longueur d'onde	paramètres	Longueur d'onde
ASAT	340 nm	CHOLESTEROL	505 nm
ALAT	340 nm	TRIGLYCERIDE	505 nm
PAL	405 nm	CREATININE	492 nm
GGT	405 nm	UREE	580 nm
PROTEINE	540 nm	MAGNESIUM	340 nm
ALBUMINE	630 nm	PHOSPHORE	520 nm
GLUCOSE	505 nm	CALCIUM	570 nm

⁻les résultats des analyses biochimiques de chaque mois sont mentionnés dans les tableaux : 11, 12, 13, 14, 15, 16

<u>Tableau 4</u> : Valeurs Mensuelle De L'hématocrite Et Du Taux Total Des Globules Blanc

	Novembre 2014		Janvier 2015		Février 2	015	Mars 2015		Avril 2015		Mai 2015	
sujet	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm ³⁾	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm ³⁾	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm ³⁾	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm³)	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm³)	Hématocrite (%)	Globule blanc (/mm³)
Α	30	4800	34	6000	31	6400	36	7400	33	9800	31	7400
В			21	8600	27	8600	39	7200	31	7600	32	7600
С	30	5600	30	6800	27	6000	34	10000	39	4000	31	7600
D	38	5400	27	4800	20	11200	43	4800	39	3400	36	5600
E	31	7800	34	8200	30	8200						
F	29	8600	36	6400	36	10200	33	5400				
G	28	5000	30	7000	39	11400	43	5000	28	3800	39	7200
н			37	8000	38	12200	40	6200	41	5600	37	8200
1	36	6400	32	8200	30	8200	28	4000	37	4200	38	6400
J	36	6400	34	6400			31	5400	32	4600	40	7400

<u>Tableau 5</u>: Formule Différentielle Leucocytaire Mois, De Novembre

	quiet	Neutrophile		Lymp	hocyte	Mon	Monocyte		Eosinophile		ophile
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	63	3024	32	1536	02	96	02	96	01	48
<u>N</u>	В										
Novembre	С	60	3360	30	1680	05	280	05	280	00	00
mb	D	56	3024	33	1782	06	324	04	216	01	54
	E	58	4524	36	2808	02	156	04	312	00	00
201	F	54	4644	39	3354	0	344	03	258	00	00
14	G	48	2400	46	2300	04	200	01	50	01	50
	Н										
	ı	60	3840	34	2176	04	256	02	128	00	00
	j	53	3392	40	2560	05	320	02	128	00	00

<u>Tableau 6</u> : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Janvier

	aia.k	Neutrophile		Lymp	hocyte	Monocyte		Eosinophile		Basophile	
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	46	2760	33	1980	04	240	08	480	09	540
JA	В	43	3698	42	3612	06	516	06	516	03	258
Ž	С	44	2992	29	1972	12	816	04	272	11	748
NVIER	D	46	2208	35	1680	07	336	02	96	10	480
	E	50	4100	31	2542	10	820	05	410	04	328
2015	F	72	4608	09	576	09	576	07	448	03	192
ы	G	65	4550	27	1890	03	210	03	210	02	140
	Н	61	4880	12	960	0	00	20	1600	07	560
	- 1	65	5330	30	2460	0	00	01	82	04	328
	j	38	2052	34	1836	11	594	14	756	03	162

<u>Tableau 7</u>: Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Février

	quiet	Neutrophile		Lymp	Lymphocyte		Monocyte		nophile	Basophile	
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	53	3392	21	1344	11	704	08	512	07	448
П	В	41	3526	41	3526	05	430	04	344	09	744
<u>E</u>	С	51	3060	38	2880	06	360	01	60	04	240
VRIER	D	45	5040	34	3808	16	1792	03	336	02	224
	E	56	4592	31	2542	05	410	04	328	03	246
201	F	50	5100	28	2856	09	918	06	612	07	714
5	G	56	6383	26	2964	06	684	04	456	08	912
	Н	40	4880	43	5246	03	366	09	1098	05	610
	I	45	3690	42	3444	0	00	19	1558	07	574
	j										

<u>Tableau 8</u> : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Mars

	cuict	Neutrophile		Lymphocyte		Monocyte		Eosinophile		Basophile	
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	43	3181	29	2146	02	148	19	1406	07	518
	В	43	3096	43	3096	09	648	01	72	04	288
MARS	С	44	4400	42	4200	06	600	02	200	06	600
RS	D	51	2448	36	1728	08	384	0	00	05	240
2015	E										
15	F	65	3510	20	1080	07	350	03	162	05	270
	G	49	2450	30	1500	06	300	07	350	08	400
	Н	65	4030	17	1054	05	310	04	248	09	558
	ı	51	2040	31	1240	0	00	07	280	09	360
	j	55	2970	34	1836	05	270	0	00	06	324

<u>Tableau 9</u> : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois d'Avril

		Neuti	rophile	Lymp	hocyte	Mor	nocyte	Eosin	ophile	Base	ophile
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	72	7056	18	1764	0	00	05	490	05	490
	В	68	5168	28	2128	0	00	02	152	02	152
٨	С	60	2400	29	1160	03	120	05	200	03	120
VRIL	D	63	2142	27	918	04	136	03	102	03	102
2015	E										
15	F										
	G	74	2812	15	570	01	38	05	190	05	190
	Н	70	3920	27	1512	01	56	01	56	01	156
	ı	64	2688	20	840	06	252	03	126	07	294
	j	59	2714	41	1886	0	00	0	00	0	00

<u>Tableau 10</u> : Formule Différentielle Leucocytaire, Mois De Mai

	sujet A B C D E F G H	Neut	rophile	Lymp	hocyte	Mor	nocyte	Eosir	ophile	Base	ophile
	sujet	%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
	Α	59	4366	35	2590	03	222	03	222	0	00
	В	59	4484	31	2356	06	456	04	304	0	00
MAI		51	3876	31	2356	09	684	07	532	02	152
	D	66	3696	17	952	12	672	02	112	03	168
2015	E										
5	F										
	G	55	3960	21	1512	15	1080	06	432	03	216
	Н	68	5576	23	1886	06	492	03	246	0	00
	ı	48	3072	37	2368	07	448	04	256	05	320
	j	45	3330	22	1628	24	1776	06	444	03	222

<u>Tableau 11</u>: Paramètres Biochimiques, Novembre 2014

sujet	ASAT	ALAT	PAL	δ G T	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
Α	28.88	0	133.6 5	11.31	70.66	33.52	3.89	0.51	0.20	16.81	0.52	22.23	23.98	116.21
В														
С	36.75	1.75	100. 65	8.93	56.53	33.27	3.96	0.36	0.38	10.76	0.51	23.65	16.77	130.79
D	89.25	4.38	85.8	16.6 6	56.69	32.05	4.14	0.66	0.33	18.65	0.47	20	25.55	126.42
E	48.13	0.88	85.8	4.76	73.78	30.22	3.3	0.48	0.16	21.34	0.41	20.41	31.97	120.26
F	40.25	2.36	110. 55	10.2	71.97	29.79	4.39	0.56	0.34	0.50	0.46	16.75	30.88	10681
G	47.25	5.25	113. 85	10.7 1	77.56	31.20	3.56	0.47	0.12	14.28	0.44	23.96	31.82	109.24
н														
1	30.63	4.38	212. 85	11.9	70.82	31.32	5.0	0.89	0.31	1.68	0.25	22.23	19.12	130.63
J	67.38	4.38	100. 65	11.9	57.68	29.91	4.28	0.59	0.34	15.63	0.30	21.52	32.60	129.17

<u>Tableau 12</u>: Paramètres biochimiques, Janvier 2015

sujet	ASAT	ALAT	PAL	δGT	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
А	83.12	6.12	161. 7	27.0 3	75.86	41.95	2.29	0.46	1.31	24.21	0.80	27.91	85.37	161.87
В	132.12	3.5	303. 6	62.2 1	107.81	47.48	2.81	0.61	0.76	30.52	0.86	37.5	84.25	172.16
С	219.62	5.25	202. 95	11.8 5	113.9	49.69	3.58	0.82	0.74	34.21	0.98	40.55	108.70	172.01
D	131.25	6.12	371. 25	20.7 3	131.74	60.26	4.88	0.98			0.86	38.88	101.29	179.42
Е	76.12	22.7 5	311. 85	9.62	61.02	27.41	1.74	1.08	0.54	26.31	0.48	15.13	80.92	127.08
F	186.37	16.6 2	377. 85	55.5 5	135.57	22.53	1.73	0.62	0.61	16.31	0.77	44.16	90.74	107.86
G	75.25	4.37	498. 3	58.8 8	126.23	47.73	2.92	0.46	0.83	41.57	1.05	31.25	115.55	160.51
н	103.25	0	268. 95	23.3 3	89.02	42.75	3.19	0.37	0.48	28.42	0.90	23.19	106.11	161.72
1	102.37	14	310. 2	15.5 5	112.35	53.87	4.36	0.77	1.07	31.57	1.03	32.63	123.33	166.11
J	147	18.3 7	392. 7		141.79		4.67	0.49						

<u>Tableau 13</u>: Paramètres biochimiques, Février 2015

suj et	ASAT	ALAT	PAL	δGT	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
А	49	0.87	171. 6	10.7 3	51.69	24.14	1.81	0.40	0.53	14.73	0.64	12.91	93.33	152.79
В	74.37	1.75	173. 25	11.8 5	60.30	36.61	2.39	0.56	0.89	17.36	0.71	16.80	106.11	158.69
С	105.8 7	0	127. 05	10.3 6	57.07	290.2	2.24	0.15	0.76	16.31	0.53	20	103.33	153.10
D	52.5	7	217. 8	11.8 5	87.23	44.36	2.16	0.61	1.06	18.42	0.56	49.30	103.33	162.02
Ε	117.2 5	0.87	102. 13	12.2 2	52.52	29.87	2.30	0.47	0.58	11.57	0.52	21.11	84.25	154
F	56	18.3 7	151. 8	11.1 1	70.47	34.15	2.59	0.26	0.61	24.21	0.59	23.88	88.88	148.86
G	217.8 7	9.62	306. 9	10.3 6	55.88	47.38	2.44	0.86	0.73	19.47	0.48	15.55	93.70	129.19
н	85.75	0	168. 3	13.3 3	78.49	31.18	2.09	0.46	0.80	15.26	0.59	9.44	93.51	162.32
1	78.75	1.75	209. 55	14.4 4	71.67	25.25	2.005	0.35	0.90	11.57	0.43	5.27	89.81	153.40
J	83.12	2.62	318. 55	13.3 2	119.53	44.56	3.52	0.39	0.89	26.84	0.72	17.63	78.14	175.18

<u>Tableau 14</u>: Paramètres biochimiques, Mars 2015

sujet	ASAT	ALAT	PAL	δGT	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
А	70	0.87	199.65	14.0 7	57.67	25.75	1.86	0.08	0.67	14.21	0.46	38	78.33	114.22
В	59.5	2.62	133.65	16.6 6	43.43	29.12	2.21	0.08	1.16	15.26	0.44	31.85	97.77	116.79
С	71.75	3.5	56.1	17.4 0	55.16	34.40	2.28	0.30	0.76	16.31	0.39	13.42	72.22	103.32
D	43.75	0.87	108.9	12.2 2	65.21	39.23	1.43	0.16	1.13	16.31	0.44	17.42	94.81	140.24
Ε														
F	52.5	1.75	110.55	13.3 3	58.15	19.06	1.94	0.26	0.62	21.05	0.26	20.14	90.37	119.96
G	112	2.62	343.2	12.2 2	60.66	17.25	1.43	0.25	1.09	14.75	0.30	9.42	56.29	117.39
Н	85.75	2.62	155.1	12.5 9	61.50	27.01	1.81	0.52	0.88	23.68	0.32	10.85	41.48	124.05
-1	147	5.25	85.80	16.2 9	66.41	24.84	1.64	0.10	0.69	11.57	0.29	6.71	32.03	107.71
J	59.5	4.37	194.70	15.9 2	60.90	27.31	1.76	0.12	0.59	14.73	0.36	11.42	39.07	124.05

<u>Tableau 15</u>: Paramètres biochimiques, Avril 2015

suje	t ASAT	ALAT	PAL	δ GT	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
Α	21.87	2.62	244.2	15.55	67.60	38.27	1.77	0.17	0.72	16.84	0.51	12.28	27.40	137.06
В	69.12	2.62	112.2	10.73	56	60.59	1.93	0.45	0.40	16.84	0.51	17.85	10.74	158.69
С	64.74	4.37	105.6	10.36	84.95	27.41	1.92	0.27	0.63	18.94	0.50	13.42	28.33	127.68
D	44.62	0.87	112.2	11.48	47.50	43.51	1.30	0.36	0.42	20	0.51	11.14	31.66	130.40
E F														
G	70.87	2.62	165	10.73	60.42	30.63	1.37	0.50	0.48	18.42	0.47	14.57	47.03	120.57
Н	107.62	5.25	156.75	12.59	59.82	34.90	1.83	0.30	0.95	19.47	0.77	19	33.51	149.16
1	63	1.75	82.5	11.11	58.51	37.02	1.60	0.11	0.88	15.26	0.41	22.42	43.51	113.31
J	69.12	4.37	156.75	10.73	56	29.12	1.94	0.17	0.60	13.68	0.47	21.57	45.55	142.36

<u>Tableau 16</u>: Paramètres biochimiques, Mai 2015

sujet	ASAT	ALAT	PAL	δGT	PROTEINE	ALBUMINE	GLUCOSE	CHOLESTEROL	TRIGLYCERIDE	CREATININE	UREE	MAGNESIUM	PHOSPHORE	CALCIUM
Α	84.87	1.75	260.70	115.54	52.07	29.12	0.97	0.43	0.70	19.40	0.25	29.96	58.76	84.94
В	103.25	0.87	211.20	36.29	52.17	22.98	0.76	0.47	0.66	18.20	0.35	41.02	64.14	104.49
С	97.12	2.62	204.60	13.33	60.78	31.23	1.07	0.57	0.77	18.20	0.30	50.16	45.61	91.78
D	73.50	1.75	216.15	15.92	46.96	33.19	1.00	0.57	1.14	18.80	0.20	47.65	46.21	97.94
E F														
G	117.25	4.37	308.55	12.59	57.08	29.48	0.86	0.56	0.72	23.20	0.29	50.35	56.17	85.23
Н	125.12	4.37	234.30	29.62	53.87	35.15	1.03	0.58	0.76	21.60	0.35	49	32.66	106.74
1	125.12	4.37	166.65	11.85	53.37	31.59	1.10	0.56	0.78	17.60	0.25	58.47	49.20	105.57
J	131.25	2.62	229.35	10.36	54.37	28.81	1.30	0.73	1.03	20	0.24	52.29	53.38	97.16

3) Résultats:

- Les résultats mentionnés dans les tableaux : 18, 19, 20 et 21 sont des résultats mensuels obtenus à partir des valeurs individuelles de chaque sujet dans un mois donné.
- La moyenne et l'ecartype sont calculés à l'aide du logiciel Microsoft Excel.
- les unités de mesure de chaque paramètre sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

<u>Tableau 17</u>: Unités De Mesure

Paramètres	Unité De Mesure
Hématocrite	Pourcentage %
Taux total des globules blanc	Lymphocytes/mm ³
Formule leucocytaire différentielle	Lymphocytes/mm ³
ASAT	U/I
ALAT	U/I
PAL	U/I
GGT	U/I
Protéines total	g/I
Albumine	g/I
glucose	g/I
Cholestérol	g/I
Triglycérides	g/I
Créatinine	mg/l
Urée	g/l
Magnésium	mg/l
Phosphore	mg/l
calcium	mg/l

<u>Tableau 18</u>: Hématocrite et Taux Total des Globules blanc, Valeurs mensuelle moyenne et ecartype

	Novembre 2014		Janvi	er 2015	Févri	er 2015	Mar	s 2015	Avri	l 2015	Mai	2015
	HT%	GB	HT%	GB	HT%	GB	HT%	GB	HT%	GB	HT%	GB
moyenne	32,25	6250	30,5	6940	30,88	9155,55	36,33	6155,55	35	5375	35,5	7175
ecartype	3,80	1351,18	4,52	1299,74	6,05	2215,35	5,29	1815,97	4,62	2230,79	3,66	810,20

<u>Tableau 19</u>: Formule Leucocytaire Différentielle, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype

		Neutr	ophile	Lymp	hocyte	Mon	ocyte	Eosin	ophile	Baso	phile
		%	/mm³	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3	%	/mm3
NOVE	MOYENNE	56,5	3526	36,25	2274,5	4	247	2,875	183,5	0,375	19
NOVEMBRE	ECARTYPE	1213,61	1263,69	769,52	813,84	113,59	119,45	90,97	100,30	20,36	26,27
JANVIER	MOYENNE	53	3717,8	28,2	1950,8	6,2	410,8	7	487	5,6	373,6
/IER	ECARTYPE	1245,43	1293,24	706,50	739,93	308,67	322,55	319,67	341,89	234,07	201,04
FEVRIER	MOYENNE	66,25	3612,5	25,625	1347,25	1,875	75,25	3	164,5	3,25	188
ler	ECARTYPE	5,57	1703,23	8,10	558,23	2,23	89,18	1,92	147,47	2,31	147,41
MARS	MOYENNE	51,77	3125	31,33	1986,66	5,33	334,44	4,77	302	6,55	395,33
RS	ECARTYPE	1096,46	1138,64	739,94	778,73	258,49	271,00	279,24	302,07	219,80	132,81
AVRIL	MOYENNE	66,25	3612,5	25,625	1347,25	1,875	75,25	3	164,5	3,25	188
_ F	ECARTYPE	5,57	1703,23	8,10	558,23	2,23	89,18	1,92	147,47	2,31	147,41
<u> </u>	MOYENNE	56,37	4045	27,125	1956	10,25	728,75	4,375	318,5	2	134,75
MAI	ECARTYPE	1296,06	1346,30	688,19	720,87	333,34	353,64	158,05	167,34	107,98	122,12

<u>Tableau 20</u>: Biochimie Du Sang, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype

Paramètres	NOVE	MBRE	JAN'	VIER	FEV	RIER
Parametres	MOYENNE	ECARTYPE	MOYENNE	ECARTYPE	MOYENNE	ECARTYPE
ASAT	48.56	20.45	125.64	48.18	92.04	49.42
ALAT	2.92	1.93	9.71	7.58	4.28	5.86
PAL	117.97	41.38	319.9	97.09	194.69	70.99
GGT	10.79	3.32	31.63	21.19	11.95	1.38
PROTEINE TOTAL	66.96	8.56	109.52	26.72	70.48	20.88
ALBUMINE	31.41	1.44	43.74	12.04	34.65	8.32
GLUCOSE	4.06	0.52	3.21	1.14	2.35	0.46
CHOLESTEROL	0.56	0.15	0.66	0.23	0.45	0.19
TRIGLYCERIDE	0.27	0.09	0.79	0.27	0.77	0.16
CREATININE	12.45	7.66	29.14	7.42	17.57	4.95
UREE	0.42	0.09	0.85	0.17	0.5	0.09
MAGNESIUM	21.34	2.31	32.35	9.20	19.18	11.93
PHOSPHORE	26.58	6.22	99.58	15.04	93.43	8.87
CALCIUM	121.19	9.61	156.52	23.47	154.95	11.73

<u>Tableau 21</u>: Biochimie Du Sang, Valeurs Mensuelle Moyenne Et Ecartype

Paramètres	MARS		AVRIL		MAI	
	MOYENNE	ECARTYPE	MOYENNE	ECARTYPE	MOYENNE	ECARTYPE
ASAT	77.97	32.76	63.87	24.36	107.18	20.95
ALAT	2.71	1.48	3.05	1.47	2.84	1.38
PAL	154.18	85.22	114.42	46.82	228.93	41.96
GGT	14.52	2.05	11.66	1.71	30.68	35.55
PROTEINE TOTAL	58.78	6.75	61.35	11.06	53.83	4.00
ALBUMINE	27.10	6.82	37.68	10.66	30.19	3.62
GLUCOSE	1.81	0.29	1.75	0.21	1.01	0.16
CHOLESTEROL	0.20	0.14	0.29	0.13	0.55	0.08
TRIGLYCERIDE	0.84	0.22	0.63	0.2	0.82	0.17
CREATININE	16.43	3.70	17.43	2.18	19.62	1.91
UREE	0.36	0.07	0.51	0.10	0.28	0.05
MAGNESIUM	17.69	10.67	16.53	4.28	48.23	9.42
PHOSPHORE	66.93	25.47	33.46	12.03	50.76	9.68
CALCIUM	118.63	10.63	134.90	14.99	96.73	8.75

III. <u>Discussion</u>:

Les résultats obtenus à la fin de notre étude ne prennent pas en considération les facteurs : âge ou sexe du faite de l'homogénéité du lot choisi : tous adultes et tous des mâles, donc ce ne sont que des valeurs moyennes d'une période de six mois et qui englobe relativement deux saisons : l'hiver et le printemps.

Nos résultats seront comparés avec d'autres valeurs de référence et qui concernent les chevaux de PRZEWALSKI (EQUUS PRZEWALSKI) maintenus en captivité dans le « Prague Zoo » (Determination of haematological and biochemical parameters of Przewalski horses J. Tomenendalova and all) ; ainsi avec les valeurs publiées par le site des Haras Nationaux : signes de bonne santé et constantes biologiques (par F.Clément and all. 2011) ; et les valeurs hématologiques données par SCHALM'S VETERINARY HEMATOLOGY (Normal Hematology of the Horse and Donkey par TANYA M. GRONDIN and all) .

A. <u>Hématologie</u>:

En ce qui concerne l'hématologie et en revenant aux tableaux : 18 et 19 on observe majoritairement une légère différence entre les trois premier mois de l'expérience et les derniers trois mois : on remarque une légère augmentation dans les valeurs moyennes ; comme par exemples les valeurs de l'hématocrite qui augmente dans les mois de Mars, Avril et Mai (< 3 à 4) ainsi que le taux des globules blanc (< environ $5x10^3$). Les éléments de la formule leucocytaire différentielle sont touchés par une élévation peu significative.

En comparant nos valeurs avec celle du PRZEWALSKI horse, les taux des globules blanc total et différentiels sont plus élevées pour nos chevaux, sauf pour le nombre des lymphocytes ($>10^3$) et l'hématocrite (>10) qui sont inferieur a ceux du PRZEWALSKI horse.

Les valeurs données par les haras nationaux semblent englober nos résultats, pas de différence ou de déviation significative (dans les normes) ; on remarque aussi que les valeurs obtenues chez le barbe se rapprochent beaucoup plus des valeurs hématologiques chez les chevaux à sang froid et chez l'âne. (Voir tableau 23).

B. Biochimie:

D'une façon générale, les valeurs biochimiques obtenues dans la première saison sont supérieurs à celle obtenues dans la deuxième, donc on est face à une diminution variable d'un paramètre à l'autre, les plus concernés par cette diminution sont : l'ASAT, ALAT, PAL, protéine total, albumine, glucose, triglycérides, créatinine, urée, phosphore et calcium (voir tableau 22) ; pour la GGT et le cholestérol, on a un augmentation très peu significative d'ordre de « + 0.1 à 0.2 ». Contrairement aux paramètres précédents, les valeurs du magnésium augmentent considérablement (< 3).

Si on compare les valeurs moyennes qu'on a calculé pour le barbe avec celle du PRZEWALSKI horse, on trouve ainsi une variabilité entre les paramètres, nos résultats concernant : ASAT, ALAT, PAL, cholestérol et l'urée sont deux ou trois fois plus faibles que celles du PRZEWALSKI horse (voir tableau 24) ; en ce qui est du cas du magnésium, phosphore, calcium c'est le contraire, nos valeurs sont beaucoup plus élevées. Pour le reste des paramètres (GGT, protéine, albumine et glucose et créatinine) nos valeurs sont peu élevées par rapport à celle du PRZEWALSKI horse (< 1 à 5).

Selon le site des haras nationaux, globalement les valeurs moyennes calculées pour le barbe se rapprochent des valeurs données par ce site, en revanche on remarque que les valeurs minimales et maximales forment un intervalle plus large que celui donné par les haras nationaux (paramètres concernés : ASAT, PAL, Protéine Total, Albumine, Créatinine) ; pour l'urée les valeurs sont très faible : 0.48 g/l comparé à 2-4 g/l (voir tableau 24).

Remarque:

Source: www.chups.jussieu.fr/plys/biochimie/usualval.html et www.diabsurf.com/sim/simlmp/ltypcvr.php

-Les valeurs du PRZEWALSKI horse concernant les enzymes, sont exprimées en micro katal (μkat/l) donc, pour rendre la comparaison plus facile on fait recourt à une conversion d'unités selon la méthode suivante :

```
\rightarrow 1 katal = 60.10^6 UI
```

- \rightarrow 1 µkat = 60 UI
- Pour la conversion du gramme en mmol, on multiplie les valeurs en g/l par le facteur : 5.5
 - \rightarrow Mmol = mg/ dl X 0.055
 - \rightarrow Mmol = g/I X 5.5
- La conversion du mmol en milligramme : multiplication par 18.0182
 - → Mg/dl = mmol X 180.182
 - \rightarrow Mg/I = mmol X 18.0182
 - \rightarrow g/l = mmol X 1.80182

<u>Tableau 22</u> : valeurs moyennes calculées pour les trois premiers mois de l'expérience et pour les trois derniers

Paramètres	Hiver	Printemps
ASAT	88.74	83.00
ALAT	5.63	2.86
PAL	210.85	165.84
GGT	18.79	18.92
PROTEINE TOTAL	82.65	58.32
ALBUMINE	36.6	31.65
GLUCODE	3.20	1.52
TRIGLYCERIDE	0.55	0.34
CHOLESTEROL	0.61	0.76
CREATININE	19.72	18.16
UREE	0.59	0.38
MAGNESIUM	24.29	27.81
PHOSPHORE	73.53	51.05
CALCIUM	144.11	117.42

<u>Tableau 23</u>: Valeurs Hématologiques Chez Le Barbe, EQUUS PRZEWALSKI, D'un Cheval En Bonne Santé, Chez Les Chevaux A Sang Chaud Et A Sang Froid Et Chez L'âne

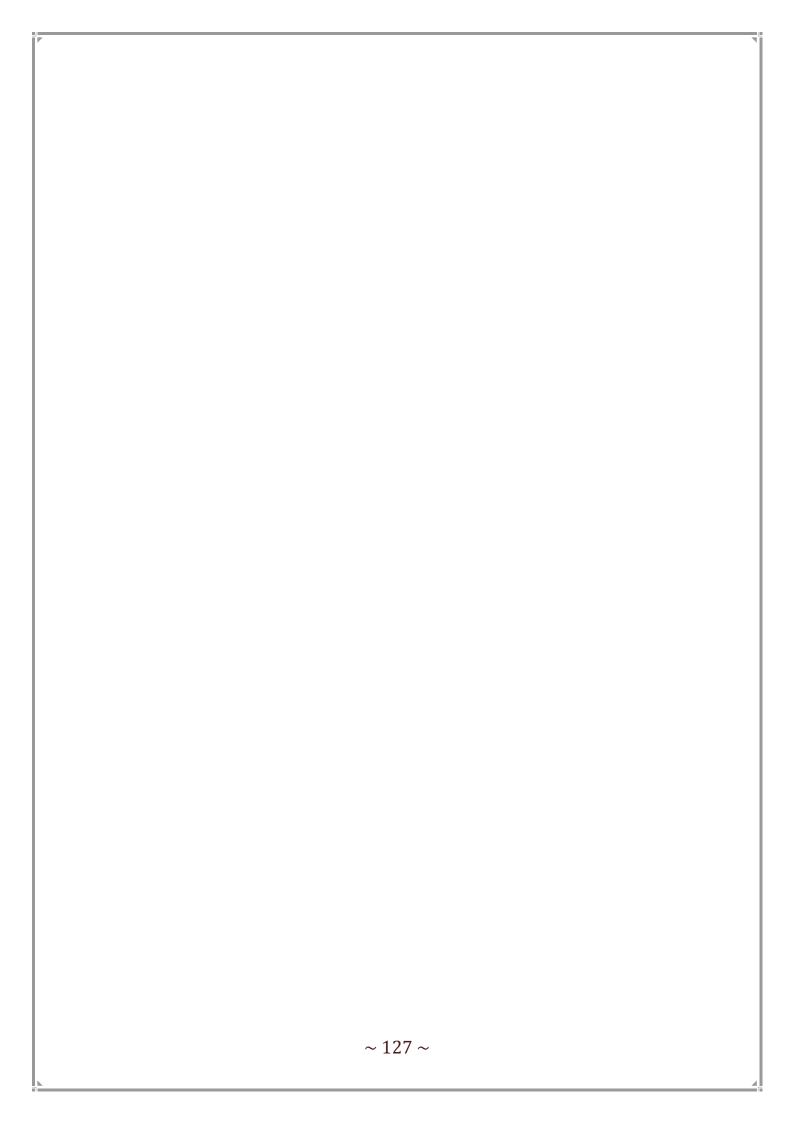
	MIN- MAX	ECARTYPE	MOYENNE	PRZEWALSKI HORSES (EQUUS PRZEWALSKI)	HARAS- NATIONN AUX	Hot Blood	Cold Blood	Donkey	N
HT%	30.5-35.5	2.51	33.41	42	32 à 52	32-53	24-44	28-47	52/53
Globules blanc (/	5375-	1299.61	6841	6150	5000 à	5400-	6000-	5400-15500	52/53
μL)	9155				9000	14300	1200		
Neutrophiles	3125-	297.61	3606	2850	45 à 70 %	2260-	/	2200-10100	52/53
	4045					8580			
Lymphocytes	1950-	371.88	1805	2860	25 à 50 %	1500-	/	1100-7400	52/53
	2274					7700			
Monocytes	75-728	244.82	311	280	1 à 7 %	0-1000	/	70-1200	52/53
Eosinophiles	164-487	126.85	269	0	0 à 4 %	0-100	/	0-1719	52/53
Basophiles	19-395	144.04	216	/	0 à 2 %	0-290	/	0-190	52/53

<u>Tableau 24</u>: Valeurs Biochimique Chez Le Barbe, EQUUS PRZEWALSKI Et D'un Cheval En Bonne Santé

	MIN-MAX	ECARTYPE	MOYENNE	PRZEWALSKI HORSES (EQUUS PRZEWALSKI)	HARAS- NATIONNAUX	N
ASAT (U/I)	48.56-125.64	28.32	85.87	5.76 (μkat/l) = 345.6 (U/l)	90 à 340 U/I	53/53
ALAT (U/I)	2.71-9.71	2.73	4.25	0.2 (μkat/l) = 12 (U/l)	/	53/53
PAL (U/I)	114.42-319.9	78.20	188.34	3.37 (μkat/l) = 202.2 (U/l)	175 à 300 U/I	53/53
GGT (U/I)	10.79-31.63	9.85	18.53	0.26 (μkat/l) = 15.6 (U/l)	2 à 30 U/I	52/53
PROTEINE TOTAL (g/l)	53.83-109.52	20.16	70.15	65.5 (g/l)	60 à 70 g/l	53/53
ALBUMINE (g/l)	27.1-43.74	5.95	34.12	32.1 (g/l)	35 à 50 g/l	52/53
GLUCOSE (g/I)	1.01-4.06	1.10	2.36	8.35 (mmol/l) = 1.5 (g/l)	/	53/53
TRIGLYCERIDE (g/l)	0.20-0.66	0.17	0.45	/	/	53/53
CHOLESTEROL (g/l)	0.27-0.84	0.21	0.68	1.77 (mmol/l) = 0.31 (g/l)	/	51/53
CREATINIE (mg/l)	12.45-29.14	5.6	18.77	120.2 (μmol/l) = 20 (mg/l)	13 à 20 mg/l	51/53
UREE (g/I)	0.36-0.85	0.19	0.48	5.3 (mmol/l) = 0.95 (g/l)	02 à 04 g/l	52/53
MAGNESIUM (mg/l)	16.53-48.23	12.34	25.88	0.65 (mmol/l) = 11.71 (mg/l)	/	52/53
PHOSPHORE (mg/l)	26.58-99.58	30.39	61.79	1.05 (mmol/l) = 18.91 (mg/l)	/	52/53
CALCIUM (mg/l)	96.73-156.52	23.07	130.48	2.65 (mmol/l) = 48 (mg/l)	/	52/53

IV. Conclusion:

- En comparant nos résultats avec d'autres valeurs standard soit du PRZEWALSKI horse, des chevaux à sang chaud ou à sang froid, de l'âne ou avec les constantes biologiques chez un cheval en bonne santé nous a permis d'avoir une idée général sur les paramètres sanguins chez le barbe local et sur l'intervalle dans lequel peuvent se trouver les différentes valeurs biochimiques et hématologiques.
- L'étude s'est déroulée en deux saisons, les valeurs hématologiques semblent ne pas être influencées par la saison, on peut remarquer une légère influence sur ces paramètres mais pas d'une manière assez significative.
- Pour ce qui est des paramètres biochimiques, la différence entre les deux saisons est considérable et on peut en déduire l'existence d'une grande influence de la saison sur ces valeurs mais on ignore sa nature, chaque paramètre agit différemment : certains paramètres ont tendance à diminuer et que d'autres augmentent de valeurs.
- -A la fin, on ne peut en aucun cas confirmer ou imposer ces valeurs obtenues dans cette étude comme étant des valeurs référentielles, du faite du nombre réduit des échantillons et de la courte durée de l'expérience ainsi, nos valeurs n'incluent pas des sujets plus jeunes ou des femelles, elles concernent exclusivement que des sujets adultes de sexe male, des barbes locaux de la région de Tiaret.
- On peut conclure par la comparaison de ces résultats que ce sont des valeurs dans les normes et qui se rapprochent beaucoup plus des valeurs chez les chevaux à sang froid (ce qui est le cas du barbe) sans ignorer la possibilité qu'elles soient influées par les saisons, par la région et même par le régime alimentaire ou par la discipline.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ouvrages

ANDREWARTHA KA, CAPLE IW

(1980). Effects of changes in nutritional copper on erythrocyte superoxide dismutase in sheep. Res. Vet.. Sci. 28, 101-104

Axe "Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne. METHODES SPECTROMETRIQUES D'ANALYSE ET DE CARACTERISATION.

(www.spin.mines-stetinne.fr/uv-vis2.pdf)

BAERLOCHER GM, SCLAPPRITZI E, STRAUB PW, REINHART WH

(1994). Erythrocyte deformability has no influence on the rate of erythrophagocyosis in vitro by autologous human monocytes/macrophages. Br. J. Haematol. 86, 629-634

BARLET JP, DAVICCO MJ, COXAM

V (1995). Physiology of intestinal absorption of phosphorus in animals. Reprod. Nutr. Dev. 35(5), 475-489

BINDELS RJM (1993) Calcium handling by the mammalian kidney. J. Exp. Biol. 184, 89-104

BOYD JW (1983). The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals. Vet. Clin. Path. 12, 9-24

BRAUN JP, LEFEBVRE HP (2008).

Kidney Function and Damage. In: Kaneko, Harvey, Bruss, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. San Diego, Academic Press, 485-528 **C. Baillet**. ENCPB / RN Chimie. TP Spectrophotométrie.

(www.eduscol.education.fr/tp/spe ctro.pdf)

CAPLE IW, EDWARDS SJA, FORSYTH WM, WHITELEY P, SELTH RH, FULTON LJ (1978).

Blood glutathione peroxidase activity in horses in relation to muscular dystrophy and selenium nutrition. Aust. Vet. J. 54, 57-60

CAPUCINE PAROT (2011).

Synthèse des connaissances actuelles sur les examens hématologiques et biochimiques chez le cheval. In : BILANS HÉMATO-BIOCHIMIQUES CHEZ LE CHEVAL D'ENDURANCE DE HAUT NIVEAU : INTÉRÊT PRONOSTIC ET PROPOSITION DE VALEURS DE RÉFÉRENCE. 17-51

CARAKOSTAS MC, MOORE WE,

SMITH JE (1981a). Intravascular neutrophilic granulocyte kinetics in horses. Am. J. Vet. Res. 42, 623-625

CARAKOSTAS MC, MOORE WE,

SMITH JE (1981b). Effects of etiocholanolone and prednisolone on intravascular granulocyte kinetiks in horses. Am. J. Vet. Res. 42, 626-628

CARDINET GH, LITTRELL JF, FREEDLAND RA (1967). Equine myoglobinuria. Res. Vet. Sci. 8, 219-226

CARE AD (1994). The absorption of phosphate from the digestive

tract of ruminants animals. Br. Vet. J. 150, 197-205

CARLSON GP, BRUSS M (2008).

Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Balance. In: **KANEKO, HARVEY, BRUSS,** editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. San Diego, Academic Press, 529-559

CHEW DJ, MEUTEN DJ (1982).

Disorders of calcium and phosphorus metabolism. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 12(3), 411-438

CORDONNIER N (2009).

Hématologie-Présentation générale, 2009-2010

CORDONNIER N ET FONTAINE JJ

(2005). Polycopié d'Histologie-Hématologie 2005-2006

Cordonnier N et Fontaine JJ (2005). Polycopié d'Histologie-Hématologie 2005-2006

CORNELIUS CE, BISHOP J, SWITZER, RHODE EA (1959).

Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornell Vet. 49, 116-126

CYWINSKA A, GORECKA R, SZARSKA E, WITKOWSKI L, DZIEKAN P, SCHOLLENBERGER

A(2010). Serum amyloid A level as a potential indicator of the status of endurance horse, Equine vet. J. 42 (Suppl. 38), 23-27

DELDAR A (1998). Blood and Bone Marrow. In: **DELLMAN, EURELL**, editors. Textbook of Veterinary

Histology. 5th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 62-79

ECKERSALL PD (2008). Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, HARVEY, BRUSS, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. San Diego, Academic Press, 117-155

FAVUS MJ (1992). Intestinal absorption of calcium, magnesium and phosphorus. In: Coe, Favus, editors. Disorders of Bone and Mineral Metabolism. New York, Raven Press, 57-81.

Ferreira LF, Reid MB (2008). Acute exercise and oxydative stress: a 30 year history. Dyn. Med. 8, 1

FINCO DR, GROVES C (1985).

Mechanism of renal excretion of creatinine by the pony, Am. J. Vet. Res. 46, 1625-1628

FLATMAN PW (1991).

Mechanisms of magnesium transport. Annu. Rev. Physiol. 53, 259-271

G. AUMASSIP-KADRI ().

Communication présentée au 5° Salon du Cheval d'El Jadida. Dans : Les chevaux anciens du Maghreb.

Grondin TM et Dewitt SF (2010). Normal Hematology of the Horse and Donkey. In: WEISS DJ, WARDROP KJ, editors. Schalm's Veterinary Hematology. 6th Ed. Ames, Wiley-Blackwell, 821-828

GUEDAOURA S, CABARAUX J.-F, MOUMENE A, TAHRAOUI A,

NICKS B (2011). Tableau III: mensurations et indices (moyennes moindres carrés ± erreur standard) relatifs aux Barbes, Arabe-Barbes, chevaux d'origine inconnue des régions de

l'Est et de l'Ouest algérien. Dans : EVALUATION MORPHOMETRIQUE DE CHEVAUX DE RACE BARBE ET DERIVES EN ALGERIE. 17

HIROSE J, KANO H, KIDANI Y, IWAMOTO H, ET HIROMI K

(1992). Zinc deficient bovine erythrocyte superoxide dismutase has low specific activity. Chem. Pharm. Bull. 40, 506-508

HIRSH J, RASCHKE R. (2004). Heparin and low molecular weight heparin: The seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest 126,

HORNBUCKLE WE, SIMPSON KW, TENNANT BC (2008).

188-203

Gastrointestinal Function. In:
KANEKO, HARVEY, BRUSS,
editors. Clinical Biochemistry of
Domestic Animals. 6th ed. San
Diego, Academic Press, 413-457

JOHNSON RM, GOYETTE GJR, RAVINDRANATH Y, HO YS (2005).

Hemoglobin autoxidation and regulation of endogenous H2O2 levels in erythrocytes. Free Radic. Biol. Med. 39, 1407-1417.

KARBACH U, FELDMEIER H (1993).

The cecum is the site with the highest calcium absorption in rat intestine. Digest. Dis. Sci. 38, 1815-1824

KNOCHEL JP, JACOBSON HR (1986) In: BRENNER, RECTOR, editors. The kidney. Philadelphia, Saunders, 619-662

LATIMER KS ET RAKICH PM

(1992). Peripheral Blood Smears . In: **COWELL, TYLER**, editors. Cytology and Hematology of the Horse.1st Ed. **GOLETA**, California, American Veterinary Publications, 191-207

LOPEZ I, ESTEPA JC, MENDOZA FJ, MAYER-VALOR R, AGUILERA-TEJERO E (2006). Fractionation of calcium and magnesium in equine serum. Am. J. of Vet. Research 67, 463-466.

MATTHEEUWS DRG, KANEKO JJ, LOY RG, CORNELIUS CE, WHEAT

JD (1966). Compartmentalization and turnover of 131I-labeled albumin and gamma globulin in horses. Am. J. Vet. Res. 27, 699–705

MAYES (2002). Oxydation biologique. In: MURRAY, GRANNER, RODWELL, MAYES, editors. Biochimie de Harper. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 130-136

MCCONAGHY FF, HODGSON DR, EVANS DL, ET ROSE RJ (1995).

Equine sweat composition: effects of adrenaline infusion, exercise and training. Eq. Vet. J. Suppl. 20, 158-164

MCDOWELL LR (1992). Calcium and Phosphorus. In: Minerals in Animal and Human Nutrition. San Diego, Academic Press, 26-77

MEIJ BP, ET MOL JA (2008). Adrenocortical function. In: KANEKO, HARVEY, BRUSS, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. San Diego, Academic Press, 351-378

MILNE EM, DOXEY DL (1985). Gamma-glutamyl transpeptidase and its multiple forms in the tissues and sera of normal dogs.

Res. Vet. Sci. 39(3), 385-387

MURER H, LÖTSCHER M, KAISSLING B, LEVI M, KEMPSON SA, BIBER J (1996). Renal brush border membrane Na/Picotransport: molecular aspects in PTH-dependent and dietary regulation. Kidney Int. 49(6), 1769-1773

MURRAY (2002d). Muscle et cytosquelette. In: MURRAY, GRANNER, RODWELL, MAYES, editors. Biochimie de Harper. 25th Ed. Bruxelles, De Boeck Université, 715-736

MURRAY RK (2002a) Erythrocytes et leucocytes. In: MURRAY, GRANNER, RODWELL, MAYES, editors. Biochimie de Harper. 25th Ed. Bruxelles, De Boeck Université, 763-779

MURRAY RK (2002b) Porphyrines et pigments biliaires. In : MURRAY, GRANNER, RODWELL, MAYES, editors. Biochimie de Harper. 25th Ed. Bruxelles, De Boeck Université, 359-373

MURRAY RK (2002c).

Métabolisme des xénobiotiques.

In: MURRAY, GRANNER,

RODWELL, MAYES, editors.

Biochimie de Harper. 25th Ed.

Bruxelles, De Boeck Université,

780-786

OSBALDISTON GW, JOHNSON JH (1972). Effect of ACTH and selected glucocorticoids of circulating blood cells in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 161, 53-56

AR, DENICOLA DB (2008a).
Normal Red Blood Cell
Morphology. In: Veterinary
Hematology Atlas of Common
Domestic and Non-Domestic
Species. 2nd Ed. Ames, Iowa,
WILEY BLACKWELL, 13-16

REAGAN WJ, IRIZARRY ROVIRA

REAGAN WJ, IRIZARRY ROVIRA AR, ET DENICOLA DB (2008b). Normal White Blood Cell Morphology. In: Veterinary Hematology Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species. 2nd Ed. Ames, Iowa, WILEY BLACKWELL, 33-46

REAGAN WJ, IRIZARRY ROVIRA AR, ET DENICOLA DB (2008c).

Platelets. In: Veterinary
Hematology Atlas of Common
Domestic and Non-Domestic
Species. 2nd Ed. Ames, Iowa,
WILEY BLACKWELL, 57-58

ROSOL TJ, CAPEN CC (1997).
Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In:
KANEKO, HARVEY, BRUSS, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th Ed. San Diego, Academic Press, 619–702

ROSOL TJ, ET CAPEN CC (1996). Pathophysiology of calcium, phosphorus, and magnesium metabolism in animals. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 26, 1155-1184

SAXTON DR, SELDINN DW (1986). Clinical interpretation of laboratory values. In: KOKKO, TANNEN, editors. Fluids and Electrolytes. Philadelphia, Saunders, 3-62

SELLON DC, LEVINE JF, PALMER K, ET AL. (1997). Thrombocytosis in 24 horses (1989-1994). J. Vet. Intern. Med. 2006 11, 24-29

SHAW LM, STRØMME JH,

LONDON JL, THEODORSEN L
(1983). International federation of
Clinical chemistry. Scientific
Committee. Analytical section.
Expert Panel on Enzymes. IFCC
methods for measurement of
enzymes. Part 4. IFCC methods for
gamma-glutamyltransferase

amino acid gammaglutamyltransferase, EC 2.3.2.2.]. IFCC Document, Stage 2 , Draft 2, 1983-01 with a view to an IFCC Recommandation. Clin. Chim. Acta. 135(3), 315F-338F

STEWART AJ (1998). Magnesium disorders. In: **REED, BAYLY, SELLON**, editors. Equine internal medicine. Philadelphia, Saunders, 1365-1366

STRYER L (1995a). Dégradation des aminoacides et cycle de l'urée. In : La biochimie de LUBERT STRYER. 4th Ed. New York, WH Freeman and Company, 629-652

STRYER L (1995b). La phosphorylation oxydative. In : La biochimie de LUBERT STRYER. 4th Ed. New York, WH Freeman, and Company, 529-558

TANYA, M. GRO, DINETSHANE.F.
DEWITT (2010). Normal
Hematology of Horse And Donkey.
In: WEISS D.J. ET WARDROP, K.J.
Schalm's Veterinary Hematology.
6th Ed. Philadelphia. WileyBlackwell. 821-829.

TENNANT BC, ET CENTER SA (2008). Hepatic Function. In: KANEKO, HARVEY, BRUSS, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th Ed. San Diego, Academic Press, 379-412

THOMPSON RH, MCMURRAY CH, BLANCHFLOWER WJ (1976). The levels of selenium and glutathione peroxidase activity in sheep, cows and pigs. Res. Vet. Sci. 20, 229-231

TOMENENDALOVA, R. VODICKA, I. UHRIKOVA, J. DOUBEK (2014). Determination of haematological and biochemical parameters of Przewalski horses (Equus

[(gamma-glutamyl)-peptide:

Przewalski) kept by the Prague Zoo. 13, 15,16

TP numération cellulaire. (www.biotech.spip.ac-rouen.fr)

VOLFINGER L, LASSOURD V, MICHAUX JM, BRAUN JP, TOUTAIN PL (1994). Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. Am. J. Physiol. 266, R434–R441

WARDYN GG, RENNARD SI, BRUSNAHAN SK, ET AL. (2008). Effects of exercise on hematological parameters, circulating side population cells, and cytokines. Exp. Haematol., 36, 216-223

WEISS L (1984). The blood cells and hematopoietic tissues. 2nd Ed. Elsevier, New York, 573p

welles eg (2010). Interpretation of equine leukocytes responses. In : welss, warddrop, editors. Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell, 314-320

WHITE A, HANDLER P, SMITH EL (1973). Principles of Biochemistry. New York, MCGRAW-HILL

WILLIAMS DM, LYNCH RE, LEE GR, AND CARTWRIGHT GE (1975).
Superoxide dismutase activity in COPPER-DEFICIENT SWINE. Proc.
Soc. Exp. Biol. Med. 149, 534-536

YANAGAWA N, LEE DBN (1992). Renal handling of calcium and phosphorus. In: COE, FAVUS, editors. Disorders of Bone and Mineral metabolism. New York, Raven Press, 3-40

Sites web

http:// handicapenselle.overblog.org/pages/le_barbe-774307.html

www.association-tiwizisuisse.ch/cheval%20barbe.htm visité le21/03/2015

www.ecologie.ma/le-chevalbarbe-du-maroc

http://www.memoireonline.co m/10/13/7583/m Confessioncoloration-et-examen-desfrottis4.html visité le01/06/2015

www.biochimej.univangers.fr/Page2/tesxttd/8tpme thodologie/3spectrophotometr ie/1spectrophotometrie.htm

http://races-ofcheval.skyrock.com/206496117 4-berbere-ou-barbe-p-6.htm visité le22/03/2015 www.harasduranie.emonsite.com

http://www.cheval-barbe.net visité le13/03/2015

http://www.elevagenarwali.fr/fr/lebarbe.html visité le16/03/2015

www.afcb.perso.neuf.fr/cheval barbe.htm_visité le16/03/2015

www.lesaboteur.com/Racecheval visité le16/03/2015

www.afcb.perso.fr visité le16/03/2015

NATHALIE VANDER SHOOT

www.abcb.be visité le16/03/2015

www.le-cheval-bleu.com/lec0003.htm visité le16/03/2015

www.miscelanees.com/b/bogr os07.htm_visité le16/03/2015 http://lajuge.chez.com/historiq ue/index.html visité le16/03/2015

visité le17/03/2015

<u>www.Nacerboujou.over-</u> <u>blog.com</u> visité le21/03/2015

www.hippologie.fr_visité le30/03/2015

http://leHarasbleu.sfr.fr/Barbe. htm visité le30/03/2015

www.haras-nationnaux.fr_visité le20/06/2015

visité le19/08/2015

www.diabsurf.com/sim/simlm p/ltypcvr.php visité le 11/09/2015

www.chups.jussieu.fr/plys/bioc himie/usualval.html_visité le 11/09/2015

