

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

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE LA SANTE ANIMALE

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

Sous le theme

*INTÉRÊT DES PARAMÈTRES
BIOCHIMIQUE ET HÉMATOLOGIQUE
CHEZ LES ÉQUIDES*

Présenté Par :

Mr.Rahmani Bilal.
Mr.Benkhadir Ahmed Farouk.

Encadré Par :

Mr.Saim Mohamed Saïd.



REMERCIEMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon dieu le tout puissant et miséricordieux qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*En second lieu, nous adressons nos remerciements les plus vifs à notre chère monsieur **Dr. SAÏM MOHAMED SAÏD**, pour la confiance qu'elle nous a accordée, son soutien, son orientation et surtout sa disponibilité, tout en lui souhaitant que di bonheur.*

Nos remerciements s'étendent également à tous les professeurs dont nous avons eu la chance de rencontrer durant notre cursus universitaire.

A toutes les personnes dont nous devons un merci et que j'ai oublié de mentionner.

DÉDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette thèse

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :

♥SAIB LOUIZA♥

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré

D'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.

Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes

Études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.

En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma

vive reconnaissance et ma profonde estime.

MON TRÈS CHER PÈRE :

\$ RAHMANI NACEUR \$

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme

Et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mais pas vers la réussite juste pour gagner de l'argent.

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain

Et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté

Et ne jamais te décevoir.

A très chères Frères ALADEEN et OUSSAMA.

A ma très chère sœur SARRA.

A ma grande famille précisant Louiza, Houda, Said, Tata djamila, Khadidja, Maya,

Abidou, Farouk, Alilou, Aminou, Nounou, Rabeh, Hadjer,

Chirine, Khalo Kadi, Med, Bob,

A mon binôme FAROUK "Azouguegh"

A mes très chers amis : Kadi, Khalifa, Azzedine, Ichboo, Mazouzi,

Sidahmed, Kada, Oussama, Zino. Farfour

A mes amis les agents : Sido, Seddik, Youcef, Hakoom, Cheikh, Ali, Taha,

Kouzi,

Adda, Rafik, Balouta, Fethi, Aymen, Rahj, Abd rahman, Banis, morsli

A Mes Chères :

Nina, Soumia "belge", Fox, Sarah, indila, Karima, Lilia, Saâdia

Sans oublié : Mansour, lesfar, Slimani.

Et bien sur mon club préférée REAL MADRID.

C. Ronaldo, Ancelotti, Bale, Pepe, Ramos, Di-Maria.

Halà Madrid

Malgrais kemlet l'histoire togo3dou fi la mémoire

-Bilou-amitaa-batchaan-

DÉDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette thèse

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE :

♥ SADEG DALILA ♥

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré
d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.*

Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours.

*Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes
études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait.*

*En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de
ma vive reconnaissance et ma profonde estime.*

A MON TRÈS CHER PÈRE :

BEN KHADIR HOCINE

*Autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer
ma gratitude et ma reconnaissance.*

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme

Et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

*Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement
Sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter.*

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain

Et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté

Et ne jamais te décevoir.

A très chères Frères Rafik, Toufik, Tarek,

A ma très chère sœur SOUAD.

A ma grande famille.

A mon binôme BILAL "Averkane"

*A mes très chers amis : Azzedine, ichboo, sidahmed, kadi
mazouzi, khlifa, amine, sa3id, hicham.*

*A mes amis : Sido, Seddik, Youcef, Cheikh, Ali, Taha, Kouzi.
Nounou, Chaâban, kaci, farid, Kadi "rahjouné", Banis
amine hamaz, aymen.*

Sans oublié : lesfar, mansour, djilali taxiphone.

Et mes chères Farah ♥, lilia, Soumia, Amel, Ahlem.

-Farouk-

SOMMAIRE

Résumé.....	1
Introduction.....	2
Les examens Sanguins.....	4
PREMIERE PARTIE : synthèse des connaissances actuelles sur les examens hématologiques et biochimiques chez le cheval.....	6
I. Les paramètres hématologiques.....	6
A) Les érythrocytes.....	6
1.Structure.....	6
2.Fonction.....	8
3.Régulation.....	8
4.Interprétation.....	8
B) L'hémoglobine.....	9
1.Structure.....	9
2.Fonction.....	10
3.Régulation.....	10
3.Interprétation.....	10
C) L'hématocrite.....	10
1.Définition.....	10
2.Interprétation.....	11
D) La teneur globulaire moyenne en hémoglobine et la concentration.....	11
1.corpusculaire moyenne en 2.hémoglobine.....	11
3.Définition.....	11
4.Interprétation.....	12
E) Le volume Globulaire moyen.....	12
1.Définition.....	12
2.Interprétation.....	12

F) Les leucocytes.....	13
1.Structure.....	13
2.Fonction.....	16
3.Régulation.....	17
4.Interprétation.....	18
G) Les plaquettes	19
1.Structure.....	19
2.Fonction.....	20
3.Régulation.....	20
4.Interprétation.....	21
H) Le Fibrinogène.....	21
1.Structure.....	21
2.Fonction.....	22
3.Régulation.....	22
4.Interprétation.....	22
II. Les paramètres biochimique.....	23
A) Exploration de la fonction hépatique.....	23
1-Les Acides biliaires.....	23
2-La bilirubine totale.....	25
3-La gamma glutamyle transférase.....	28
4-Les protéines totale.....	30
B) Exploration de la fonction rénale.....	34
1-La créatinine.....	34
2-L'urée.....	36
C) Exploration de l'intégrité du tissu musculaire.....	39
1-La créatine kinase.....	39
2-l'aspartate amino transférase.....	40
D) Exploration du système anti-oxydant.....	42
1-La glutathione peroxydase.....	43
E) Le ionogramme.....	45

1-Les ions monovalents.....	47
a. le Sodium.....	47
b.lePotassium.....	50
c.Le chlore.....	52
2-Les ions divalents.....	54
a.Le calcium.....	54
b.Le magnesium.....	56
c.Le phosphore.....	58
F) Cinétique enzymatique et demi-vie des molécules.....	61
1-Un exemple d'application clinique : les paramètres de l'exploration de l'intégrité du tissu musculaire	63

DEUXIEME PARTIE : Examens sanguins chez des chevaux d'endurance

de haut niveau	64
I.Matériel et méthode.....	64
A) Echantillon.....	64
B) Réalisation des prélèvement.....	67
C) Analyses effectuées.....	68
D) Méthode d'analyse.....	69
E) Traitement des données.....	70
II.Résultats.....	71
A) Les paramètres hématologiques.....	72
3-l'hématocrite.....	72
4-la TGMH.....	72
5-le volume globulaire moyen et la CCMH.....	73
6-les leucocytes.....	74
a. Les leucocytes totaux.....	74
b. Les granulocytes.....	75
i. les granulocytes neutrophiles.....	75

ii. les granulocytes éosinophiles.....	76
iii.les granulocytes basophiles.....	77
c. Les lymphocytes.....	78
d. Les monocytes.....	79
7- les plaquettes	80
8- le fibrinogènes.....	80
B) Les paramètres biochimiques.....	81
1-les paramètres de l’exploration de la fonction hépatique.....	81
a.les acides billiaires.....	81
b.la bilirubine total.....	81
c. la gamma glutamyle transférase.....	82
d.les proteines total.....	82
2-les paramètres de l’exploration de la fonction rénale.....	83
a.la créatinine	83
b.l’urée.....	83
3-les paramètres de l’exploration de l’intégrité du tissu musculaire.....	84
a.la créatine kénase.....	84
b.l’aspartate aminotransférase.....	84
4-les paramètres de l’exploration du système antioxydant.....	85
a.la glutathione peroxydase.....	85
b.la supuroxyde dismutase.....	85
5- le ionogramme	86
a.les ions monovalent.....	86
i.Sodium.....	86
ii.Potassium.....	86
iii.Chlore.....	87
b.les ions divalent.....	87
i.Calclium.....	87
ii.Magnésium.....	88
iii.Phosphore.....	88

III. Discussion.....	90
A) Limites du protocole.....	90
1-biais d'échantillonnage.....	90
2-conservation et analyse des prélèvements.....	91
3-facteur de confusion.....	92
B) Interprétation	93
1-proportions de données exploitables.....	93
2-proportion de valeur de référence.....	96
3-Comparaison chevaux classé /chevaux éliminés et paramètre prédictifs.....	99
4-Comparaison entre cheval d'endurance de haut niveau et le cheval adulte standard.....	100
C) Perspectives.....	106
1-amélioration du protocole.....	106
2-d'autre paramètres prédictifs.....	107
Conclusion.....	108
Bibliographie.....	109

Liste des figures

Figure 1 : Hématies de cheval en rouleaux	p.07
Figure 2 : Représentation simplifiée d'une molécule d'hémoglobine	p.09
Figure 3 : Schéma d'un tube capillaire après centrifugation	p.11
Figure 4 : Granulocyte neutrophile de cheval	p.13
Figure 5 : Granulocyte éosinophile de cheval	p.14
Figure 6 : Granulocyte basophile de cheval	p.15
Figure 7 : Lymphocyte de cheval	p.15
Figure 8 : Monocyte et lymphocyte de cheval	p.16
Figure 9 : Plaquettes de cheval	p.19
Figure 10 : Schéma d'une molécule de fibrinogène	p.22
Figure 11 : Représentation de Cram d'une molécule d'acide cholique	p.24
Figure 12 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine non conjuguée	p.26
Figure 13 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine conjuguée	p.27
Figure 14 : Électrophorégramme de cheval	p.31
Figure 15 : Formule semi-développée de la créatinine	p.34
Figure 16 : Formule semi-développée de l'urée	p.36
Figure 17 : Schéma de la synthèse de l'urée à partir des acides-aminés	p.37
Figure 18 : Schéma du rôle de la créatine kinase dans le muscle	p.39
Figure 19 : Schéma de la répartition des fluides dans l'organisme	p.46
Figure 20 : Schéma de la répartition des ions de part et d'autre de la membrane	p.48

INTÉRÊT DES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES CHEZ LES ÉQUIDÉS

Résumé

L'endurance est une discipline équestre récente très exigeante du point de vue métabolique pour les chevaux. Ceux-ci sont soumis à des contrôles vétérinaires avant, pendant et après chaque course, qui peuvent conduire à l'élimination du cheval s'il présente un trouble métabolique ou une boiterie. La première partie de ce travail est consacrée à la synthèse des connaissances actuelles sur des paramètres hématologiques et biochimiques dont le dosage est pertinent chez le cheval d'endurance. La deuxième partie présente l'analyse des résultats d'examens sanguins réalisés sur 142 chevaux d'endurance de haut niveau. Ces examens sanguins ont été réalisés afin d'établir des valeurs de référence propres au cheval d'endurance, et aussi dans le but de mettre en évidence d'éventuels paramètres prédictifs quant à la capacité d'un cheval à terminer une course.

Ainsi, l'hémoglobémie, l'hématocrite, les acides biliaires, l'activité sérique de la gamma glutamyl transférase, les protéines totales, la créatininémie, l'urémie, les activités sériques de la créatine kinase et de l'aspartate aminotransférase, la natrémie et la magnésémie montrent des valeurs plus élevées chez le cheval d'endurance par rapport au cheval adulte standard. La numération érythrocytaire, la fibrinogénémie et la kaliémie montrent des valeurs identiques à celles rencontrées chez le cheval adulte standard. La valeur de la chlorémie est plus basse chez le cheval d'endurance. Les leucocytes, la bilirubinémie, et les activités sériques de la glutathion peroxydase et de la superoxyde dismutase, la calcémie et la phosphatémie ont des valeurs comprises dans des fourchettes plus étendues chez le cheval d'endurance.

La comparaison entre chevaux classés et chevaux éliminés met en évidence une bilirubinémie significativement plus élevée chez les chevaux classés. Elle suggère également que les chevaux classés tendent à avoir les leucocytes totaux et l'activité sérique de la gamma glutamyltransférase dans des valeurs plus basses.

INTRODUCTION

L'endurance équestre

L'équitation est l'un des sports les plus pratiqués en France avec 687 341 licenciés en 2010, et une Fédération Française d'Equitation (FFE) qui est la 3ème Fédération Olympique Française en nombre de licences [a]. Elle compte plus de 30 disciplines parmi lesquelles les plus connues sont le dressage, le saut d'obstacles, le cross, la voltige et l'attelage.

L'endurance équestre est une discipline récente dans laquelle le couple cavalier/cheval est amené à parcourir en extérieur une distance variable. Elle peut se pratiquer individuellement ou en équipe. L'endurance équestre est devenue un sport de compétition dans les années 1950 et a été introduite en Europe dans les années 1960. La première course a eu lieu en 1955 en Californie et reliait le lac Tahoe à Auburn soit une distance de 100 miles (~150km). L'endurance équestre a été reconnue comme discipline officielle par la Fédération Equestre Internationale (FEI) en 1982 [b]. Elle ne fait pas partie du programme olympique qui comporte à ce jour trois disciplines équestres : le dressage, le Concours Complet d'Equitation (CCE) et le Concours de Saut d'Obstacles (CSO) [c].

Une épreuve d'endurance équestre se déroule de la manière suivante : la distance du parcours peut varier de 20 km à 160 km à parcourir en une journée, et jusqu'à 240 km à parcourir en trois jours. La vitesse du poney ou cheval peut être imposée ou libre. Le parcours est constitué de plusieurs étapes, une étape ne pouvant excéder 40 km. Avant le début de l'épreuve, entre deux étapes, et après la fin de l'épreuve, le poney ou cheval est soumis à des contrôles vétérinaires. Au cours d'un contrôle vétérinaire, le vétérinaire doit évaluer différents critères :

- ✓ auscultation cardiaque ;
- ✓ fréquence cardiaque inférieure à la fréquence cardiaque limite imposée par le règlement ;
- ✓ fréquence respiratoire ;
- ✓ couleur des muqueuses ;
- ✓ temps de réplétion capillaire ;

- ✓ état d'hydratation ;
- ✓ auscultation des bruits digestifs ;
- ✓ température corporelle ;
- ✓ présence ou non d'une boiterie.

Seuls les poneys ou chevaux ayant des contrôles vétérinaires favorables peuvent faire l'objet d'un classement. Le classement prend en compte le temps de parcours, mais aussi, dans les épreuves à vitesse imposée, le rythme cardiaque lors du contrôle vétérinaire final.

Lors d'un contrôle vétérinaire, l'élimination d'un poney ou cheval peut avoir lieu pour cause métabolique ou pour boiterie. Les termes —cause métabolique regroupe toute anomalie relevée autre qu'une boiterie. Une élimination pour cause métabolique peut entraîner une perte de qualification, voire l'interdiction de participer à d'autres épreuves.

Les examens sanguins

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 :

- ✓ l'hémogramme : 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.
- ✓ les paramètres biochimiques : appréciation quantitative et qualitative des molécules présentes dans le plasma ou le sérum.
- ✓ la mise en évidence de la présence d'un agent pathogène :
 - directe : frottis, mise en culture bactériologique, Polymerase Chain Reaction (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.

Les conséquences d'une élimination pour cause métabolique en endurance et la facilité de mise-en-œuvre du prélèvement sanguin justifient l'intérêt de rechercher des paramètres sanguins permettant de statuer sur l'aptitude d'un cheval à terminer une course.

Dans l'exposé qui va suivre, nous nous intéresserons à l'étude de la numération-formule sanguine (NFS) et de paramètres biochimiques chez des chevaux d'endurance de haut niveau, à l'entraînement, la veille d'une course. Dans un premier temps nous rappellerons les particularités de l'hématologie et de certains paramètres biochimiques. Puis, dans un deuxième temps, nous nous consacrerons à l'étude des examens sanguins réalisés entre 2004 et 2010 sur des chevaux d'endurance de haut niveau.

**PREMIÈRE PARTIE : Synthèse des 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.

I. Les paramètres hématologiques

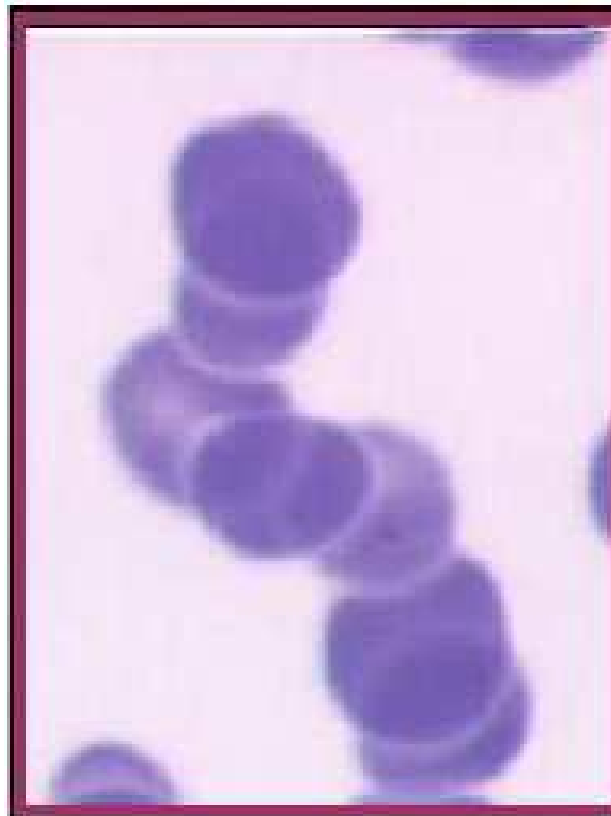
A) Les erythrocytes

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 (*cf* figure 1) lors de la réalisation de frottis (Grondin et Dewitt, 2010 ; Latimer et Rakich, 1992 ; Reagan *et al.*, 2008^a), 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).

Figure 1 : Hématies de cheval en rouleaux



Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA)

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 $1,25 \cdot 10^{12}$ 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 *et al.*, 1994; Weiss, 1984).

4. Interprétation

Leur nombre s'exprime en globules rouges par millimètre cube de sang (GR/mm³).

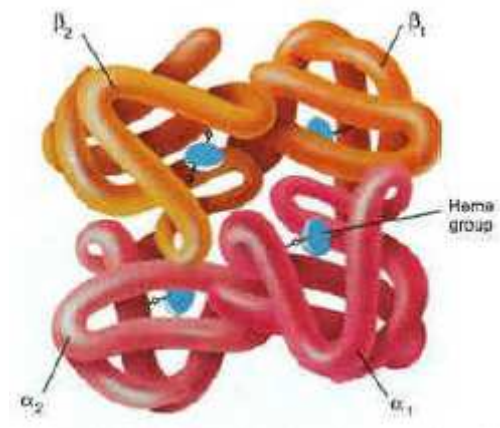
- Un nombre anormalement bas de globules rouges est souvent un signe d'anémie. Il peut résulter d'un défaut d'érythropoïèse, ou d'une destruction des hématies circulantes.
- Un nombre anormalement élevé de globules rouges est appelé polyglobulie. Elle peut être primitive, par exemple lors d'une tumeur des cellules souches de la moelle osseuse hématopoïétique, ou secondaire, par exemple lors d'hypoxie chronique.

B) L'hémoglobine

1. Structure

L'hémoglobine (*cf* figure 2) est constituée d'une hétéroprotéine, appelée globine et composée de quatre chaînes polypeptidiques α_1 , α_2 , β_1 et β_2 , et de quatre hèmes qui renferment chacun un atome de fer (Cordonnier et Fontaine, 2005). Elle se trouve dans les hématies dont elle est le principal constituant, puisqu'elle représente 95% des protéines intracellulaires de l'hématie (Murray, 2002^a) et auxquelles elle donne leur couleur puisque l'hémoglobine est également un pigment (Cordonnier et Fontaine, 2005). Une faible quantité d'hémoglobine se situe dans le plasma où elle est liée à une protéine appelée haptoglobine.

Figure 2 : Représentation simplifiée d'une molécule d'hémoglobi



2. Fonction

Chaque hème peut fixer une molécule de O₂. L'hémoglobine est aussi capable de fixer les molécules de CO₂ produit par les tissus et participe dans une certaine mesure à l'équilibre acido-basique en captant des protons.

3. Régulation

Le catabolisme de l'hémoglobine conduit à la formation de bilirubine.

4. Interprétation

Le taux sanguin d'hémoglobine, ou hémoglobinémie, s'exprime en grammes d'hémoglobine par décilitre de sang (g/dL).

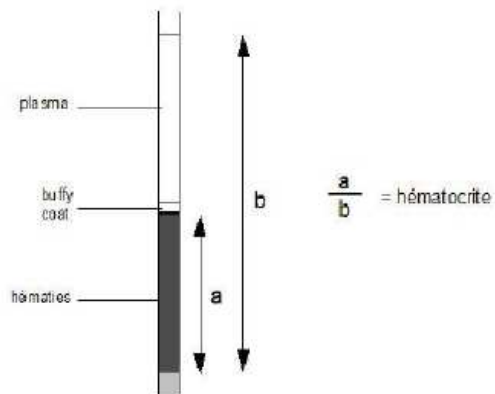
- Une valeur anormalement basse est le signe d'une anémie.
- Une valeur anormalement haute est le signe d'une hémococoncentration.

C) L'hématocrite

1. Définition

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, comme cela est représenté dans la figure 3.

Figure 3 : schéma d'un tube capillaire après centrifugation



2. Interprétation

L'hématocrite s'exprime en pourcentage. La mesure de l'hématocrite permet d'objectiver une éventuelle anémie et permet d'évaluer l'hémoconcentration du sang : l'hématocrite est augmenté en cas de déshydratation ou en cas de polyglobulie.

D) La teneur globulaire moyenne en hémoglobine et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

1. Définition

La Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine (TGMH), appelée aussi Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH), représente la masse moyenne d'hémoglobine contenue dans une hématie.

La Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) représente la masse moyenne d'hémoglobine pour un volume donné d'hématies.

2. Interprétation

La TGMH s'exprime en picogrammes (pg) et la CCMH s'exprime en grammes par décilitre (g/dL).

La TGMH et la CCMH permettent de déterminer si la population des hématies est :

- normochrome, c'est-à-dire que les hématies contiennent une quantité normale d'hémoglobine
- hypochrome, c'est-à-dire que les hématies contiennent une quantité d'hémoglobine diminuée, comme cela peut être le cas lors d'anémie ferriprive

E) Le Volume Globulaire Moyen

1. Définition

Le volume globulaire moyen (VGM) est le volume moyen d'un globule rouge.

2. Interprétation

Il s'exprime en femtolitres (fL) ou en micromètres cube (μm^3) et permet de qualifier la population érythrocytaire de :

- normocytaire lorsque le VGM est dans les valeurs usuelles
- microcytaire lorsqu'il est inférieur aux valeurs usuelles : c'est la cas dans les anémies ferriprives
- macrocytaire lorsqu'il est supérieur aux valeurs usuelles : cela peut par exemple être observé lors d'une anémie régénérative avec l'arrivée massive dans le sang de globules rouges immatures dont la taille est supérieure aux globules rouges matures (Cordonnier et Fontaine, 2005).

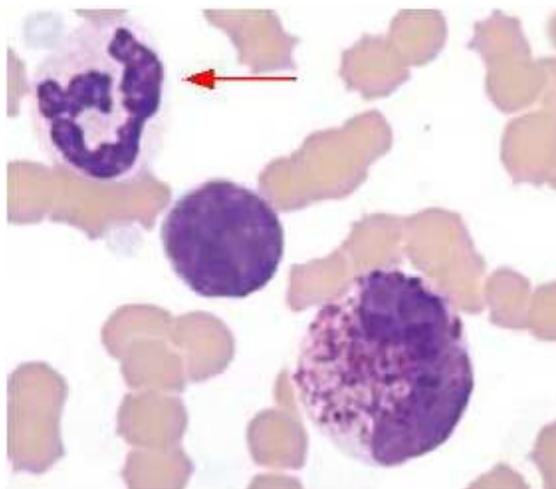
F) Les leucocytes

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.
- o Les granulocytes neutrophiles (*cf* figure 4) sont les leucocytes quantitativement majoritaires dans le sang périphérique chez le cheval. Leur diamètre varie de 10 à 12 μm . La segmentation du noyau est un peu moins marquée chez le cheval que chez d'autres espèces (Reagan *et al.*, 2008)

Figure 4 : Granulocyte neutrophile de cheval

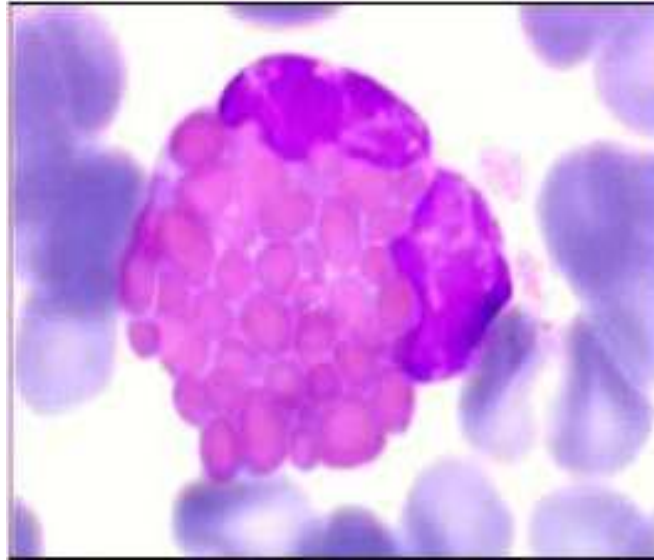


D'après IDEXX VetAutoread Hematology Analyzer—Casebook

- o Les granulocytes éosinophiles (*cf* figure 5) 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).

Figure 5 : Granulocyte éosinophile de cheval



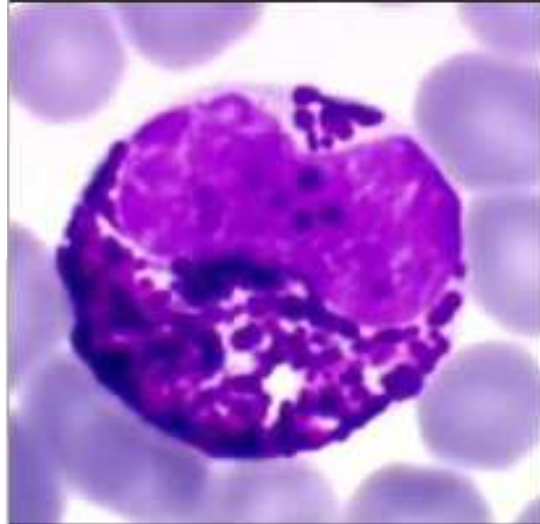
Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'ENVA

- o Les granulocytes basophiles (*cf* figure 6) 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 *et al.*, 2008^b).

Figure 6 : Granulocyte basophile de cheval



Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'ENVA

- Le deuxième type cellulaire quantitativement majoritaire dans le sang périphérique est représenté par les lymphocytes (*cf* figure 7). Ils 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 nucléoplasmique est élevé. (Latimer et Rakich, 1992 ; Reagan *et al.*, 2008^b)

Figure 7 : Lymphocyte de cheval



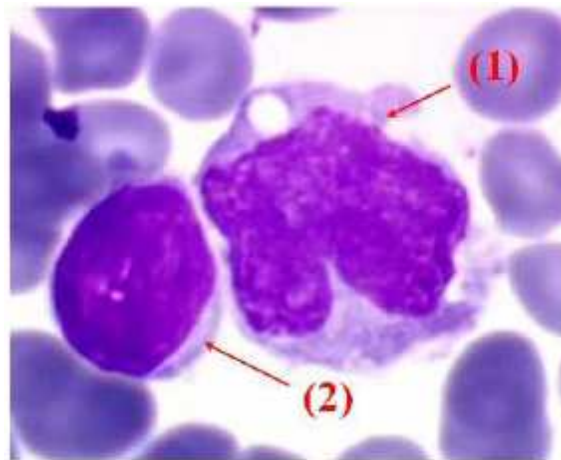
Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'ENVA

- Les monocytes (*cf* figure 8) 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 *et al.*, 2008^b).

Figure 8 : (1) Monocyte et (2) lymphocyte de cheval



Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'ENVA

2. Fonction

- Les granulocytes (Murray, 2002 ; Deldar, 1998):
 - o les granulocytes neutrophiles, impliqués dans la phase aiguë de l'inflammation et dans la phagocytose des bactéries
 - o les granulocytes éosinophiles, impliqués dans les réactions d'hypersensibilité et dans certaines infestations parasitaires
 - o 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 5.10^{11} 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 :
 - o leucocytose neutrophilique : phénomène inflammatoire et/ou infectieux
 - o leucocytose éosinophilique : phénomène parasitaire et/ou allergique
 - o leucocytose basophilique : rarement observée
 - o lymphocytose : néoplasie lymphoïde, parfois suite à une exposition à un antigène (Welles, 2010).
 - o 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 autres lignée. c'est le cas en situation de stress : le leucogramme 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 *et al.*, 1981^a; Carakostas *et al.*, 1981^b; Osbaldiston et Johnson, 1972).

G) Les plaquettes

1. Structure

Les plaquettes (*cf* figure 9), aussi appelées thrombocytes, sont des fragments cellulaires anucléés ronds mesurant environ de 2 μm à 4 μm de diamètre. Chez le cheval, les plaquettes apparaissent moins colorées que dans les autres espèces domestiques (Reagan *et al.*, 2008^C; Cordonnier, 2009).

*

Figure 9 : Plaquettes de cheval



Coloration de May-Grünwald et Giemsa, x100

Avec l'aimable autorisation du Dr Cordonnier

Unité d'histologie et d'anatomie pathologique de l'ENVA

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 $1,25 \cdot 10^{12}$ 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)

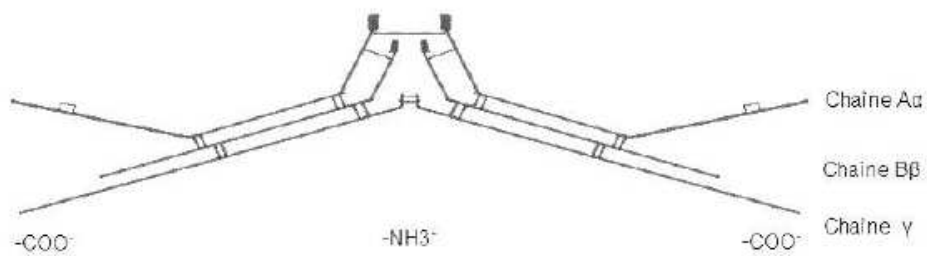
- Une thrombopénie, c'est-à-dire un nombre anormalement bas de plaquettes, peut-être due à :
 - o une synthèse insuffisante : lors d'une atteinte de la moelle osseuse, par exemple
 - o une perte excessive : par hémorragie ou par consommation excessive de plaquettes, comme c'est le cas lors de Coagulation IntraVasculaire Disséminée (CIVD).
- Une thrombocytose, c'est-à-dire un nombre anormalement élevé de plaquettes, a différentes origines :
 - o artéfactuelle : des fragments cellulaires provenant d'érythrocytes ou de leucocytes peuvent engendrer une pseudothrombocytose
 - o la thrombocytose physiologique : elle correspond à la mise en circulation des plaquettes normalement séquestrées dans la rate, par contraction de cette dernière (Wardyn *et al.*, 2008)
 - o la thrombocytose secondaire : la thrombopoïèse est stimulée de façon exagérée par les cytokines, dans un contexte inflammatoire ou néoplasique (Sellon *et al.*, 1997)

H) Le fibrinogène

1. Structure

Le fibrinogène, appelé aussi facteur I de la coagulation, est une glycoprotéine plasmatique soluble formée de trois paires de chaînes polypeptidiques différentes ($A\alpha$, $B\beta$, γ)². Leur structure est telle qu'elle empêche l'agrégation de molécules de fibrinogène entre elles par électrorépulsion comme le montre la figure 10.

Figure 10 : Schéma d'une molécule de fibrinogène



D'après Biochimie de Harper, 25^{ème} édition, Murray, Granner, Mayes, Rodwell

2. Fonction

La fibrine qui intervient durant la deuxième phase de l'hémostase, provient du clivage du fibrinogène par la thrombine (Rand et Murray, 2002). En outre, le fibrinogène joue aussi un rôle dans l'inflammation. Il fait partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation, car en générant de la fibrine, il permet de —séquestrer les lésions et d'initier les processus de cicatrisation (Eckersall, 2008).

3. Régulation

Ces trois chaînes sont synthétisées par le foie. La fibrine issue du clivage du fibrinogène est dégradée par la plasmine qui peut aussi dégrader directement le fibrinogène (Rand et Murray, 2002).

4. Interprétation

Le fibrinogène s'exprime en grammes par litre (g/L), en milligrammes par décilitre (mg/dL), ou en micromoles par litre (μmol/L). Chez le cheval, une augmentation de la fibrinogénémie, ou hyperfibrinogénémie, marque la présence d'une inflammation aiguë.

II. 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 (*cf* figure 11) 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.

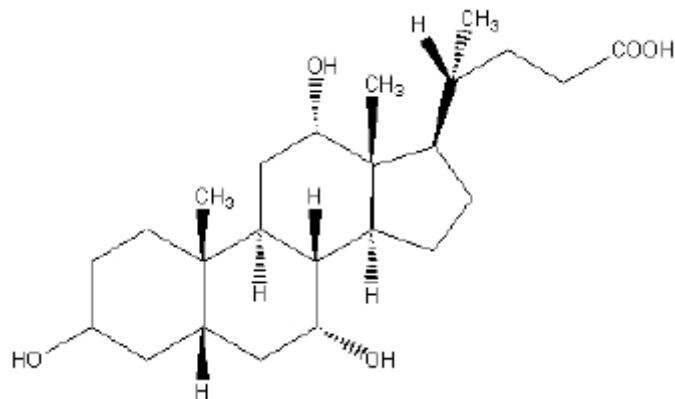
b) Fonction

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 *et al.*, 2008).

Figure 11 : Représentation de Cram d'une molécule d'acide choli



d) Interprétation

Les acides biliaires s'expriment en micromoles par litre de sang ($\mu\text{mol/L}$).

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 (*cf* figure 12), dite aussi forme libre ou forme indirecte, et une forme dite conjuguée (*cf* figure 13), 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.

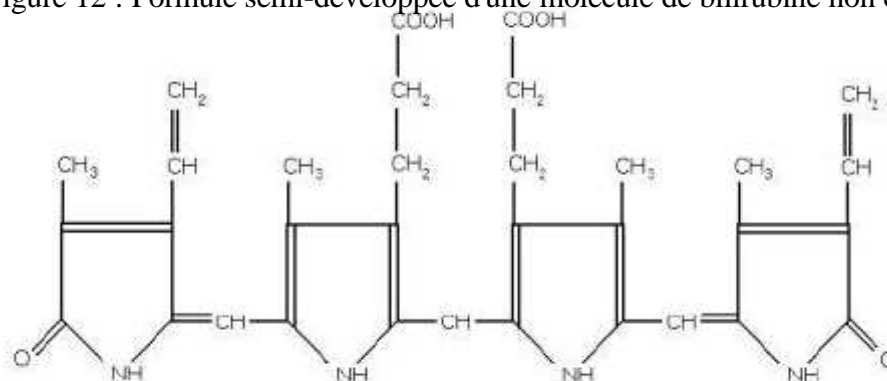
b) Fonction

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.

Figure 12 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine non conjuguée



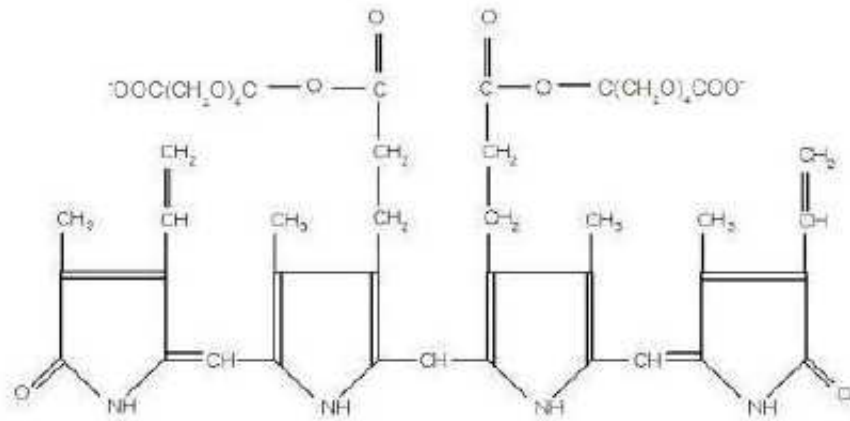
D'après La bilirubine, JM Michaux, cours de chimie biologique I, 2010-2011

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 glucuroconjugaison, 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 13 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine conjuguée



D'après Biochimie de Harper, 25^{ème} édition, Murray, Granner, Mayes, Rodwell

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, 2002^b).

d) Interprétation

La bilirubinémie s'exprime en micromoles par litre ($\mu\text{mol/L}$) 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 transferase

a) Structure

La gamma glutamyl transferase (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 reticulum endoplasmique des hépatocytes (Murray, 2002^C).

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 epithelia 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.

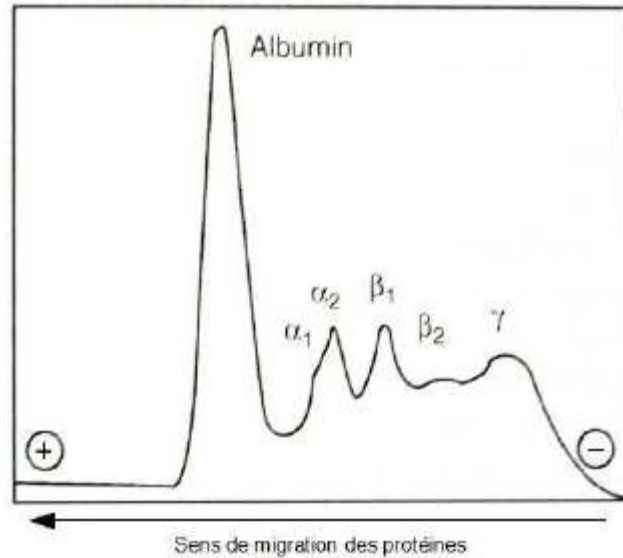
□ Les globulines

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 :

- o 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.
- o 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.
- o γ -globulines : ce sont des immunoglobulines : IgA, IgM, IgE en γ_1 , IgG en γ_2 (Eckersall, 2008)

Le résultat d'une électrophorèse après interprétation est montré dans la figure 14.

Figure 14 : Électrophorétoqramme de cheval



D'après Kaneko, Harvey, Bruss, editors. Clinical Biochemistry of Domestic Animals,
6th ed.

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 Ca^{2+} , le cuivre Cu^{2+} ou encore le zinc Zn^{2+} (Rand et Murray, 2002).

c) Régulation

L'albumine est synthétisée par le foie et représente environ la moitié des protéines totales. Son temps de $\frac{1}{2}$ 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 plasmiques, 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, 1995^a).

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, 1995^b).

d) Interprétation

La protéinémie s'exprime en grammes par litre (g/L).

- Une hyperprotéinémie est le signe d'une inflammation, d'un phénomène infectieux, ou d'une déshydratation
- Une hypoprotéinémie peut avoir pour origine une insuffisance de production de protéines, en cas d'atteinte hépatique, ou une fuite de protéines :
 - o hémorragie
 - o pertes par voie digestive : vomissements, diarrhée
 - o 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 :
 - o Hyperalbuminémie : déshydratation
 - o Hypoalbuminémie : 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 :
 - o Hyperglobulinémie : processus infectieux en cours
 - o Hypoglobulinémie : immunodépression

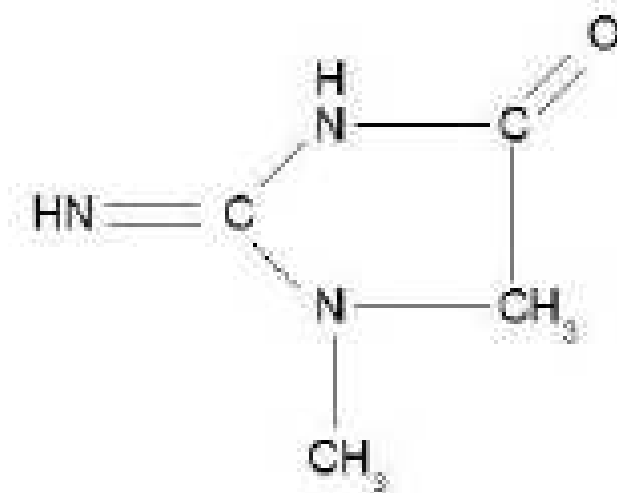
B) Exploration de la fonction rénale

1. La créatinine

a) Structure

La créatinine (*cf* figure 15) 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 15: Formule semi-développée de la créatinine



D'après Murray, Granner, Mayes, Rodwell, editors. Biochimie de Harper, 25^{ème} éd

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).

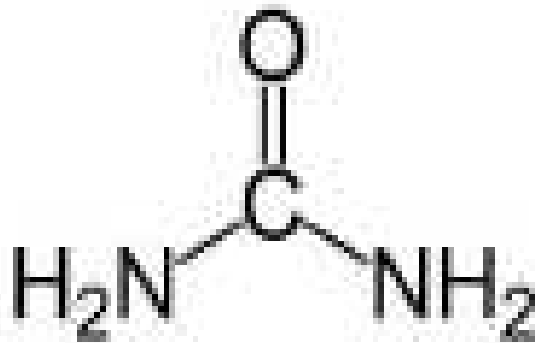
La créatinine filtrant librement à travers le glomérule, une augmentation de la créatininémie signe une atteinte rénale glomérulaire. Plus rarement elle s'interprète comme une lyse massive de myocytes.

2. L'urée

a) Structure

L'urée (*cf* figure 16) est une petite molécule azotée hydrophile issue du catabolisme protéique, capable de passer à travers les membranes plasmiques.

Figure 16 : 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.

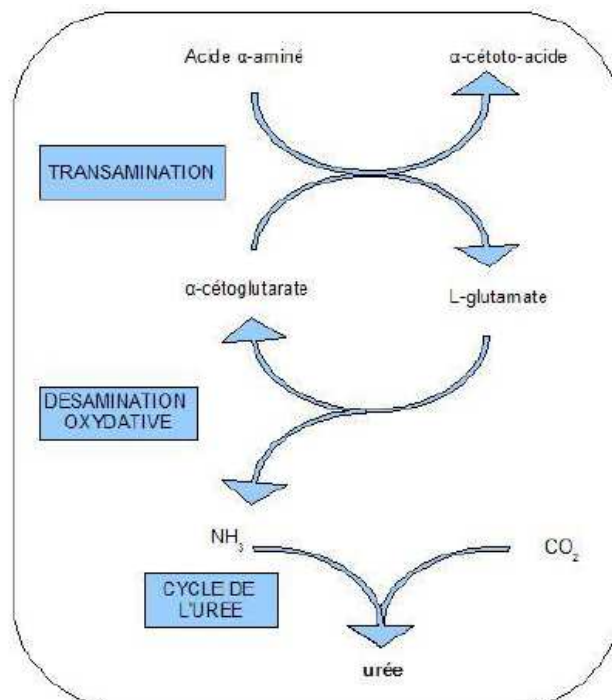
c) Régulation

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 NH_4^+ .

La biosynthèse de l'urée peut être divisée en quatre étapes (*cf* figure 17) :

- transamination
- désamination oxydative du glutamate
- transport de l'ammoniac
- réactions du cycle de l'urée

Figure 17 : 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

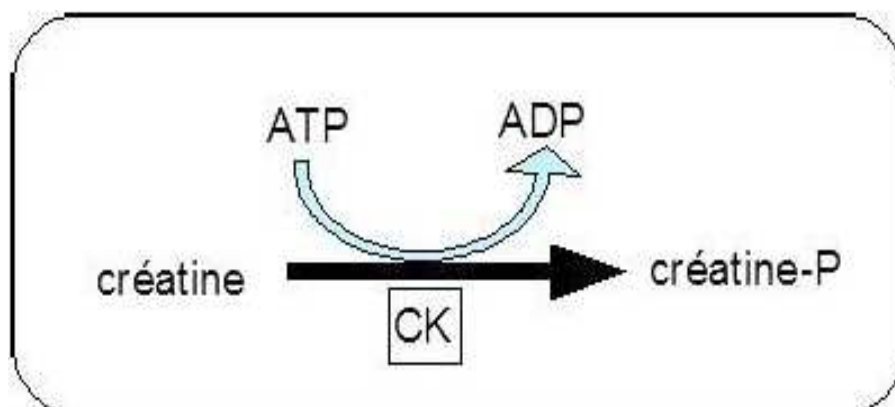
La créatine kinase (CK), ou encore créatine phosphokinase (CPK), est une enzyme pour laquelle il existe des isoenzymes dont les trois principales sont: MM, MB et BB. Elles se trouvent majoritairement dans le cerveau pour l'isoenzyme BB, dans le cœur pour l'isoenzyme MB et dans les muscles striés squelettiques 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 (*cf* figure 18) est de catalyser la réaction de phosphorylation de la créatine, recréant ainsi un réservoir de créatine phosphate (Murray, 2002^d)

Figure 18 : 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 localisée 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 NH_4^+ (Stryer, 1995^a). L'aspartate aminotransférase est une des enzymes les plus importantes du groupe des aminotransférases. Elle catalyse le transfert du groupe α -aminé suivant (Stryer, 1995^a) :



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 *et al.*, 1959; Cardinet *et al.*, 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) Exploration du système antioxydant

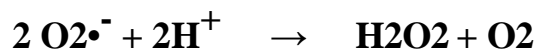
1. La superoxyde dismutase

a) Structure

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

b) Fonction

Le superoxyde, $O_2^{\bullet-}$, 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, H_2O_2 , est ensuite converti en eau, H_2O , et en dioxygène, O_2 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 *et al.*, 1975)
- lors de carence en zinc (Hirose *et al.*, 1992).

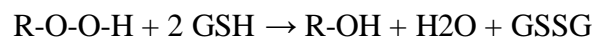
1. La glutathion peroxydase

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, 2002^a), 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):



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 *et al.*, 1978; Thompson *et al.*, 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.

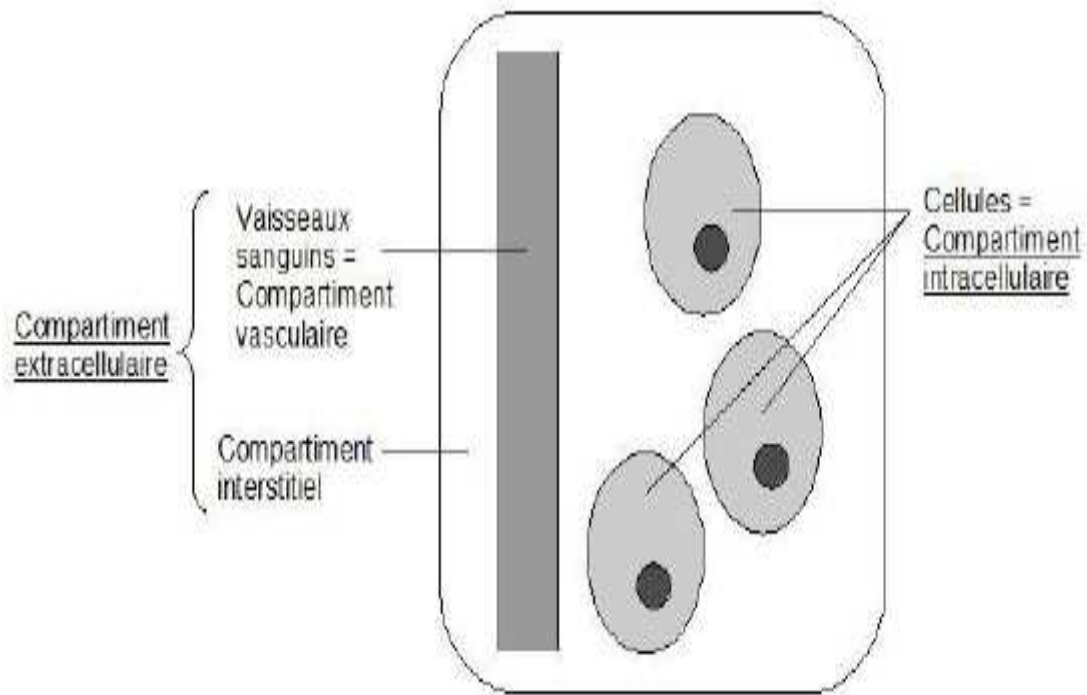
E) Le ionogramme

Les ions sont présents dans les différents fluides du corps et le ionogramme représente la mesure des taux sanguins d'ions.

Dans l'étude de la répartition des fluides dans le corps (*cf* figure 19), le modèle adopté est le suivant :

- le compartiment intracellulaire
- le compartiment extracellulaire :
 - le compartiment vasculaire
 - le compartiment interstitiel

Figure 19 : Schéma de la répartition des fluides dans l'organisme



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+} 2 mEq/L de Ca^{2+}

1. Les ions monovalents

a) *Sodium*

i. Structure

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

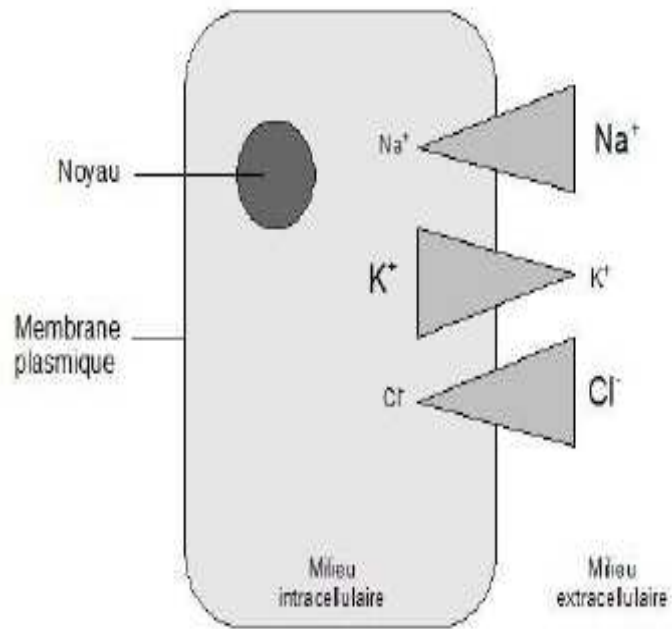
ii. Fonction

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.

La répartition entre compartiments intra- et extracellulaire des ions Na^+ , K^+ et Cl^- est représentée schématiquement dans la figure 20.

Figure 20 : Schéma de la répartition des ions de part et d'autre de la membrane plasmique



iii. Régulation

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

- diffusion passive selon le gradient électrochimique
- cotransport 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 *et al.*, 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 *et al.*, 1995)

iv. 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):
 - o un gain excessif de Na^+ : apport alimentaire excessif, rétention sodée (par exemple lors d'hyperaldostéronisme)
 - o 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):

- o 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
- o un gain excessif en eau, par exemple en cas de perfusion avec des solutés pauvres en Na^+ .

b) Le potassium

i. Structure

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

ii. 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.

iii. 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 *et al.*, 1995).

iv. 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):
 - o un gain excessif en K^+ : perfusion avec des solutés riches en potassium, défaut d'excrétion (obstruction des voies urinaires, atteinte tubulaire, acidose métabolique)
 - o passage extracellulaire : hémolyse, effort intense
 - o 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):
 - o des pertes excessives : digestives (diarrhée), rénales (insuffisance rénale, hyperaldostéronisme, acidose tubulaire)
 - o passage intracellulaire : insuline, catécholamines
 - o un gain excessif en eau : perfusion avec des solutés pauvres en potassium.

c) Le chlore

i. Structure

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

ii. 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.

iii. Régulation

L'absorption intestinale de Cl^- suit celle du Na^+ par cotransport. Dans certains cas, l'entrée d'un ion Cl^- se fait en échange de la sortie d'un ion HCO_3^- (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 *et al.*, 1995)

iv. 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):
 - o un gain excessif : ingestion massive de sel, déshydratation, acidose métabolique
 - o un défaut d'excrétion : hyperaldostéronisme, réabsorption rénale augmentée lors d'acidose (Saxton et Seldin, 1986)
- Une diminution anormale de la chlorémie, appelée hypochlorémie, peut survenir suite à (Carlson et Bruss, 2008):
 - o des pertes excessives : lors de sudation importante, en cas de défaut de réabsorption tubulaire, séquestration dans un troisième secteur, alcalose métabolique
 - o un gain excessif en eau : perfusion avec des solutés pauvres en Cl^- .

2. Les ions divalents

a) Le calcium

i-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 Ca^{2+} dont la proportion par rapport au calcium plasmatique total est d'environ 50 % (Rosol et Capen, 1997; Lopez *et al.*, 2006).

La proportion de calcium ionisé varie en fonction du pH sanguin et donc du statut acido-basique.

ii. 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

iii. 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 Ca^{2+} .

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.

iv. 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) :
 - o un gain excessif : apports alimentaires excessifs
 - o un défaut d'élimination par diminution de l'excrétion urinaire du calcium
 - o une hyperparathyroïdie primaire ou secondaire à une insuffisance rénale chronique
- Une calcémie anormalement basse, ou hypocalcémie, peut survenir suite à :
 - o un défaut d'absorption intestinale : carence, hypovitaminose D due à une carence ou à une hyperphosphatémie
 - o une élimination excessive par augmentation de l'excrétion urinaire de calcium

b) Le magnésium

i. 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 (Mg^{2+}) qui est la forme physiologiquement active. Chez les chevaux, la forme ionisée représente environ 60% du magnésium sérique total (Lopez *et al.*, 2006).

ii. 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).

iii. 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).

iv. 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:
 - o Une atteinte rénale
 - o Une fatigue musculaire

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

c) Le phosphore

i. Structure

Le phosphore inorganique se trouve à 90% sous forme d'hydroxyapatite $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ 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 (HPO_4^{2-} et H_2PO_4^-), avec un ratio de quatre ions HPO_4^{2-} pour un ion H_2PO_4^- à pH physiologique (Knochel et Jacobson, 1986). C'est pourquoi les termes phosphore et phosphates sont employés indifféremment.

ii. 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' O_2 aux tissus et le maintien de l'intégrité du squelette.

iii. 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 cotransport Na^+ /phosphate est stimulé par l'insuline, ou encore l'hormone de croissance (Kempson, 1996).

iv. 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) :
 - o Une lyse cellulaire massive
 - o Une intoxication à la vitamine D
 - o L'insuffisance rénale chronique
 - o 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) :
 - o Une maldistribution secondaire à une charge trop importante en hydrates de carbone
 - o Une alcalose respiratoire
 - o Une acidose métabolique
 - o Une décharge de catécholamines
 - o Une carence en vitamine D.

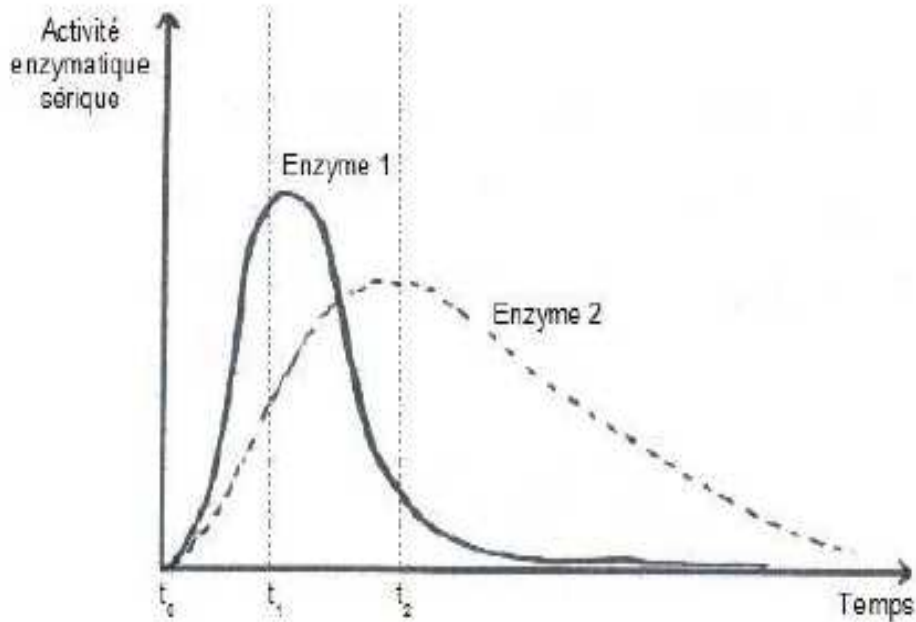
F) Cinétique enzymatique et demi-vie des molécules

1. 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.

Un exemple est illustré dans la figure 21.

Figure 21 : Schéma illustrant le principe de cinétique enzymatique



À t_0 survient une lésion qui entraîne la libération dans le sang de deux enzymes.

À t_1 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 t_2 , 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.

2. Un 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 hématoците.

DEUXIEME PARTIE : Examens sanguins chez des chevaux d'endurance de haut niveau

L'endurance est un sport dont la particularité tient à la durée de l'effort demandé. En effet, bien que les chevaux bénéficient d'un temps de récupération entre deux boucles, durant lequel ils peuvent se reposer, s'abreuver et s'alimenter, celui-ci n'excède jamais une heure, ce qui ne permet pas une récupération totale. Le cheval est donc soumis à une forte demande en énergie, à la déshydratation, et à un besoin en oxygène accru. Les paramètres étudiés dans la première partie nous informent sur la santé d'organes qui jouent un rôle important durant l'effort d'endurance :

- ☞ Les cellules sanguines, par leur rôle dans l'oxygénation des tissus
- ☞ Le foie, par son rôle dans le métabolisme énergétique
- ☞ Les reins, par leur rôle dans le maintien de l'homéostasie
- ☞ Les muscles, par le travail de longue durée qu'ils fournissent
- ☞ Le système antioxydant, par son rôle cytoprotecteur lors de stress oxydatif

C'est pourquoi nous avons choisi d'analyser ces paramètres chez des chevaux d'endurance de haut niveau. D'une part dans le but d'établir des normes propres au cheval d'endurance, d'autre part afin de rechercher des paramètres prédictifs quant à l'aptitude d'un cheval à terminer une course.

I. Matériel et méthode

A) Echantillon

Les prélèvements ont été réalisés sur 142 chevaux d'endurance de haut niveau, c'est-à-dire effectuant des courses de 120 km ou plus, en partie pour suivi médico-sportif (chevaux de l'Equipe de France) et en partie sur la base du volontariat de certains propriétaires, sur 14 courses différentes entre 2004 et 2010. Les prélèvements ont ensuite été envoyés au Laboratoire Départemental Frank Duncombe ou analysés à la Clinique Equine de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Les chevaux sont répartis comme indiqué dans les tableaux 1 et 2 (cf p.50).

Tableau 1 : Nombre et caractéristiques des chevaux prélevés pour chaque course

Course année	n1	n2	Hongres	Femelles	Mâles entiers	Ar/DSA*
Rambouillet 2004	28	18	11	14	3	13
Monpazier 2004	10	4	7	2	1	6
Gubio 2005	6	-	1	5	-	6
Pau 2005	11	-	8	2	1	9
Compiègne 2005	10	3	6	3	1	6
Rambouillet 2006	19	5	8	11	-	14
Saint Galmier 2006	20	12	11	7	2	14
Groupe expérimental 2008**	7	1	5	2	-	7
Compiègne 2009	10	1	4	6	-	10
Assisi 2009	6	3	5	1	-	6
Compiègne 2010	10	3	4	6	-	10
Vittel 2010	5	-	2	3	-	5
Total	142	50	72	62	8	106
% du total		35,2	50,7	43,7	5,6	74,6

Tableau 2 : Nombre de chevaux prélevés en fonction de l'âge pour chaque course

Course année	Âge en années									
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Rambouillet 2004	1	6	8	5	4	2	-	2	-	-
Monpazier 2004	-	-	3	1	4	1	1	-	-	-
Gubbio 2005	-	-	5	-	1	-	-	-	-	-
Pau 2005	1	2	2	1	2	-	1	2	-	-
Compiègne 2005	-	-	4	3	2	-	-	-	1	-
Rambouillet 2006	-	1	3	6	5	3	-	-	1	-
Saint Galmier 2006	-	3	3	7	5	-	13	14	-	-
Groupe expérimental 2008*	1	1	1	1	2	-	1	-	-	-
Compiègne 2009										
Assisi 2009	-	-	4	1	2	1	-	1	1	-
Compiègne 2010	-	1	-	-	3	-	-	1	1	-
Vittel 2010	-	2	-	1	1	1	3	-	1	1
	-	3	-	-	-	-	-	-	1	1
Total	3	19	33	26	31	8	7	7	6	2

Les niveaux des différentes courses au cours desquelles ont été effectués les prélèvements sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Caractéristiques des courses durant lesquelles ont été effectués les prélèvements

Course : Année	Type d'épreuve	Chevaux
Rambouillet 2004	CEI*** 144 km	volontaires
Monpazier 2004	CEI*** 157 km et CEI** 117 km	volontaires
Gubbio 2005	CEIO 160 km	Equipe de France
Pau 2005	CEIO YJ** 120 km	Equipe de France jeunes cavaliers
Compiègne 2005	Championnat d'Europe 160 km	Equipe de France
Rambouillet 2006	CEI*** 140 km	Volontaires + Equipe de France
Saint Galmier 2006	CEI*** 160 km	Volontaires + Equipe de France
Groupe expérimental 2008*	CEI** 119 à 130 km	ENESAD
Compiègne 2009	CEI*** 160 km	Equipe de France
Assisi 2009	Championnat d'Europe 160 km	Equipe de France
Compiègne 2010	CEI*** 160 km	Equipe de France
Vittel 2010	Stage Jeux Equestres Mondiaux	Equipe de France

B) Réalisation des prélèvements

Les prises de sang ont été effectuées sur le site de l'épreuve, la veille de la course en début d'après-midi dans la veine jugulaire, le plus souvent à gauche, à l'aide d'un vacutainer[®] sur lequel était montée une aiguille jaune (20 gauges). Quatre types de tubes ont été utilisés :

- un tube EDTA (EthylDiamineTétrAcétate), un anticoagulant chélateur du calcium permettant de conserver la forme des cellules, pour :
 - la Numération-Formule Sanguine (NFS)
 - la mesure des activités sériques de la SOD et de la GPX
- un tube sec ou hépariné pour doser ou mesurer :
 - les acides biliaires, la bilirubine totale, l'activité sérique de la GGT et les protéines totales
 - l'urée et la créatinine
 - les activités sériques de la CK et de l'AST
- un tube contenant de l'héparine, un anticoagulant qui agit par liaison à l'antithrombine III (Hirsh and Raschke, 2004), pour le dosage des électrolytes :

○ Na⁺, K⁺, Cl⁻

○ Ca_{tot}, Mg, P

A partir de 2009, le sang prélevé sur tube hépariné et sur tube sec était centrifugé, le plasma/sérum séparé du culot puis envoyé au laboratoire.

➤ un tube contenant du citrate, un anticoagulant chélateur du calcium, pour le dosage du fibrinogène.

C) Analyses effectuées

Les analyses effectuées ont varié selon les courses ; elles sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Paramètres mesurés avant les différentes courses

Course	Paramètres mesurés		
	NFS	Biochimie	Ionogramme
Rambouillet 2004	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST	Ca
Monpazier 2004	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST	Ca
Gubbio 2005	oui	Non	Na, K, Cl
Pau 2005	oui	Non	Na, K, Cl, Ca, Mg, P
Compiègne 2005	oui	Non	Na, K, Cl, Ca, Mg
Rambouillet 2006	oui	SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca, Mg
Saint Galmier 2006	oui	SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca, Mg
Groupe expérimental 2008	oui + fibrinogène	Urée, Créatinine, PT, CK, AST, SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca
Compiègne 2009	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST	Na, K, Cl, Ca, Mg, P
Assisi 2009	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST, SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca, Mg, P
Compiègne 2010	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST, SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca, Mg, P
Vittel 2010	oui + fibrinogène	Acides biliaires, bilirubine totale, CK, créatinine, GGT, PT, urée, AST, SOD, GPX	Na, K, Cl, Ca, Mg, P

D) Méthodes d'analyse

Les méthodes d'analyses utilisées par le Laboratoire Départemental Frank Duncombe et par l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort sont regroupées dans les deux tableaux suivants :

Tableau 5a : Méthodes d'analyses des différents paramètres du LDF

Paramètre	Analyseur	Procédé de dosage
NFS	Advia 120 Siemens®	Cytométrie de flux
Acides biliaires	RX Imola®	Colorimétrie
Bilirubine totale		Méthode colorimétrique basée sur le descriptif de Jendrassik et Grof (1938)
GGT		Colorimétrie 5-amino-2-nitro-benzoate
Protéines totales		Réaction de Biuret en point final
Créatinine		Colorimétrie : picrate alcalin sans déprotéinisation
Urée		Cinétique de l'uréase
CK		Méthode selon les recommandations de la Deutsche Gesellschaft für klinische chemie
AST		Méthode UV standard optimisée selon les recommandations de l'IFCC*
GPX		Méthode basée sur activité enzymatique de la GPX en employant de l'hydroxyde de cumène
SOD		Méthode basée sur activité de la SOD en employant la xanthine oxydase
Na ⁺ / K ⁺ / Cl ⁻		Dosage par électrode
Ca ²⁺		Colorimétrie : ARSENAZO III
Mg ²⁺		Colorimétrie : bleu xylydyl
HPO ₄ ²⁻		Méthode UV

Tableau 5b : Méthodes d'analyses des différents paramètres de l'ENVA

Paramètre	Analyseur	Procédé de dosage
NFS	Idexx VetAutoread®	Fluorescence après coloration à l'orange acridine des acides nucléiques
Biochimie	Idexx VetTest®	Chimie sèche sur plaque

*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

E) Traitement des données

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel Epi info[®]. Les valeurs aberrantes, c'est-à-dire les valeurs incompatibles avec le statut de cheval sain et entraîné, ont été retirées pour l'analyse des données. Un test de Mann-Whitney (ou test de Wilcoxon) a été effectué pour chaque paramètre, afin de mettre en évidence une éventuelle différence significative entre la médiane obtenue pour les chevaux ayant fini la course, les chevaux classés, et ceux ayant été éliminés.

Le résultat de ce test est donné par sa p-value :

- p-value < 0,05 : il y a une différence significative entre la médiane des chevaux classés et celle des chevaux éliminés
- p-value ≥ 0,05 : il n'y a pas de différence significative entre la médiane des chevaux classés et celle des chevaux éliminés

Les résultats seront présentés sous forme d'histogrammes avec en abscisse des intervalles de valeur du paramètre mesuré et en ordonnée le nombre de chevaux dont le paramètre est compris dans l'intervalle.

Le nombre de barres de l'histogramme représente le nombre de classes. Il varie en fonction du nombre d'individus pour lesquels le paramètre a été mesuré, afin d'obtenir des graphiques représentatifs. Il est donné par la formule :

$$c = 5 \times \log_{10}(n)$$

avec c le nombre de classes, et n le nombre d'individus

Chaque histogramme sera accompagné d'un tableau regroupant les principales informations nécessaires à l'interprétation des données :

- ☞ nombre d'individus pour lequel le paramètre a été mesuré
- ☞ médiane et l'intervalle [5^{ème} percentile – 95^{ème} percentile]
- ☞ valeur minimum – valeur maximale du paramètre mesuré
- ☞ moyenne \pm 2×Standard Deviation (SD)

Les paramètres pour lesquels une différence significative est observée entre les chevaux classés et les chevaux éliminés seront signalés par une astérisque.

III. Résultat :

3. L'hématocrite

Figure 24 : Répartition des chevaux en fonction de l'hématocrite (Ht) en %

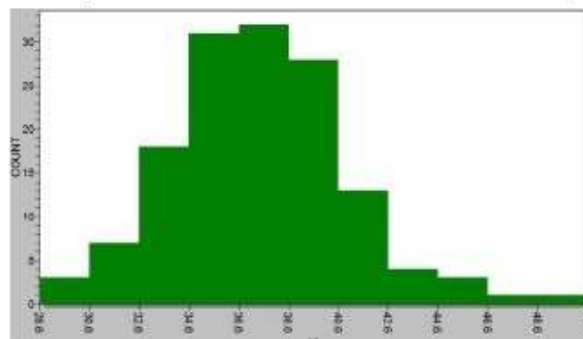


Tableau 8 : Résultats de l'analyse statistique de l'hématocrite

Hématocrite (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	37.3 [32,3 - 43,1]	36.8 [31,8 - 43,1]	37.0 [31,9-43,1]
Minimum-maximum	28.6 - 49.1	29.0 - 47.3	28.6 - 49.1
Moyenne $\pm 2 \times SD$	37.5 ± 7	37.1 ± 7	37.4 ± 7

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,344)

4. La TGMH et la CCMH

a) La TGMH

Figure 25 : Répartition des chevaux en fonction de la TGMH en pg

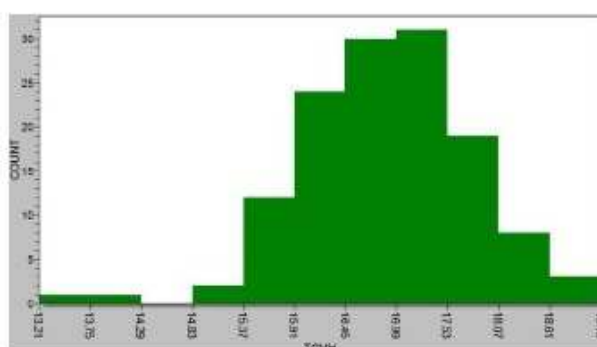


Tableau 9 : Résultats de l'analyse statistique de la TGMH

TGMH (en pg)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	82	49	131
Médiane [5%-95%]	16.81 [15,4 - 18,05]	16.97 [15,63 - 18,46]	16.93 [15,46-18,19]
Minimum - maximum	13,84 - 18,9	13,21 - 18,93	13,21 - 18,92
Moyenne $\pm 2 \times SD$	16.80 $\pm 1,80$	17.04 $\pm 1,90$	16.89 $\pm 1,84$

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0, 092)

b) La CCMH

Figure 26 : Répartition des chevaux en fonction de la CCMH en g/dL

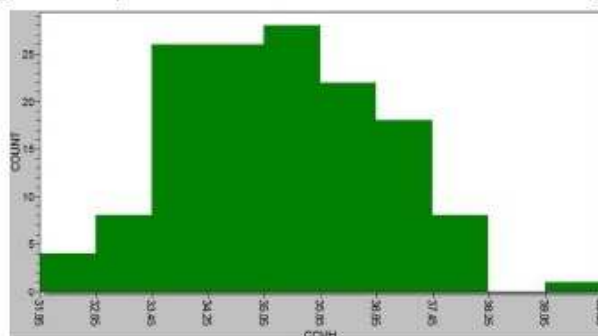


Tableau 10 : Résultats de l'analyse statistique de la CCMH

	CCMH (en g/dL)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	34,88 [32,88 - 37,61]	35,59 [33,96 - 37,59]	35,45 [33,33-37,59]
Minimum - maximum	31,85 - 39,8	31,95 - 38,07	31,85 - 39,8
Moyenne \pm 2 \times SD	35,19 \pm 2,99	35,53 \pm 2,29	35,31 \pm 2,77

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,139)

5. Le volume globulaire moyen

Figure 27 : Répartition des chevaux en fonction du volume globulaire moyen (VGM) en fL

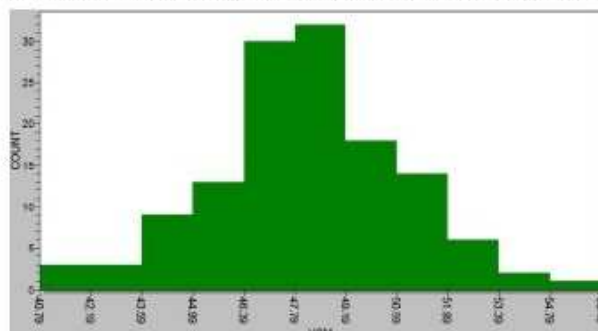


Tableau 11 : Résultats de l'analyse statistique du VGM

	VGM (en fL)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	82	49	131
Médiane [5%-95%]	48,03 [44,34 - 52,42]	48,17 [43 - 52,09]	48,03 [43,7-52,42]
Minimum-maximum	40,79 - 55,15	41,35 - 53,06	40,79 - 55,15
Moyenne \pm 2 \times SD	48,09 \pm 5,53	48,01 \pm 4,89	48,06 \pm 5,28

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,979)

6. Les leucocytes

a) Les leucocytes totaux

Figure 28 : Répartition des chevaux en fonction de la numération leucocytaire (Leuco) en leucocytes/mm³

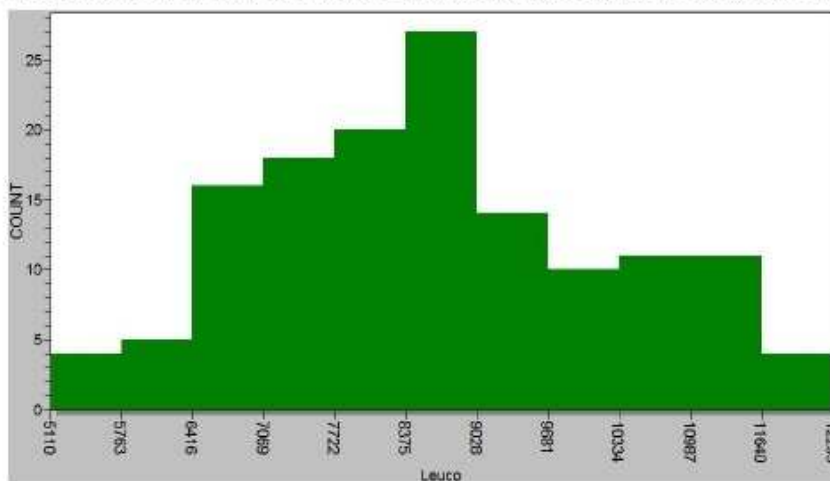


Tableau 12 : Résultats de l'analyse statistique de la numération leucocytaire

	Leucocytes (en cellules/mm ³)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	90	50	140
Médiane [5%-95%]	8395 [6120 - 11030]	8780 [6630 - 11790]	8485 [6120 - 11190]
Minimum-maximum	5110 - 11420	5760 - 12290	5110 - 12290
Moyenne \pm 2 \times SD	8440 \pm 3128	8945 \pm 3069	8620 \pm 3134

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,069)

b) Les granulocytes

i. Les granulocytes neutrophiles

➤ En valeur absolue

Figure 29 : Répartition des chevaux en fonction de la numération des granulocytes neutrophiles (PNN_abs) en cellules/mm³

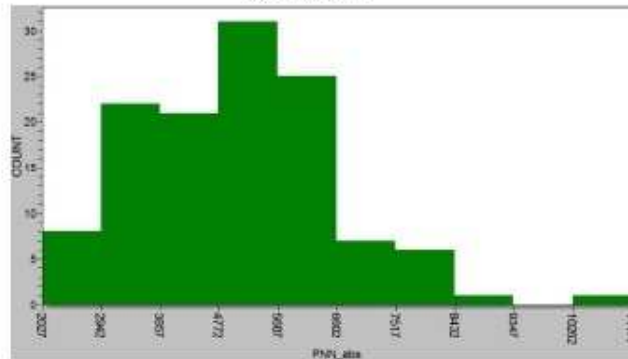


Tableau 13 : Résultats de l'analyse statistique de la numération des granulocytes neutrophiles

Granulocytes neutrophiles en valeur absolue (en cellules/mm ³)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	83	39	122
Médiane [5%-95%]	5142 [2778 - 7296]	5119 [2914 - 8714]	5131 [2838 - 7653]
Minimum - maximum	2027 - 8094	2626 - 11148	2027 - 11148
Moyenne ± 2×SD	4990 ± 2769	5226 ± 3631	5065 ± 3064

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,863)

➤ En valeur relative

Figure 30 : Répartition des chevaux en fonction du pourcentage de granulocytes neutrophiles (PNN) en %

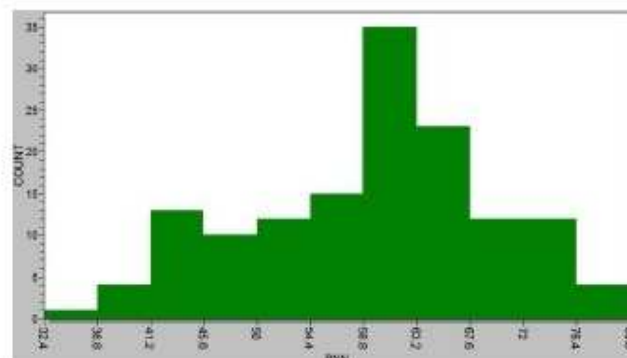


Tableau 14 : Résultats de l'analyse statistique du pourcentage de granulocytes neutrophiles

Granulocytes neutrophiles (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	60,4 [42,2 - 73]	61,7 [41,6 - 80,2]	60,8 [41,8 - 74,1]
Minimum - maximum	36,9 - 75	32,4 - 80,3	32,4 - 80,3
Moyenne ± 2×SD	58,7 ± 18,8	60,8 ± 22,8	59,4 ± 20,4

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,229)

ii. Les granulocytes éosinophiles

➤ En valeur absolue

Figure 31 : Répartition des chevaux en fonction de la numération de granulocytes éosinophiles (PNE_abs) en cellules/mm³

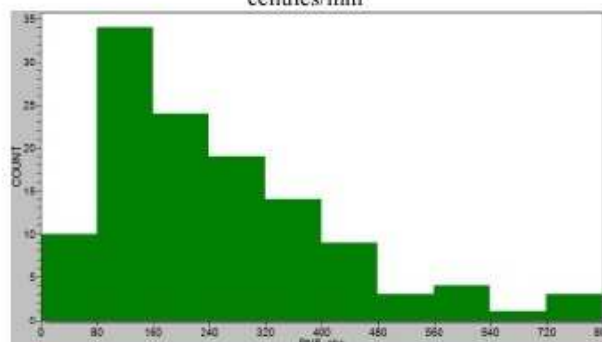


Tableau 15 : Résultats de l'analyse statistique du taux sanguin absolu de granulocytes éosinophiles

Granulocytes éosinophiles en valeur absolue (en cellules/mm ³)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	82	39	121
Médiane [5%-95%]	194 [58 - 525]	233 [52 - 666]	215 [52 - 598]
Minimum - maximum	0 - 757	48 - 788	0 - 788
Moyenne ± 2×SD	250 ± 327	253 ± 339	251 ± 330

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,996)

➤ En valeur relative

Figure 32 : Répartition des chevaux en fonction du pourcentage de granulocytes éosinophiles (PNE) en %

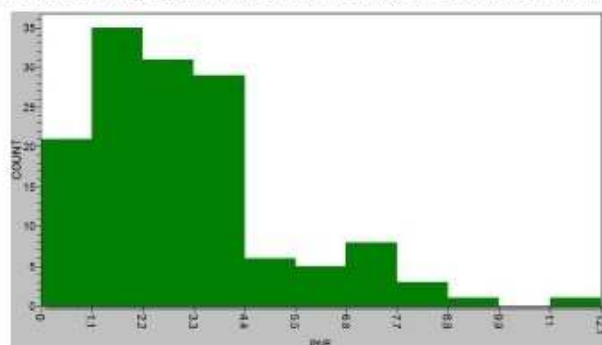


Tableau 16 : Résultats de l'analyse statistique du pourcentage de granulocytes éosinophiles

Granulocytes éosinophiles (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	90	50	140
Médiane [5%-95%]	2,7 [0,7 - 7,5]	2,4 [0,4 - 7,1]	2,6 [0,5 - 7,4]
Minimum - maximum	0 - 9,1	0 - 11	0 - 11
Moyenne ± 2×SD	3,2 ± 4,1	2,8 ± 4,3	3 ± 4,2

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,1740)

iii. Les granulocytes basophiles

➤ En valeur absolue

Figure 33 : Répartition des chevaux en fonction de la numération de granulocytes basophiles (PNB_abs) en cellules/mm³

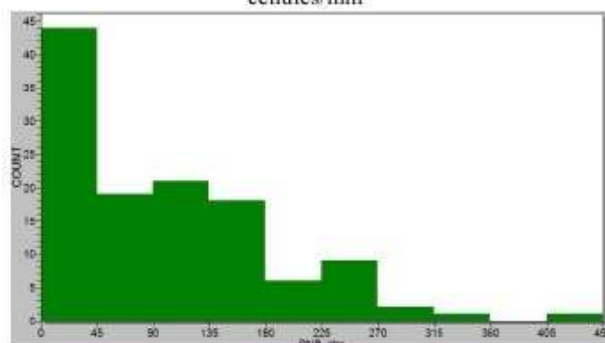


Tableau 17 : Résultats de l'analyse statistique de la numération des granulocytes basophiles

Granulocytes basophiles (en cellules/mm ³)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	82	39	121
Médiane [5%-95%]	74,5 [0 - 259]	108 [0 - 237]	86 [0 - 260]
Minimum- maximum	0 - 420	0 - 340	0 - 420
Moyenne ± 2×SD	90 ± 170	110 ± 186	96 ± 176

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,455)

➤ En valeur relative

Figure 34 : Répartition des chevaux en fonction pourcentage de granulocytes basophiles (en %)

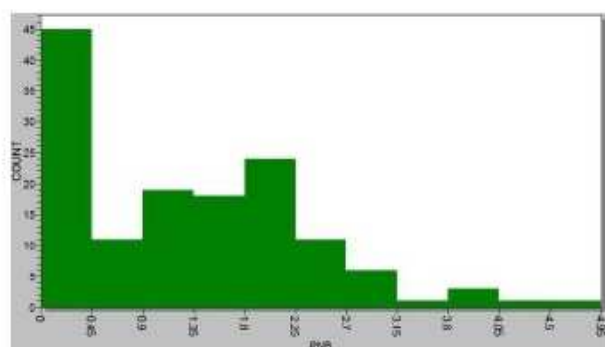


Tableau 18 : Résultats de l'analyse statistique du pourcentage de granulocytes basophiles

Granulocytes basophiles (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	90	50	140
Médiane [5%-95%]	1,1 [0 - 3,1]	1,6 [0 - 2,7]	1,2 [0 - 3]
Minimum - maximum	0 - 4,3	0 - 4,5	0 - 4,5
Moyenne ± 2×SD	1,2 ± 2	1,4 ± 2,1	1,3 ± 2,1

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,226)

c) Les lymphocytes
➤ En valeur absolue

Figure 35 : Répartition des chevaux en fonction de la numération lymphocytaire (lympho_abs) en cellules/mm³

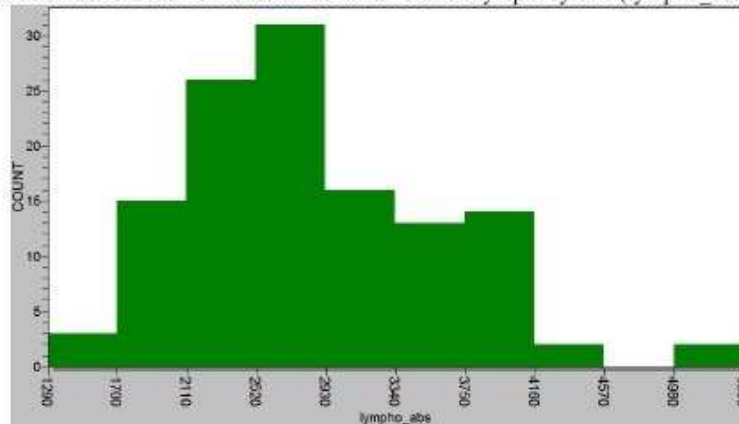


Tableau 19 : Résultats de l'analyse statistique de la numération lymphocytaire

Lymphocytes (en cellules/mm ³)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	83	39	122
Médiane [5%-95%]	2687 [1725 - 4108]	2873 [2022 - 4210]	2788 [1743 - 4108]
Minimum-maximum	1290 - 5041	2007 - 5310	1290 - 5310
Moyenne ± 2×SD	2791 ± 1526	2977 ± 1439	2851 ± 1504

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,221)

➤ En valeur relative

Figure 36 : Répartition des chevaux en fonction du pourcentage de lymphocytes (en %)

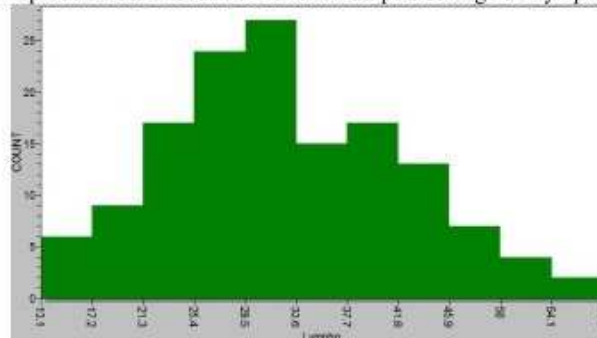


Tableau 20 : Résultats de l'analyse statistique du pourcentage de lymphocytes

Lymphocytes (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	32,8 [20,6 - 48,8]	30,6 [14,2 - 52,1]	31,3 [18 - 49]
Minimum-maximum	15 - 54,7	13,1 - 58,1	13,1 - 58,1
Moyenne ± 2×SD	33,3 ± 17,2	31,3 ± 21,2	32,6 ± 18,8

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,189)

d) Les monocytes
➤ En valeur absolue

Figure 37 : Répartition des chevaux en fonction de la numération monocyttaire (Mono abs) en monocytes/mm³

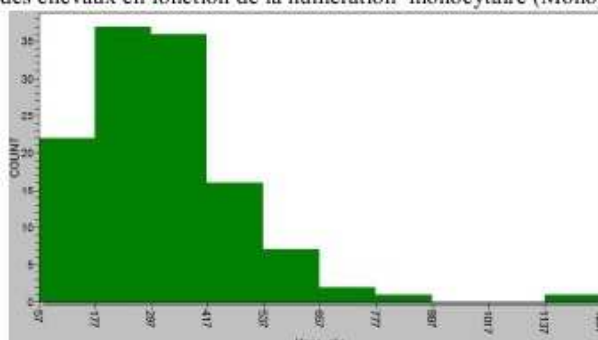


Tableau 21 : Résultats de l'analyse statistique de la numération monocyttaire

Monocytes en valeur absolue (en cellules/mm³)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	83	39	122
Médiane [5%-95%]	300 [131 - 560]	312 [119 - 658]	307 [131 - 609]
Minimum-maximum	57 - 819	102 - 1157	57 - 1157
Moyenne ± 2×SD	323 ± 290	340 ± 405	328 ± 326

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,952)

➤ En valeur relative

Figure 38 : Répartition des chevaux en fonction du pourcentage de monocytes (en %)

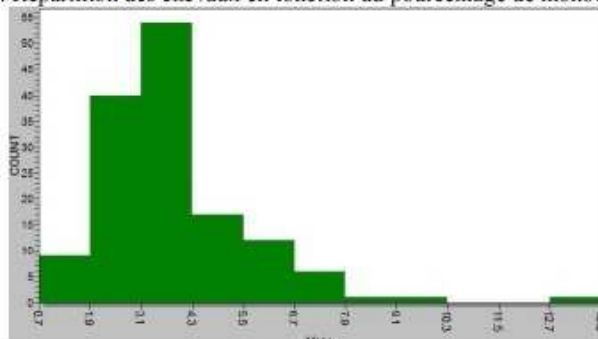


Tableau 22 : Résultats de l'analyse statistique du pourcentage de monocytes

Monocytes (en %)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	3,8 [1,5 - 7]	3,5 [1,8 - 7,1]	3,5 [1,7 - 7]
Minimum-maximum	0,7 - 10	1,1 - 13	0,7 - 13
Moyenne ± 2×SD	3,8 ± 3,3	3,7 ± 3,8	3,8 ± 3,5

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,331)

7. Les plaquettes (cf § III. B) 1. p.)

Figure 39 : Répartition des chevaux en fonction de la numération plaquettaire (Pqt) en plaquettes/mm³

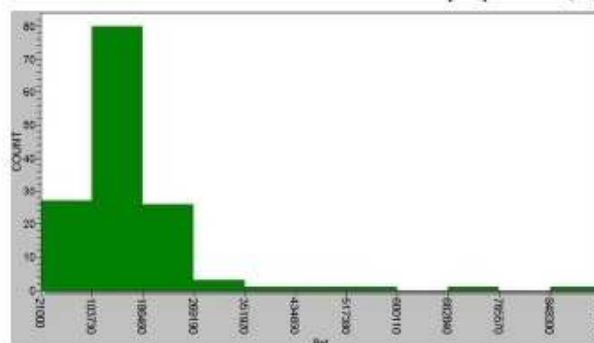


Tableau 23 : Résultats de l'analyse statistique de la numération plaquettaire

	Plaquettes (en cellules/mm ³)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	91	50	141
Médiane [5%-95%]	154000 [66000 - 304000]	157500 [59000 - 249000]	155000 [64000-283000]
Minimum-maximum	21000 - 910000	53000 - 480000	21000 - 910000
Moyenne ± 2×SD	173374 ± 241422	155660 ± 144679	167092 ± 212330

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,6775)

8. Le fibrinogène

Figure 40 : Répartition des chevaux en fonction de la fibrinogénémie en g/L

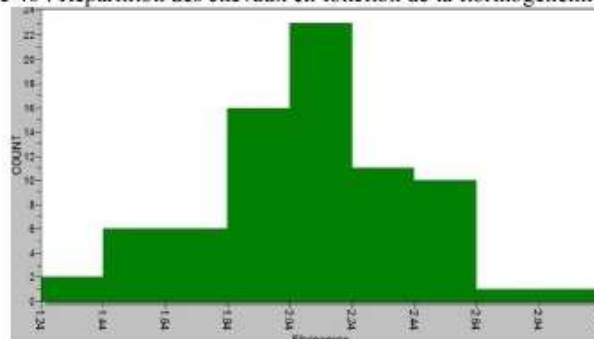


Tableau 24 : Résultats de l'analyse statistique de la fibrinogénémie

	Fibrinogène (en g/L)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	2,18 [1,57 - 2,61]	2,06 [1,46 - 2,55]	2,11 [1,51 - 2,59]
Minimum-maximum	1,37 - 2,87	1,24 - 2,56	1,24-2,87
Moyenne ± 2×SD	2,14 ± 0,62	2,02 ± 0,67	2,09 ± 0,65

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,131)

B) Les paramètres biochimiques

1. Les paramètres de l'exploration de la fonction hépatique

a) Les acides biliaires

Figure 41 : Répartition des chevaux en fonction du taux sanguin d'acides biliaires (ac_biliaires) en $\mu\text{mol/L}$

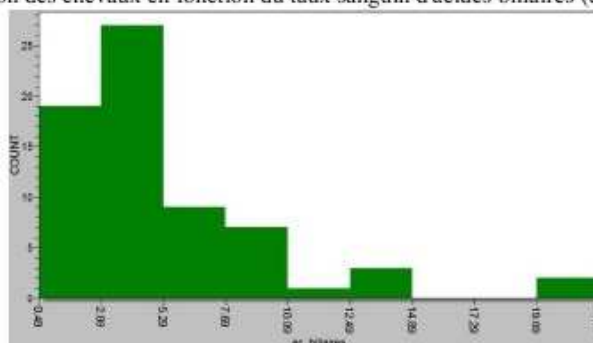


Tableau 25 : Résultats de l'analyse statistique du taux sanguin d'acides biliaires

Acides biliaires (en $\mu\text{mol/L}$)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	40	28	68
Médiane [5%-95%]	3,9 [1 -14,1]	4,3 [1 -10,2]	3,9 [1-16,6]
Minimum-maximum	1 - 21,9	0,5 - 13,6	0,5 - 21,9
Moyenne $\pm 2 \times \text{SD}$	5,3 \pm 9,3	4,7 \pm 6,6	5,0 \pm 8,3

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,975)

b) La bilirubine totale

Figure 42 : Répartition des chevaux en fonction de la bilirubinémie en mg/L

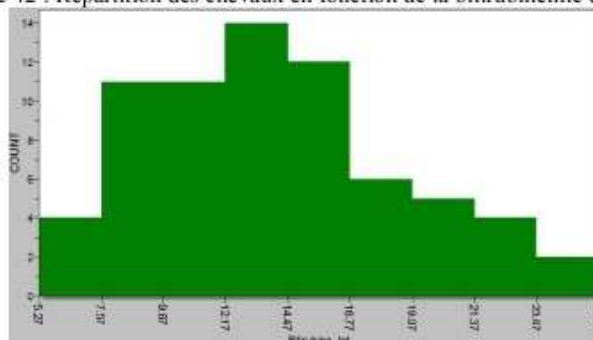


Tableau 26 : Résultats de l'analyse statistique de la bilirubinémie

Bilirubine totale* (en mg/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	40	29	69
Médiane [5%-95%]	15,0 [7 - 23,6]*	11,8 [7,2 - 19]*	13,8 [7,2 - 23,3]
Minimum-maximum	5,27 - 25,3	7,1 - 21,9	5,3 - 25,3
Moyenne $\pm 2 \times \text{SD}$	15,4 \pm 9,7	12,1 \pm 7,3	14,0 \pm 9,3

(*Test de Mann-Whitney : p-value = 0,003, différence significative entre chevaux classés et éliminés)

c) La gamma glutamyl transférase

Figure 43 : Répartition des chevaux en fonction de l'activité sérique de la GGT en UI/L à 30°C

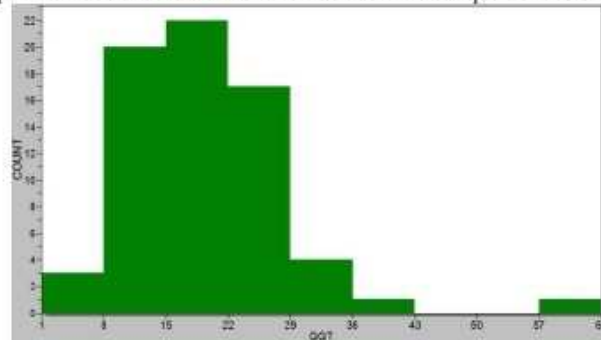


Tableau 27 : Résultats de l'analyse statistique de l'activité sérique de la GGT

GGT (en UI/L à 30°C)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	39	29	68
Médiane [5%-95%]	16 [5 - 32]	19 [11 - 34]	17 [8 - 33]
Minimum-maximum	1 - 57	8 - 39	1 - 57
Moyenne \pm 2 \times SD	17 \pm 19	20 \pm 14	18 \pm 17

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,053)

d) Les protéines totales

Figure 44 : Répartition des chevaux en fonction de la protéinémie (prot_tot) en g/L

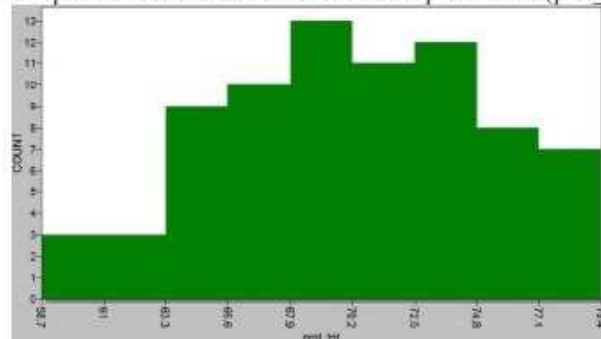


Tableau 28 : Résultats de l'analyse statistique de la protéinémie

Protéines totales (en g/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	70,4 [64,4 - 77,5]	69,7 [60,2 - 76,8]	70,2 [62,4 - 77,5]
Minimum-maximum	59,7 - 79	58,7 - 78,8	58,7 - 79
Moyenne \pm 2 \times SD	70,4 \pm 9,6	69,2 \pm 9,6	70,2 \pm 9,7

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,198)

2. Les paramètres de l'exploration de la fonction rénale

a) La créatinine

Figure 45 : Répartition des chevaux en fonction de la créatininémie (Creat) en mg/L.

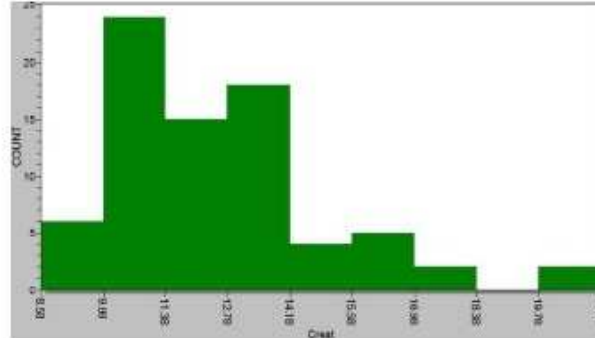


Tableau 29 : Résultats de l'analyse statistique de la créatininémie

Créatinine (en mg/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	11,7 [9,5 - 17,9]	11,6 [9,1 - 14,6]	11,6 [9,4 - 17,9]
Minimum-maximum	9,2 - 21	8,6 - 20,3	8,6 - 21
Moyenne \pm 2 \times SD	12,6 \pm 5,2	12,2 \pm 4,5	12,4 \pm 4,9

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,722)

b) L'urée

Figure 46 : Répartition des chevaux en fonction de l'urémie en g/L.

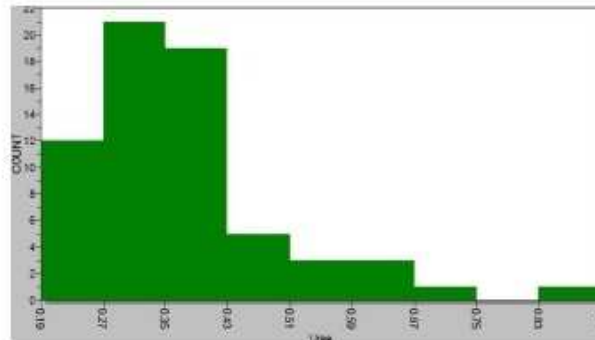


Tableau 30 : Résultats de l'analyse statistique de l'urémie

Urée (en g/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	0,36 [0,21 - 0,58]	0,34 [0,22 - 0,65]	0,36 [0,21 - 0,64]
Minimum-maximum	0,19 - 0,87	0,20 - 0,72	0,19 - 0,87
Moyenne \pm 2 \times SD	0,37 \pm 0,24	0,36 \pm 0,26	0,37 \pm 0,25

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,636)

3. Les paramètres de l'exploration de l'intégrité du tissu musculaire

a) La créatine-kinase

Figure 47 : Répartition des chevaux en fonction de l'activité sérique de la CK en UI/L

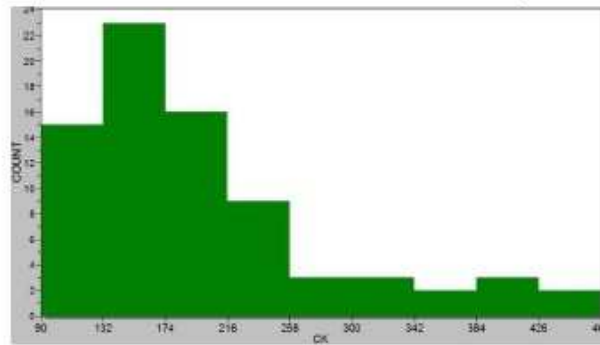


Tableau 31 : Résultats de l'analyse statistique de l'activité sérique de la CK

	CK (en UI/L)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	190 [111 - 386]	163 [96 - 406]	174 [99 - 406]
Minimum-maximum	98 - 427	90 - 466	90 - 466
Moyenne \pm 2 \times SD	207 \pm 165	182 \pm 173	197 \pm 169

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,082)

b) L'aspartate aminotransférase

Figure 48 : Répartition des chevaux en fonction de l'activité sérique de l'AST (en UI/L)

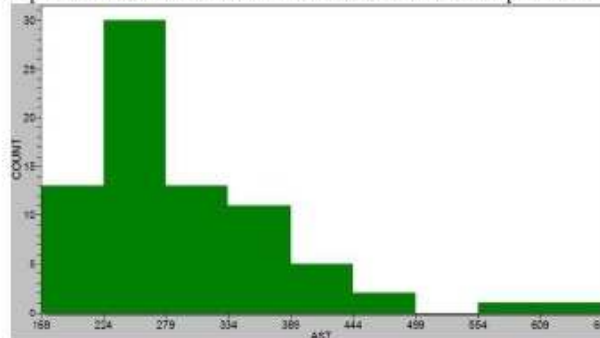


Tableau 32 : Résultats de l'analyse statistique de l'activité sérique de l'AST

	AST (en UI/L)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	46	30	76
Médiane [5%-95%]	261 [195 - 454]	292 [197 - 434]	272 [195 - 454]
Minimum-maximum	184 - 557	169 - 657	169 - 657
Moyenne \pm 2 \times SD	287 \pm 169	294 \pm 179	294 \pm 173

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,137)

4. Les paramètres de l'exploration du système antioxydant

a) La glutathion peroxydase

Figure 49 : Répartition des chevaux en fonction de l'activité plasmatique de la GPX en UI/g d'hémoglobine

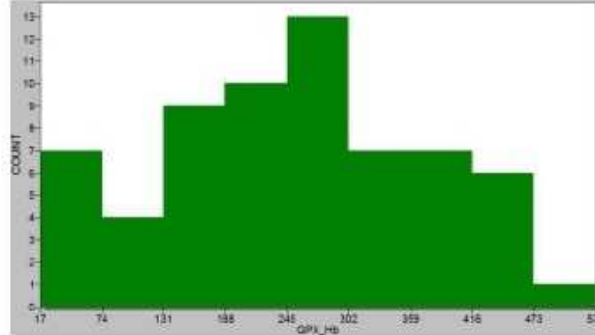


Tableau 33 : Résultats de l'analyse statistique de l'activité plasmatique de la GPX

GPX (en UI/g Hb)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	40	24	64
Médiane [5%-95%]	264 [33 - 444]	239 [33 - 389]	252 [33 - 435]
Minimum-maximum	17 - 527	23 - 419	17 - 527
Moyenne $\pm 2 \times SD$	273 \pm 253	216 \pm 217	251 \pm 244

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,076)

b) La superoxyde dismutase

Figure 50 : Répartition des chevaux en fonction de l'activité plasmatique de la SOD en UI/g d'hémoglobine

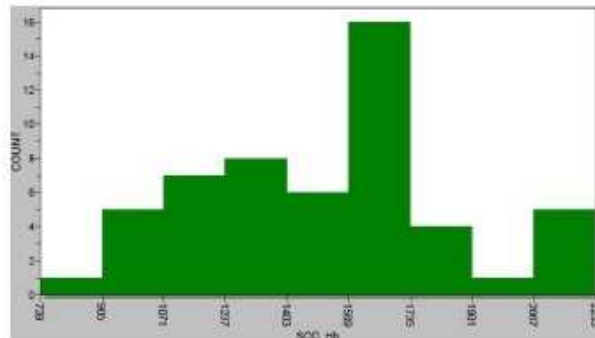


Tableau 34 : Résultats de l'analyse statistique de l'activité plasmatique de la SOD

SOD (en UI/g Hb)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	40	24	64
Médiane [5%-95%]	1670 [907 - 2009]	1402 [1025 - 2110]	1567 [1025 - 2101]
Minimum-maximum	739 - 2221	1006 - 2228	739 - 2228
Moyenne $\pm 2 \times SD$	1588 \pm 651	1472 \pm 718	1545 \pm 681

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,100)

5. Le ionogramme

a) Les ions monovalents

i. Le sodium

Figure 51 : Répartition des chevaux en fonction de la natrémie (Na) en mmol/L.

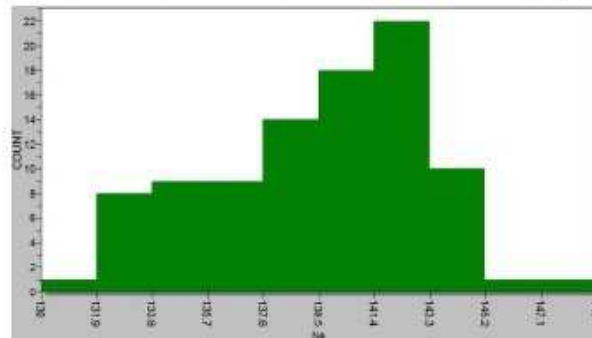


Tableau 35 : Résultats de l'analyse statistique de la natrémie

	Na ⁺ (mmol/L)		Effectif total
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	
Nombre d'individus	66	27	93
Médiane [5%-95%]	140 [133 - 145]	141 [133 - 144]	140 [133 - 145]
Minimum-maximum	132 - 148	130 - 145	130 - 148
Moyenne ± 2×SD	139 ± 8	140 ± 8	139 ± 8

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,601)

ii. Le potassium

Figure 52 : Répartition des chevaux en fonction de la kaliémie (K) en mmol/L.

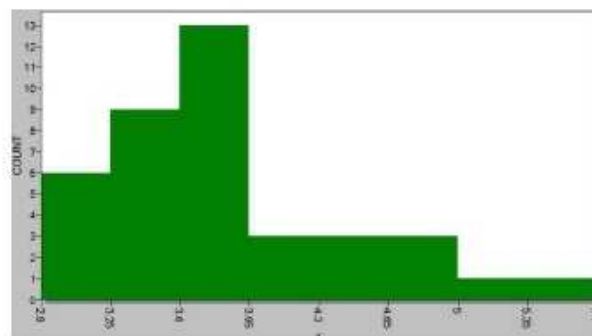


Tableau 36 : Résultats de l'analyse statistique de la kaliémie

	K ⁺ (en mmol/L)		Effectif total
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	
Nombre d'individus	30	9	39
Médiane [5%-95%]	3,6 [3,1 - 4,9]	4,3 [3,2 - 5,3]	3,6 [3,1 - 5,3]
Minimum-maximum	2,9 - 5,4	3,2 - 5,3	2,9 - 5,4
Moyenne ± 2×SD	3,7 ± 1	4,1 ± 1,5	3,8 ± 1,2

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,187)

iii. Le chlore

Figure 53 : Répartition des chevaux en fonction de la chlorémie (Cl) en mmol/L

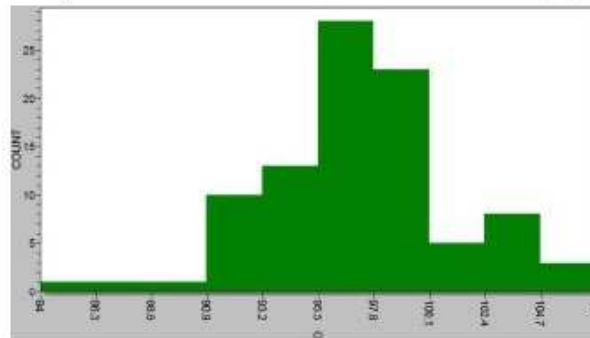


Tableau 37 : Résultats de l'analyse statistique de la chlorémie

Cl ⁻ (en mmol/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	66	27	93
Médiane [5%-95%]	97 [91 - 104]	98 [91 - 104]	97 [91 - 104]
Minimum-maximum	84 - 105	89 - 106	84 - 106
Moyenne \pm 2 \times SD	97 \pm 8	98 \pm 8	97 \pm 8

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,141)

b) Les ions divalents

i. Le calcium

Figure 54 : Répartition des chevaux en fonction de la calcémie totale en mg/L

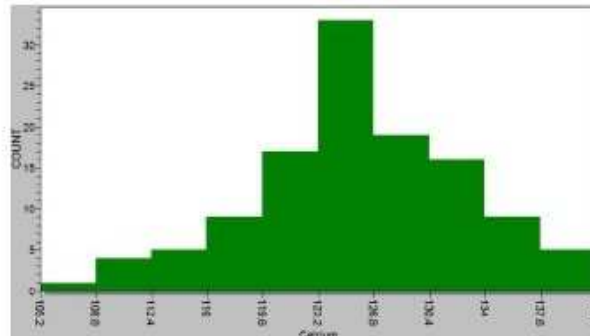


Tableau 38 : Résultats de l'analyse statistique de la calcémie totale

Calcium total (en mg/L)			
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	81	49	130
Médiane [5%-95%]	125,7 [113,7 - 134,9]	125,6 [115,9 - 138,2]	125,7 [114,2 - 137,4]
Minimum-maximum	109,2 - 138,1	105,2 - 140,8	105,2 - 140,8
Moyenne \pm 2 \times SD	124,9 \pm 13,2	126,6 \pm 14,7	125,5 \pm 13,8

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,360)

ii. Le magnésium

Figure 55 : Répartition des chevaux en fonction de la magnésémie (Mg) en mg/L

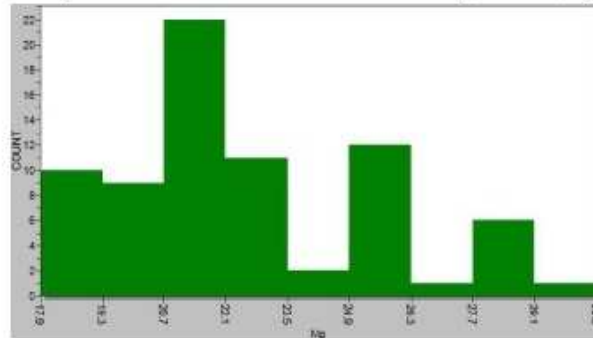


Tableau 39 : Résultats de l'analyse statistique de la magnésémie

	Magnésium (en mg/L)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	58	27	85
Médiane [5%-95%]	21,4 [18 - 28,6]	21,6 [18,2 - 28,1]	21,5 [18,2 - 28,2]
Minimum-maximum	17,9 - 29,8	18,2 - 28,8	17,9 - 29,8
Moyenne \pm 2 \times SD	22,2 \pm 5,9	22,4 \pm 6,1	22,2 \pm 6

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,734)

iii. Le phosphore

Figure 56 : Répartition des chevaux en fonction de la phosphatémie (P) en mg/L

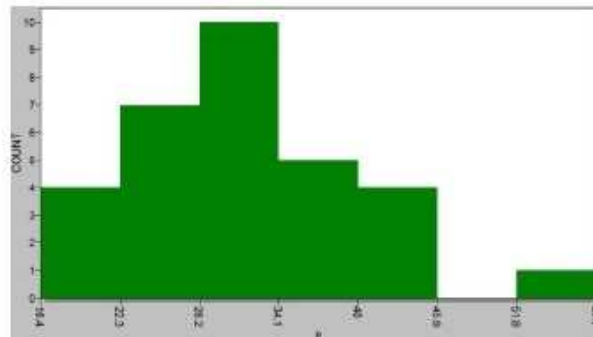


Tableau 40 : Résultats de l'analyse statistique de la phosphatémie

	Phosphore (en mg/L)		
	Chevaux classés	Chevaux éliminés	Effectif total
Nombre d'individus	24	7	31
Médiane [5%-95%]	31,3 [21,7 - 43,8]	24,3 [16,4 - 38,5]	31,1 [20,6 - 43,8]
Minimum-maximum	21,6 - 57,1	16,4 - 38,5	16,4 - 57,1
Moyenne \pm 2 \times SD	32,7 \pm 16,2	28,2 \pm 18,5	31,6 \pm 16,8

(Test de Mann-Whitney : p-value = 0,277)

L'ensemble des résultats est récapitulé dans les deux tableaux suivants :

Tableau 41a : Récapitulatif des résultats des examens hématologiques

Les résultats entre crochets représentent l'intervalle [5^{ème} percentile – 95^{ème} percentile]

Paramètre	Unité	Chevaux classés	Chevaux éliminés	p-value	
Érythrocytes	10 ⁶ ℄/mm ³	7,70 [6,75 - 9,14]	7,61 [6,81 - 8,96]	0,600	
Hémoglobine	g/dL	13,0 [11,4 - 15,4]	13,0 [11,5 - 15,4]	0,895	
Hématocrite	%	37,3 [32,3 - 43,1]	36,8 [31,8 - 43,1]	0,344	
TGMH	pg	16,81 [15,4 - 18,05]	16,97 [15,63 - 18,46]	0,092	
CCMH	g/dL	34,88 [32,88 - 37,61]	35,59 [33,96 - 37,59]	0,139	
VGM	fL	48,03 [44,34 - 52,42]	48,17 [43 - 52,09]	0,979	
Leucocytes totaux	℄/mm ³	8395 [6120 - 11030]	8780 [6630 - 11790]	0,069	
GN	valeur absolue	℄/mm ³	5142 [2778 - 7296]	5119 [2914 - 8714]	0,863
	valeur relative	%	60,4 [42,2 - 73]	61,7 [41,6 - 80,2]	0,229
GE	valeur absolue	℄/mm ³	194 [58 - 525]	233 [52 - 666]	0,996
	valeur relative	%	2,7 [0,7 - 7,5]	2,4 [0,4 - 7,1]	0,174
GB	valeur absolue	℄/mm ³	74,5 [0 - 259]	108 [0 - 237]	0,455
	valeur relative	%	1,1 [0 - 3,1]	1,6 [0 - 2,7]	0,226
Lymphocytes	valeur absolue	℄/mm ³	2687 [1725 - 4108]	2873 [2022 - 4210]	0,221
	valeur relative	%	32,8 [20,6 - 48,8]	30,6 [14,2 - 52,1]	0,189
Monocytes	valeur absolue	℄/mm ³	300 [131 - 560]	312 [119 - 658]	0,952
	valeur relative	%	3,8 [1,5 - 7]	3,5 [1,8 - 7,1]	0,331
Plaquettes	10 ³ ℄/mm ³	154 [66 - 304]	157,5 [59 - 249]	0,678	
Fibrinogène	g/L	2,18 [1,57 - 2,61]	2,06 [1,46 - 2,55]	0,131	

Paramètre	Unité	Chevaux classés	Chevaux éliminés	p-value
Acides biliaires	μmol/L	3,9 [1 - 14,1]	4,3 [1 - 10,2]	0,975
Bilirubine	mg/L	15,0 [7 - 23,6]*	11,8 [7,2 - 19]*	0,003*
GGT	UI/L	16 [5 - 32]	19 [11 - 34]	0,053
PT	g/L	70,4 [64,4 - 77,5]	69,7 [60,2 - 76,8]	0,198
Créatinine	mg/L	11,7 [9,5 - 17,9]	11,6 [9,1 - 14,6]	0,722
Urée	g/L	0,36 [0,21 - 0,58]	0,34 [0,22 - 0,65]	0,636
CK	UI/L	190 [111 - 386]	163 [96 - 406]	0,082
AST	UI/L	261 [195 - 454]	292 [197 - 434]	0,137
GPX	UI/gHb	264 [33 - 444]	239 [33 - 389]	0,076
SOD	UI/gHb	1670 [907 - 2009]	1402 [1025 - 2110]	0,100
Na	mmol/L	140 [133 - 145]	141 [133 - 144]	0,601
K	mmol/L	3,6 [3,1 - 4,9]	4,3 [3,2 - 5,3]	0,187
Cl	mmol/L	97 [91 - 104]	98 [91 - 104]	0,141
C _{total}	mg/L	125,7 [113,7 - 134,9]	125,6 [115,9 - 138,2]	0,360
Mg	mg/L	21,4 [18 - 28,6]	21,6 [18,2 - 28,1]	0,734
P	mg/L	31,3 [21,7 - 43,8]	24,3 [16,4 - 38,5]	0,277

Les résultats entre crochets représentent l'intervalle [5^{ème} percentile – 95^{ème} percentile]

*il y a une différence significative entre chevaux classés et chevaux éliminés

III. Discussion

A) Limites du protocole

1. Biais d'échantillonnage

a) Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon varie selon le paramètre pris en considération. En ce qui concerne les paramètres hématologiques, l'échantillon compte toujours plus de 100 individus, ce qui est satisfaisant en termes de précision du résultat obtenu. Par contre, pour ce qui est de certains électrolytes, le potassium et le phosphore, où respectivement seuls 39 et 31 prélèvements entrent dans l'étude, la précision est bien moindre. Néanmoins, comparé aux données disponibles dans la littérature sur d'autres effectifs (Al-Qudah, 2008 ; Barton *et al.*, 2003 ; Weiss *et al.*, 2002 ; Rose, 1982 ; Rose *et al.* 1983 ; Fregin, 1980 ; Carlson et Mansmann, 1974 ; Muñoz *et al.*, 2010 ; Gondim *et al.*, 2009 ; Rose *et al.*, 1983), la population étudiée apparaît de bonne taille même pour les paramètres les moins souvent mesurés.

b) Représentativité de l'échantillon

Les chevaux ont été prélevés en partie sur la base du volontariat et non tirés au sort, ce qui biaise la représentativité de l'échantillon. Il s'agit cependant toujours de chevaux de haut niveau (courant sur des courses de 119 à 160 km) et pour une grande partie d'entre eux, de chevaux d'élite sélectionnés en Equipe de France et dont certains ont été sur le podium à l'issue de la course le lendemain du prélèvement.

c) Indépendance des individus

Les individus n'étaient pas indépendants car ils participaient aux mêmes courses, et 15 chevaux ont été prélevés à l'occasion de plusieurs courses.

2. Conservation et analyse des prélèvements

a) Délai d'acheminement

Les courses d'endurance équestre ont généralement lieu le samedi. Les prélèvements ont le plus souvent lieu le vendredi après-midi et n'ont été réceptionnés par le LDFD que le lundi matin, soit 60 heures plus tard. Or la mesure de certains paramètres peut être modifiée si l'analyse est réalisée plus de 24 heures après le prélèvement, avec par exemple :

- une légère augmentation de l'hématocrite et de la CCMH (Stewart *et al.*, 1977)
pseudothrombocytopénie par agrégation des plaquettes (Piccione *et al.*, 2010)
- des modifications morphologiques des leucocytes qui peuvent entraîner la classification par l'analyseur Advia 120[®] des granulocytes basophiles en cellules mononucléées (Clark *et al.*, 2002)

b) Méthode de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés par des opérateurs expérimentés à l'aide du système Vacutainer[®] sur des chevaux calmes et habitués aux manipulations. Ceci contribue à l'obtention de prélèvements de bonne qualité, non hémolysés. L'EDTA contenu dans les tubes de prélèvement peut entraîner une pseudo-thrombocytopenie (Hinchcliff, 1993).

3. Facteurs de confusion

a) Influence du transport

Les prélèvements ont été réalisés sur le lieu de la course, ce qui signifie que les chevaux avaient été transportés dans les heures ou les jours précédant la prise de sang. Le transport entraîne des variations des paramètres hématologiques et biochimiques chez les chevaux en raison du stress, du travail musculaire nécessaire au cheval pour garder son équilibre et de la déshydratation :

- une augmentation du nombre d'hématies, de la protéinémie, ainsi que des enzymes musculaires après un transport long (Carlson, 2009).
- Une diminution de la natrémie, de la chlorémie, de la réserve alcaline (Barton *et al.*, 2003)

Les conséquences du transport étaient probablement inégales selon les chevaux qui n'avaient ni le même temps ni les mêmes conditions de transport.

De plus, le transport, mais aussi l'arrivée sur un lieu nouveau pour le cheval engendrent un stress et donc la modification du leucogramme (Carakostas *et al.*, 1981^a; Carakostas *et al.*, 1981^b; Osbaldiston et Johnson, 1972).

On peut supposer que, en raison de leurs qualifications et donc de leur expérience, les chevaux prélevés ici étaient habitués à être transportés ; les effets du transport étaient donc moins marqués que sur des chevaux plus novices sans pour autant être négligeables. Cette limite était connue et acceptée car les courses sont l'endroit le plus facile pour avoir accès à un nombre d'emblée élevé de chevaux de même niveau.

b) Influence du dopage

Bien que l'endurance équestre soit la 3^{ème} discipline la plus contrôlée dans le domaine des sports équestre par l'Agence Française de Lutte contre le Dopage [d], tous les chevaux n'étant pas soumis à des contrôles anti-dopage, il est possible que des chevaux de l'échantillon aient été dopés et donc que certains des paramètres sanguins mesurés aient été modifiés.

Les substances les plus utilisées sont :

- les Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) : phénylbutazone, flunixinine méglumine, firocoxib,...etc
- les corticostéroïdes
- l'hormone de croissance

Les AINS avec par exemple, par ordre de toxicité croissante, le kétoprofène, la flunixinine méglumine et la phénylbutazone peuvent entraîner des dommages rénaux (Mac Allister *et al.*, 1993). Cela a pour conséquences une hypoprotéïnémie et une hypoalbuminémie, une augmentation de l'urémie, de la créatininémie et de la phosphorémie, et une diminution de la calcémie totale (Schmitz, 2007).

Les corticoïdes peuvent entraîner une éosinopénie (Latimer et Rakich, 1992) et augmenter le nombre de neutrophiles hypersegmentés, par retard de migration des vaisseaux vers les tissus (Welles, 2010).

B) Interprétation

1. Proportions de données exploitables

Certaines valeurs dites aberrantes ont été exclues de l'analyse statistique. Les proportions de ces valeurs aberrantes pour les différents paramètres sont regroupées dans le tableau 42.

Les données concernant les plaquettes posent problème car elles semblent anormalement basses pour des chevaux en bonne santé. Ces valeurs pourraient s'expliquer par un délai d'acheminement au laboratoire trop long. D'autre part, chez l'Homme, il a déjà été constaté que des athlètes d'endurance de haut niveau présentaient une numération plaquettaire plus basse par rapport à des hommes non entraînés (Broadbent, 2011). L'entraînement d'endurance inhiberait l'activation et

l'agrégation plaquettaires. Ce phénomène n'a pas encore été rapporté chez le cheval mais pourrait être une adaptation à l'effort d'endurance.

Etant donnée la difficulté de distinguer une adaptation à l'effort d'endurance d'un artefact technique, les résultats des numérations plaquettaires seront exclus de l'interprétation.

Tableau 42 : Pourcentages de valeurs exploitables pour les différents paramètres

Paramètre	n _p	n _e	%	Cause d'élimination	
NFS					
Érythrocytes	131	131	100	Valeur très supérieure à la norme (1)	
Hémoglobine	141	141	100		
Hématocrite	141	141	100		
TGMH	131	131	100		
CCMH	141	141	100		
VGM	131	131	100		
Leucocytes totaux	141	140	99		
GN	valeur absolue	122	100		
	valeur relative	141	100		
GE	valeur absolue	121	100		
	valeur relative	140	100		
GB	valeur absolue	121	100		
	valeur relative	140	100		
Lymphocytes	valeur absolue	122	100		
	valeur relative	141	100		
Monocytes	valeur absolue	122	100		
	valeur relative	141	100		
Plaquettes	141	0	0		Ensemble des valeurs inexploitable (2)
Fibrinogène	76	76	100		
Biochimie					
Acides biliaires	69	68	99	Valeur très supérieure à la norme (3)	
Bilirubine	69	69	100	Valeur très supérieure à la norme (4)	
GGT	69	68	99		
Protéines totales	76	76	100		
Créatinine	76	76	100		
Urée	76	76	100		
CK	76	76	100		
AST	76	76	100		
GPX	64	64	100		
SOD	64	64	100		
Ionogramme					
Na ⁺	103	93	90	Valeurs inférieures à la norme (5)	
K ⁺	103	39	38	Valeurs très supérieures à la norme (6)	
Cl ⁻	103	93	90	Valeurs supérieures à la norme (7)	
Calcium	129	129	100		
Magnésium	85	85	100		
Phosphore	31	31	100		

nombre de chevaux prélevés pour le paramètre considéré

n_e : nombre de données exploitées pour le paramètre considéré

- (1) Une valeur > 15 000 cellules/mm³
- (2) 25 valeurs < 100 000 plaquettes/mm³ et 26 valeurs > 200 000
- (3) Une valeur > 45 µmol/L
- (4) Une valeur > 100 UI/L
- (5) 10 valeurs < 130 mmol/L (course de Compiègne en 2009)
- (6) Avant 2009, presque toutes les valeurs > 5,5 mmol/L
- (7) 10 valeurs supérieures à 107 mmol/L (course de Compiègne en 2009)

2. Proposition de valeurs de référence

a) Applicabilité de l'étude

Cette étude, si elle présente des limites, a l'avantage de reproduire les conditions de terrain auxquelles sont confrontés les vétérinaires praticiens et d'être donc assez représentative de la réalité. L'étude a, de plus, été réalisée sur un nombre conséquent de chevaux par rapports aux études similaires précédentes comme le montrent les tableaux 43, 44 et 45, qui présentent les résultats de prélèvements effectués la veille de courses sur des chevaux d'endurance de haut niveau.

Tableau 43 : Résultats d'études précédentes sur les paramètres hématologiques pré-course chez le cheval d'endurance de haut niveau

Auteurs (année)	Distance (km)	Hématies (millions/mm) ³	Hémoglobine (g/dL)	Hématocrite (%)
<i>Parot (2011)</i>	<i>120-160</i>	<i>7,77 ± 1,49 (131)</i>	<i>13,2 ± 2,5 (141)</i>	<i>37,4 ± 7 (141)</i>
KM Al-Qudah (2008)	120	7,85 ± 1,25 (9)	13,27 ± 1,15 (9)	38 ± 1,2 (9)
Barton <i>et al.</i> (2003)		-	-	36,4 ± 5,5 (23)
Weiss <i>et al.</i> (2002)	61,7*	7,85 ± 0,56 (7)	-	36,2 ± 2,5 (7)
Rose (1982)	160	-	-	37 ± 1 (14)
Fregin (1980)	160	-	-	39 (117)
Carlson et Mansmann (1974)	160	-	-	35 ± 0,4 (42)

La ligne en italique reprend les résultats de la présente étude

* : course de sélection pour les Championnat du Monde d'Endurance

Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre de chevaux inclus dans l'étude

Les valeurs représentent la moyenne ± 2×SD de chaque paramètre

Les écart-types de notre étude sont plus importants que ceux des études précédentes, ce qui peut s'expliquer par des effectifs plus importants et plus hétérogènes dans notre cas.

Tableau 44 : Résultats d'études précédentes sur les paramètres biochimiques pré-course chez le cheval d'endurance de haut niveau

Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre de chevaux inclus dans l'étude

Les valeurs représentent la moyenne $\pm 2 \times SD$ de chaque paramètre

Tableau 45a : Résultats d'études précédentes sur le ionogramme pré-course chez le cheval d'endurance de haut

Auteurs (année)	Distance (km)	PT (g/L)	CK (UI/L)	GPX (UI/gHb)
<i>Parot (2011)</i>	<i>120-160</i>	<i>70,7 \pm 9,5 (76)</i>	<i>194 \pm 163 (76)</i>	<i>251 \pm 244 (64)</i>
A.Muñoz <i>et al.</i> (2010)	166	64,64 \pm 0,85 (10)	131,1 \pm 7,022 (10)	-
FJ Gondim <i>et al.</i> (2009)	210	-	124,6 \pm 26,2 (9)	-
KM Al-Qudah <i>et al.</i> (2008)	120	61 \pm 5 (9)	560 \pm 11 (9)	76 \pm 10 (9)
Barton <i>et al.</i> (2003)	160	61 \pm 2 (24)	-	-
Rose (1982)	160	68,5 \pm 1,8 (14)	-	-
Fregin (1980)	160	68 (117)	-	-
Carlson et Mansmann (1974)	160	67 \pm 0,5 (42)	-	-

Niveau

La ligne en italique reprend les résultats de la présente étude

Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre de chevaux inclus dans l'étude

Auteurs (années)	Distance (km)	Na ⁺ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)
<i>Parot (2011)</i>	<i>120-160</i>	<i>139 \pm 8 (93)</i>	<i>3,8 \pm 1,2 (39)</i>	<i>97 \pm 8 (93)</i>
A.Muñoz <i>et al.</i> (2010)	166	146.2 \pm 0.871 (10)	4.147 \pm 0.094 (10)	107.6 \pm 0.589 (10)
KM Al-Qudah <i>et al.</i> (2008)	120	141 \pm 5,0 (9)	3,8 \pm 0,4 (9)	103 \pm 4,0 (9)
Barton <i>et al.</i> (2003)	160	140,9 \pm 2,9 (24)	3,9 \pm 0,4 (24)	109,3 \pm 2,8 (24)
Rose, <i>et al.</i> (1983)	160	137,0 \pm 0,5 (14)	3,4 \pm 0,2 (14)	100,9 \pm 0,4 (14)
Fregin (1980)	160	137,3(117)	2,9 (117)	103,3 (117)
Carlson et Mansmann (1974)	160	139 \pm 0,6 (42)	3,6 \pm 0,09	101,1 \pm 0,6

La ligne en italique reprend les résultats de la présente étude

Les valeurs représentent la moyenne $\pm 2 \times SD$ de chaque paramètre

Tableau 45b : Résultats d'études précédentes sur le ionogramme pré-course chez le cheval d'endurance de haut niveau

Auteurs (année)	Distance (km)	Ca total (mg/L)	Mg (mg/L)	P (mg/L)
<i>Parot (2011)</i>	<i>120 - 160</i>	<i>125,6 \pm 13,9 (129)</i>	<i>22,5 \pm 6 (85)</i>	<i>31,6 \pm 16,8 (31)</i>
Muñoz <i>et al.</i> (2010)	166	108,9 \pm 3,72 (10)	22,5 \pm 2,7 (10)	26,7 \pm 2,4 (10)

La ligne en italique reprend les résultats de la présente étude

Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre de chevaux inclus dans l'étude

Les valeurs représentent la moyenne $\pm 2 \times SD$ de chaque paramètre

b) Valeurs de référence

Les intervalles de référence proposés à l'issue de cette étude sont données par l'intervalle [5^{ème} percentile - 95^{ème} percentile] des valeurs mesurées sur l'ensemble des chevaux pour chaque paramètre.

i. Les paramètres hématologiques

Les valeurs de référence des paramètres hématologiques sont présentées dans le tableau suivant. Les plaquettes n'y figurent pas car les données récoltées n'étaient pas satisfaisantes pour l'établissement de valeurs de référence.

Tableau 46 : Valeurs de référence des paramètres hématologiques

Paramètre	Valeurs de référence	Unité
Érythrocytes	6 760 000 – 9 140 000	℄/mm ³
Hémoglobine	11,4 - 15,4	g/dL
Hématocrite	31,9 - 43,1	%
TGMH	15,46 - 18,19	pg
CCMH	33,33 - 37,59	pg/L
VGM	43,70 - 52,42	fL
Leucocytes	6 120 – 11 190	℄/mm ³
Granulocytes neutrophiles	2838 - 7653 41,8 - 74,1	℄/mm ³ %
Granulocytes éosinophiles	52 - 598 0,5 - 7,4	℄/mm ³ %
Granulocytes basophiles	0 - 260 0-3	℄/mm ³ %
Lymphocytes	1 743 – 4 108 18 - 49	℄/mm ³ %
Monocytes	131 - 609 1,7 - 7	℄/mm ³ %
Fibrinogène	1,51 - 2,59	g/L

ii. Les paramètres biochimiques

Les intervalles de référence des paramètres biochimiques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 47 : Valeurs de référence des paramètres biochimiques

Paramètre	Valeurs de référence	Unité
Acides biliaires	1 - 16,6	µmol/L
Bilirubine totale	7,2 - 23,3	mg/L
GGT	8 - 33	UI/L à 30°C
Protéines totales	62,4 - 77,5	g/L
Créatinine	9,4 - 17,9	mg/L
Urée	0,21 - 0,64	g/L
CK	99 - 406	UI/L
AST	195 - 454	UI
GPX	33 - 435	UI/g Hb à 30°C
SOD	1025 - 2101	UI/g Hb à 30°C
Na ⁺	133 - 145	mmol/L
K ⁺	3,1 - 5,3	mmol/L
Cl ⁻	91 - 104	mmol/L
Ca _{total}	114,2 - 137,4	mg/L
Mg	18,2 - 28,2	mg/L
P	20,6 - 43,8	mg/L

3. *Comparaison chevaux classés/chevaux éliminés et paramètres prédictifs*

a) Les paramètres hématologiques

Aucun paramètre ne montre de différence significative entre chevaux classés et chevaux éliminés dans le sens où la p-value du test statistique n'est pas strictement inférieure à 0,05.

Cependant la numération leucocytaire a une p-value proche de 0,05 (p-value = 0,069), qui pourrait suggérer une tendance des chevaux classés à avoir une numération leucocytaire plus basse que les chevaux éliminés.

b) Les paramètres biochimiques

Un paramètre montre clairement une différence significative entre chevaux classés et chevaux éliminés :

☞ La bilirubinémie (p-value = 0,003), qui est plus élevée chez les chevaux classés.

Un autre paramètre a une p-value légèrement supérieure à 0,05 :

☞ L'activité sérique de la GGT (p-value = 0,053), qui serait moindre chez les chevaux classés.

En ce qui concerne les paramètres du ionogramme, il ne semble y avoir aucune différence entre les chevaux classés et les chevaux éliminés.

Les paramètres montrant ou suggérant une différence entre chevaux classés et chevaux éliminés ne présentent pas de valeur seuil séparant nettement les deux catégories de chevaux. Cela vient peut-être du fait que les chevaux éliminés pour cause métabolique ont été regroupés avec ceux éliminés pour boiterie. En effet, il est possible qu'un cheval éliminé pour boiterie ne soit en fait, avant la course, pas différent d'un cheval classé d'un point de vue hémato-biochimique.

4. Comparaison entre le cheval d'endurance de haut niveau et le cheval adulte standard

Les valeurs des paramètres sanguins mesurés dépendent de plusieurs facteurs intrinsèques :

- l'âge : poulain, adulte, cheval âgé.
- la race : pur-sang, cheval de trait, poney, ...etc.
- le statut physiologique : gestation, situation de stress, ...etc.
- l'utilisation du cheval : loisir, reproduction, compétition à haut niveau, ...etc.

L'endurance est un sport très exigeant d'un point de vue métabolique, et l'entraînement qui y est associé induit des modifications de certains paramètres sanguins (Grézy, 2009). C'est pourquoi il est intéressant de comparer les valeurs observées chez le cheval d'endurance de haut niveau avec celles observées chez le cheval adulte standard.

a) Les paramètres hématologiques

Tableau 48 : Comparaison cheval d'endurance de haut niveau/cheval adulte standard : paramètres hématologiques

Paramètre	Valeurs cheval standard*	Valeurs cheval d'endurance	Unités
Erythrocytes	7 100 000 -8 800 000	6 760 000 – 9 140 000	℄ /mm ³
Hémoglobine	11,7 – 14,0	11,4 – 15,4	g/dL
Hématocrite	31,2 – 37,3	31,9 – 43,1	%
Leucocytes	7 100 – 10 000	6 120 – 11 190	℄/mm ³
Granulocytes neutrophiles	51,3 – 66,4	41,8 – 74,1	%
Granulocytes éosinophiles	1,3 – 3,9	0,5 – 7,4	%
Granulocytes basophiles	0,3 – 0,7	0 – 3	%
Lymphocytes	25,9 – 40,3	18 – 49	%
Monocytes	3,0– 5,1	1,7 – 7	%
Fibrinogène	1,80 – 2,50	1,51 – 2,59	g/L

*Valeurs de référence 2010 du LDFD pour un cheval adulte au repos

➤ Les érythrocytes

La fourchette des valeurs est un peu plus étendue chez le cheval d'endurance, mais ne semble pas montrer de réelle différence.

➤ L'hémoglobine

L'hémoglobinémie semble modérément plus élevée chez le cheval d'endurance, ce qui serait cohérent avec la forte demande en oxygène qui accompagne l'effort lors d'une course.

➤ L'hématocrite

L'hématocrite semble modérément plus élevé chez le cheval d'endurance, bien que l'entraînement soit normalement associé à une baisse de l'hématocrite (Robert *et al.*, 2009).

➤ Les leucocytes

La fourchette des valeurs est un peu plus large chez le cheval d'endurance. La limite supérieure plus élevée chez le cheval d'endurance pourrait peut-être être due au stress provoqué par l'environnement même de la course.

➤ Le fibrinogène

La fourchette des valeurs est un peu plus étendue chez le cheval d'endurance, mais ne semble pas montrer de réelle différence.

b) Les paramètres biochimiques

Tableau 49 : Comparaison cheval d'endurance de haut niveau/cheval adulte standard : paramètres biochimiques

Paramètre	Valeurs cheval standard*	Valeurs cheval d'endurance	Unité
Acides biliaires	3,8 – 6,7	1 - 16,6	µmol/L
Bilirubine totale	11,6 – 21,6	7,2 - 23,3	mg/L
GGT	9 – 20	8 - 33	UI/L à 30°C
Protéines totales	61,6 – 69,5	62,4 - 77,5	g/L
Créatinine	11,8 – 14,8	9,4 - 17,9	mg/L
Urée	0,28 – 0,40	0,21 - 0,64	g/L
CK	150 – 266	99 - 406	UI/L
AST	195 - 280	195 - 454	UI
GPX	229 – 374	33 - 435	UI/g Hb à 30°C
SOD	1260 – 1 920	1025 - 2101	UI/g Hb à 30°C
Na ⁺	128 – 138	133 - 145	mmol/L
K ⁺	3,2 – 5,0	3,1 - 5,3	mmol/L
Cl ⁻	96 – 107	91 - 104	mmol/L
Ca _{total}	118 – 126	114,2 - 137,4	mg/L
Mg	17,4 – 21,8	18,2 - 28,2	mg/L
P	24,7 – 34,7	20,6 - 43,8	mg/L

□ Les acides biliaires

La fourchette des valeurs est plus étendue chez le cheval d'endurance, avec des valeurs qui auraient tendance à être plus élevées chez le cheval d'endurance. L'augmentation des acides biliaires pourrait s'interpréter comme un moyen d'augmenter l'absorption des lipides et ainsi d'exploiter cette source d'énergie durant l'effort d'endurance.

□ La bilirubine totale

La fourchette des valeurs est un peu plus large chez le cheval d'endurance.

□ L'activité sérique de la GGT

Elle semble plus élevée chez le cheval d'endurance.

□ Les protéines totales

Elles semblent plus élevées chez le cheval d'endurance, ce qui résulterait de l'entraînement (Robert *et al.*, 2009).

□ La créatinine

Elle semble plus élevée chez le cheval d'endurance (Robert *et al.*, 2009), ce qui pourrait être compatible avec une souffrance rénale due à la déshydratation chronique subie à l'entraînement et lors des courses.

□ L'urée

Elle semble plus élevée chez le cheval d'endurance, ce qui pourrait être compatible avec une souffrance rénale due à la déshydratation chronique subie lors des courses. L'augmentation de l'urémie a aussi été associée à un mécanisme permettant de maintenir la pression oncotique lors de baisse de l'hématocrite.

□ L'activité sérique de la CK

Elle semble plus élevée chez le cheval d'endurance, ce qui pourrait être associé au transport avant le prélèvement ou au travail intense en préparation de la course.

□ L'activité sérique de l'AST

Elle semble plus élevée chez le cheval d'endurance, ce qui est cohérent avec le fait que les valeurs d'activité sérique de l'AST sont plus élevées chez les chevaux ayant une activité

sportive (Cornelius and Burnham, 1963; Cardinet and al., 1967; Blackmore and Elton, 1975).

□ L'activité de la GPX

La fourchette des valeurs est plus étendue chez le cheval d'endurance.

□ L'activité de la SOD

La fourchette des valeurs est modérément plus étendue chez le cheval d'endurance.

□ Le sodium

Il semble plus élevé chez le cheval d'endurance. Cette élévation pourrait s'interpréter comme un moyen de prévenir les pertes conséquentes liées à la sudation.

□ Le potassium

Les valeurs semblent similaires chez le cheval standard et le cheval d'endurance.

□ Le chlore

Les valeurs de la chlorémie semblent plus basses chez le cheval d'endurance que chez le cheval standard. Cela pourrait être dû à une perte progressive des électrolytes au cours de l'entraînement (Robert *et al.*, 2009) ou lors de transport avant la course.

□ Le calcium

La fourchette des valeurs est plus étendue chez le cheval d'endurance.

➤ Le magnésium

Il semble plus élevé chez le cheval d'endurance que chez le cheval standard. Cela pourrait être corrélé à une masse musculaire plus importante chez le cheval d'endurance de haut niveau.

➤ Le phosphore

La fourchette des valeurs est plus étendue chez le cheval d'endurance.

C) Perspectives

1. Amélioration du protocole

Si le nombre de chevaux inclus dans l'étude des paramètres hématologiques est satisfaisant, celui de l'étude de certains électrolytes est encore un peu bas pour une bonne étude statistique. De plus, un plus grand nombre de chevaux permettrait de distinguer les chevaux éliminés pour boiterie de ceux éliminés pour cause métabolique. Cela affinerait l'interprétation de l'étude.

La numération des plaquettes montre des valeurs basses : elles s'expliquent par leur tendance à s'agréger et par le délai d'analyse. Toutefois, ce problème pourrait être partiellement contourné par l'utilisation de tubes citratés pour les prélèvements destinés à la quantification des plaquettes (Hinchcliff, 1993).

Les paramètres qu'ils soient hématologiques, biochimiques ou électrolytiques ont tendance à être modifiés par le temps de conservation entre le moment du prélèvement et celui de l'analyse (Clark and al., 2002 ; Stewart and al., 1977; Piccione and al., 2010). L'utilisation d'appareils portatifs quand cela est possible pourrait contribuer à améliorer la qualité des mesures.

Pour ce qui est des modifications liées au transport et au stress, elles sont inhérentes au monde de la compétition et tous les chevaux y sont exposés.

En ce qui concerne le dopage, l'exclusion de ce biais sera possible si un contrôle systématique de tous les chevaux est mis en place dans le futur.

2. D'autres paramètres prédictifs

L'étude des prélèvements sanguins effectués pré-course permet de rechercher des paramètres qui objectiveraient de la capacité *a priori* d'un cheval à terminer une course. Si dans cette étude un paramètre, la bilirubine totale, semble émerger, deux études récentes ont levé le voile sur d'autres potentiels paramètres prédictifs :

- ✓ Une étude portant sur la SAA (Serum Amyloid A), protéine majeure de la phase aiguë de l'inflammation chez le cheval, tend à montrer que son taux sérique pré-course est significativement plus bas chez les chevaux classés (Cywinska *et al.*, 2010)
- ✓ Une étude portant sur l' α -MSH (alpha -Melanocytes Stimulating Hormone), une hormone neuroendocrine, tend à montrer que son taux sérique pré-course est significativement plus élevé chez les chevaux classés (Holbrook *et al.*, 2010)

CONCLUSION

Les examens sanguins réalisés sur des chevaux d'endurance de haut niveau semblent montrer des différences entre cheval d'endurance et cheval standard :

- ☞ Des paramètres ayant des valeurs plus élevées chez le cheval d'endurance :
 - l'hémoglobinémie et l'hématocrite,
 - les proportions de granulocytes éosinophiles et basophiles,
 - les acides biliaires,
 - l'activité sérique de la GGT,
 - les protéines totales,
 - la créatininémie et l'urémie,
 - les activités sériques de la créatine-kinase et de l'aspartate aminotransférase,
 - la natrémie et la magnésémie ;
- ☞ Des paramètres ayant des valeurs similaires :
 - la numération érythrocytaire,
 - la fibrinogénémie,
 - le potassium ;
- ☞ Des paramètres ayant des valeurs plus basses chez le cheval d'endurance :
 - la chlorémie ;
- ☞ Des paramètres compris dans une fourchette plus étendue chez le cheval d'endurance :
 - les leucocytes totaux,
 - la bilirubinémie,
 - les activités sériques de la glutathion peroxydase et de la superoxyde dismutase,
 - la calcémie et la phosphatémie.

Ces modifications pourraient témoigner de l'adaptation à l'effort très particulier qu'est l'endurance.

Les examens sanguins ont également montré des différences entre les chevaux classés et les chevaux éliminés :

- ☞ La bilirubinémie est significativement plus élevée chez les chevaux classés.
- ☞ La numération leucocytaire tend à être plus élevée chez les chevaux éliminés.

BIBLIOGRAPHIE

Al-Qudah KM, Al-Majali AM (2008). Higher lipid peroxidation indices in horses eliminated from endurance race because of synchronous diaphragmatic flutter (thumps). *J. of Vet. Eq. Sci.* **28**, 573-578

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

Baerlocher GM, Sclappritzi E, Straub PW, Reinhart WH (1994). Erythrocyte deformability has no influence on the rate of erythrophagocytosis 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

Barton MH, Williamson L, Jacks S, Norton N (2003). Body weight, hematologic findings, and serum and plasma biochemicals findings of horses competing in a 48-, 83-, or 159-km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am. J. Vet. Res.* **64**(6), 746-753

Beilstein MA, Whanger PD (1983). Distribution of selenium and glutathione peroxidase in blood fractions from Humans, rhesus and squirrel monkeys, rats and sheep. *J. Nutr.* **113**, 2138-2146

Bernard WV, Divers TJ (1989) Variations in serum sorbitol dehydrogenase, aspartate transaminase and isoenzyme 5 of lactate dehydrogenase activities in horses given carbon tetrachloride. *Am. J. Vet. Res.* **50**, 622-623

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

Blackmore DJ, Elton D (1975). Enzyme activity in the serum of thoroughbred horses in the United Kingdom. *Equine Vet. J.* **7**(1), 34-39

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

Broadbent S (2011). Seasonal changes in haematology, lymphocyte transferrin receptors and intracellular iron in Ironman triathletes and untrained men. *Eur. J. Appl. Physiol.* **111**, 93-100

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

Carakostas MC, Moore WE, Smith JE (1981^a). Intravascular neutrophilic granulocyte kinetics in horses. *Am. J. Vet. Res.* **42**, 623-625

Carakostas MC, Moore WE, Smith JE (1981^b). Effects of etiocholanolone and prednisolone on intravascular granulocyte kinetics 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 (2009). Clinical chemistry tests. *In* : Smith, editor. Large animal internal medicine. 4th ed. Missouri, Mosby Elsevier, 375-397

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

Carlson GP, Mannsmann RA (1974). Serum electrolytes and plasma protein alterations in horses used in endurance rides. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **165**(3), 262-264

Chew DJ, Meuten DJ (1982). Disorders of calcium and phosphorus metabolism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* **12**(3), 411-438

Clark P, Mogg TD, Tvedten HW, *et al.* (2002). Artfactual changes in equine blood flowing storage, detected using the Advia 120 hematology analyser. *Vet. Clin. Pathol.* **31**, 90-94

Cordonnier N (2009). Hématologie-Présentation générale, 2009-2010

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

Cornelius CE, Burnham LG, et Hill HE (1963). Serum transaminase activities of throughbred horses in training. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **142**, 639-642

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

Fregin GF (1980). General discussion of physiologic observations recorded on 117 horses during 100-mile endurance rides. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* **25**, 315-321

Gondim FJ, Zoppi CC, Dos Reis Silveira L, Pereira da Silva L, Vaz de Macedo D (2009) Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses. *J. Equine Vet. Sci.* **29**(4), 206-212

Grézy L (2009). Evolution de l'équilibre hydro-électrolytique du cheval et de l'entraînement du cheval d'endurance au cours de l'effort et de l'entraînement. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Alfort 111, 164 p.

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

Hinchcliff KW, Kociba GJ, Mitten LA (1993). Diagnosis of EDTA-dependant pseudo-thrombocytopenia in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **203**(12), 1715-1716

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**, 188-203

Hoffmann WE, Solter PF (2008). Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. *In* : Kaneko, Harvey, Bruss, editors. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. San Diego, Academic Press, 351-378

Holbrook TC, McFarlane D, Schott II HC (2010). Neuroendocrine and non-neuroendocrine markers of inflammation associated with performance in endurance horses. *Equine vet. J.* **42** (Suppl. 38), 123-128

Hornbuckle WE, Simpson KW, Tennant BC (2008). 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.

Mac Allister CG, Morgan SJ, Borne AT *et al.*(1993). Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **202**, 71-77

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

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

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

Muñoz A, Riber C, Trigo P, Castejón-Riber C, Castejón FM (2010). Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. *Equine Vet. J.* **42** (suppl.38), 83-90

Murer H, Lötscher M, Kaissling B, Levi M, Kempson SA, Biber J (1996). Renal brush border membrane Na/Pi-cotransport: molecular aspects in PTH-dependent and dietary regulation.

Kidney Int. **49**(6), 1769-1773

Murray RK (2002^a) Erythrocytes et leucocytes. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 763-779

Murray RK (2002^b) Porphyrines et pigments biliaires. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 359-373

Murray RK (2002^c). Métabolisme des xénobiotiques. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 780-786

Murray (2002^d). Muscle et cytosquelette. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 715-736

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

Piccione G, Casella S, Giannetto C, Assenza A, Caola G (2010). Effect of Different Storage Conditions on Platelet Aggregation in Horse. *J. of Eq. Vet. Sci.* **30**, No 7

Rand ML, Murray RK (2002). Protéines Plasmatiques, immunoglobulines et coagulation sanguine. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 737-762

Reagan WJ, Irizarry Rovira AR, DeNicola DB (2008^a). 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 AR, et DeNicola DB (2008^b). 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 (2008^c). Platelets. *In* : *Veterinary Hematology Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species*. 2nd ed. Ames, Iowa, Wiley Blackwell, 57-58

Robert C, Goachet AG, Fraipont A, Votion DM, Van Erck E et Leclerc JL (2009). Hydration and electrolyte balance in horses during an endurance season. *Equine Vet. J.* **42**(suppl.38), 98-104

Rodwell VW (2002). Transformation des acides aminés en produits spécialisés. *In* : Murray, Granner, Rodwell, Mayes, editors. *Biochimie de Harper*. 25th ed. Bruxelles, De Boeck Université, 347-358

Rose RJ (1982). Haematological changes associated with endurance exercise. *The vet. Record* **110**, 175-177

Rose RJ, Hodgson DR, Sampson D, Chan W (1983). Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 km endurance ride. *Aus. Vet. J.* **60**, 101-105

Rose BD (1984). *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*. 2nd ed.

McGrawhill, New York, 702 p.

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

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

Saxton DR, Seldin DW (1986). Clinical interpretation of laboratory values. *In* : Kokko, Tannen, editors. *Fluids and Electrolytes*. Philadelphia, Saunders, 3-62

Schmitz David G (2007) Toxins Affecting the Urinary System, *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **23**, 677-690

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 [(gamma-glutamyl)-peptide: amino acid gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.2.]. IFCC Document, Stage 2 , Draft 2, 1983-01 with a view to an IFCC Recommendation. *Clin. Chim. Acta.* **135**(3), 315F-338F

Stewart AJ (1998). Magnesium disorders. *In* : Reed, Bayly, Sellon, editors. *Equine internal medicine*. Philadelphia, Saunders, 1365-1366

Stewart GA, Riddle CA, Salmon PW (1977). Haematology of the race horse, A recent study of thoroughbreds in Victoria. *Aust. Vet. J.* **53**, 353–359

Stryer L (1995^a). 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 (1995^b). La phosphorylation oxydative. *In* : La biochimie de Lubert Stryer. 4th ed. New York, WH Freeman, and Company, 529-558

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

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

Weiss D, Burger D, Weishaupt MA, Fakler A, Spichiger UE, Giese L, *et al.* (2002). Effects of a 61,7 km ride on magnesium and calcium homeostasis in well trained endurance horses. *J. of Eq. Vet. Sci.* **22**, 77-83

Welles EG (2010). Interpretation of equine leukocytes responses. *In* : Weiss, Wardrop, 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.

Liste des figures

Figure 1: Hématies de cheval en rouleaux	p.07
Figure 2 : Représentation simplifiée d'une molécule d'hémoglobine	p.09
Figure 3 : Schéma d'un tube capillaire après centrifugation	p.11
Figure 4 : Granulocyte neutrophile de cheval	p.13
Figure 5 : Granulocyte éosinophile de cheval	p.14
Figure 6 : Granulocyte basophile de cheval	p.15
Figure 7 : Lymphocyte de cheval	p.15
Figure 8 : Monocyte et lymphocyte de cheval	p.16
Figure 9 : Plaquettes de cheval	p.19
Figure 10 : Schéma d'une molécule de fibrinogène	p.22
Figure 11 : Représentation de Cram d'une molécule d'acide cholique	p.24
Figure 12 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine non conjuguée	p.26
Figure 13 : Formule semi-développée d'une molécule de bilirubine conjuguée	p.27
Figure 14 : Électrophorégramme de cheval	p.31
Figure 15 : Formule semi-développée de la créatinine	p.34
Figure 16 : Formule semi-développée de l'urée	p.36
Figure 17 : Schéma de la synthèse de l'urée à partir des acides-aminés	p.37
Figure 18 : Schéma du rôle de la créatine kinase dans le muscle	p.39
Figure 19 : Schéma de la répartition des fluides dans l'organisme	p.46
Figure 20 : Schéma de la répartition des ions de part et d'autre de la membrane plasmique	p.48
Figure 21 : Schéma illustrant le principe de cinétique enzymatique	p.62

