



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



Mémoire de fin d'études
en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire

THEME :

**Modifications des paramètres Hémato-Biochimiques chez les juments
reproductrices au cours des chaleurs de poulinage au niveau de la
région de Tiaret.**

Présenté par :

M^{elle} AIT ABDELKADER Sabrina.

Encadré par :

Dr AYAD Mohamed.
Dr SMAIL Fadhela.

Année universitaire : 2018 – 2019

Les Remerciements

A mes directeurs de thèse

Monsieur AYAD MOHAMED AMINE , madame SMAIL FADHELA, maitres de conférences B à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret d'avoir dirigé mes travaux de Projet de Fin d'Etude (PFE). Je vous suis énormément reconnaissante pour vos conseils judicieux, sans lesquels je n'aurais pas , à ce jour présenté ce modeste travail . je tiens à vous rendre grâce et vous exprimer ma sincère gratitude pour votre disponibilité, vos encouragements, votre accueil , votre bienveillance , et votre confiance témoignée . je vous souhaite le meilleur dans vos vies professionnelles .

Au directeur de l'ISV de Tiaret

Monsieur BENALOU.B , professeur à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret d'avoir mis à notre disposition tous les moyens techniques et matériels du laboratoire d'Hémo-Biochimie au sein de l'ISV de Tiaret. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et ma profonde considération.

Aux membres de jury

Monsieur AISSAT.S, maitre de conférences A à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret qui nous a fait l'honneur de présider notre Projet de Fin d'Etude . Je vous présente mes sincères remerciements.

Madame CHIKHAOUL.M, maitre de conférences A à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret qui nous a fait l'honneur de présider notre Projet de Fin d'étude . Je vous suis extrêmement reconnaissante de m'avoir proposé ce thème avec madame SMAIL.F , ainsi qu'à vos précieux conseils et explications.

A tous les enseignants de l'ISV de Tiaret

Je vous fais part de mes véridiques remerciements pour vos efforts, votre soutien pour les étudiants, vos encouragements , et votre sage comportement.

Au vétérinaire du Haras El Mesk et toute l'équipe

Monsieur ANANE OUADEH , technicien supérieur vétérinaire pour son accueil chaleureux au niveau du Haras , pour sa disponibilité, sa confiance , ainsi qu'à toute l'équipe de m'avoir si bien traité et considéré comme une des leurs.

Au vétérinaire du Haras National Chaouchaoua

Monsieur Rams Mustapha , médecin vétérinaire au niveau du Haras National Chaouchaoua pour sa disponibilité et son service .

Aux membres de l'Etablissement Public De Santé De proximité –Tiaret

Madame TWAHRIA ZINEB , ainsi qu'à SARAH et IMENE . biologistes au niveau de

l'Etablissement Public De Santé De proximité –Tiaret. Je vous suis reconnaissante d'une manière extrême pour votre gentillesse, votre accueil et pour les analyses sanguines que vous m'avez faites sans vous je n'aurais pas pu effectuer ce travail, c'est un énorme service que je n'oublierai jamais.

Un énorme merci à monsieur AMARA BOUDJEMAA pour sa disponibilité et son soutien, ainsi qu'au bureau d'étude INGAU pour les statistiques .

A madame KARIMA BOUDRAA, biologiste au niveau de l'ISV de Tiaret d'avoir fait les analyses d'une partie des prélèvements sanguins, ainsi qu'à son accueil .

Dédicaces

A mes parents

A notre amour , à la joyeuse vie que vous m'avez offerte , au quotidien poétique coloré dans lequel j'ai grandi, à votre éducation , vos valeurs , vos principes , à votre confiance , votre gentillesse , à votre assurance , à votre pudeur , à votre fierté de me voir prendre mon envol, à votre écoute sans jamais me blesser , à votre inquiétude quand tout va mal pour moi , à votre fierté à l'annonce de l'obtention de mon diplôme , à votre volonté de faire de moi une personne libre enthousiaste heureuse et optimiste , à toutes les heures que vous m'avez accordées , à votre patience et votre responsabilité , à votre générosité , à ce lien indescriptible qui nous lie , tout simplement à vous

C'est avec toute lardeur de mes profonds sentiments que je vous dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts en espérant vous rendre fière de moi et en vous disant que j'ai l'énorme chance de vous avoir dans ma vie .

A mes sœurs

A vous mes petites fleurs , vous transformez ma peine en bonheur , à notre complicité , à nos moments de joie les plus fous , à nos souvenirs , à nos différents succès durant l'an 2019 , à la fierté de nos parents de nous , à notre belle union chez nous , à vous mes chéries je vous aime du plus profond de mon cœur, à vous : SARAH , RANIA , MANEL .

A ma grand-mère

Vous m'avez toujours conseillé , vous avez prié pour que je réussisse , vous espérez que je sois la meilleure , vous êtes toujours là pour moi , que dieu vous garde pour nous : Oukaci Ouisa .

A mes cousines

A vous deux , à notre complicité , à nos plans mijotés , à nos petits secrets , à tous les moments qu'on a passé ensemble je vous dédie ce modeste travail que je viens de réaliser au cours de cette année , à vous : AIT ABDELKADER IBTISSEM , AIT HAMADOUCHE YASMINE .

A ma meilleure amie

A la fille qui m'a beaucoup aidé , qui m'a soutenu , qui étais là pour moi je te dédie ce mémoire en espérant que notre amitié va durer , à toi : SENANE RABIAA IMENE.

A tous les étudiants de la promo 2019

voilà ! nous avons passé 5 ans ensemble , nous avons connu la joie , le partage, le stress d'étude , nous avons construis des liens solides , nous avons gardé de bons souvenirs , je vous souhaite le meilleur.

LISTE DES ABREVIATIONS

EDTA :	Ethylen Diamine Tetra acetic Acid .
FNS :	Formule Numération Sanguine.
GB :	Globules Blancs .
GR :	Globules Rouges.
Hb :	Hémoglobine .
Ht :	Hématocrite.
VGM :	Volume Globaire Moyen.
TCMH :	Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine .
CCMH :	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.
PLT :	Plaquettes.
Ca :	Calcium
Mg :	Magnésium .
ALAT :	Alanine Amino-Transférase ou TGP .
ASAT :	Aspartate Amino-Transférase ou TGO .
PT :	Protéines Totales .
Pp :	Post-partum.

LISTE DES FIGURES

I. Partie bibliographique

Figure 1 : Appareil génital de la jument (vue dorsale)(Ginther,1992).....	5
Figure 2 : comparaison de l’ovaire de jument et des autres femelles domestiques (Coupe transversale de l’ovaire au moment de l’ovulation (Ginther,1992)	7
Figure 3 : Coupe schématique d’un ovaire de jument (<i>Konig et Leibich, 2004</i>	8
Figure 4 : la durée moyenne du cycle œstral chez la jument (Ginther,1992).....	13
Figure 5 : schéma représentatif de la physiologie du cycle œstral chez la jument (Ginther,1992).....	15
Figure 6 : frottis sanguin du cheval représentant les différentes cellules sanguines(Archer , 1977)	26
Partie expérimentale	
Figure 7 : localisation du Haras El Mesk par GPS (Situation Géographique	42
Figure 8 : présentation du Haras El Mesk	43
Figure 9 : localisation du Haras National Al-Chaouchaoua par GPS	44
Figure 10 :Situation géographique et présentation du Haras National	45
Figure 11 : les juments de l’expérimentation	46
Figure 12 : les différentes périodes de prélèvement.....	46
Figure 13 : Tubes EDTA.....	48
Figure 14 : Tubes Héparines	48
Figure 15 : centrifugeuse EBA 20.....	48
Figure 16 : automate d’hématologie URIT-3000 PLUS	49
Figure 17 : automate de biochimie URIT-8021A	49
Figure 18 : échographe ALOKA SSD-500	49
Figure 19 : échographe DRAMINSKI Iscan	50

LISTES DES GRAPHES

Graphe 1: Variations des globules blancs chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	53
Graphe 2: Variations des lymphocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	54
Graphe 3: Variations des monocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	55
Graphe 4 : Variations des granulocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	56
Graphe 5: Variations des globules rouges chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	57
Graphe 6 : Variations d'hémoglobine chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	58
Graphe 7 : Variations d'hématocrite chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	59
Graphe 8 : Variations de VGM chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	60
Graphe 9 : Variations de TCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	61
Graphe 10: Variations de CCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	62
Graphe 11: Variations des plaquettes sanguines chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	63
Graphe 12: Variations du taux de calcium chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	64
Graphe 13 : Variations de la créatinine chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	65
Graphe 14 : Variations d'urée chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	66
Graphe 15 : Variations de TGO chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	67
Graphe 16: Variations de TGP chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	68

Grphe 17: Variations des protéines totales chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part69

LISTE DES TABLEAUX

I. Partie bibliographique

Tableau 1 : les valeurs usuelles d'hématologie et de biochimie équine	39
--	----

II. Partie expérimentale

Tableau 2 : races des chevaux aux niveau du haras et leur nombre	42
---	----

Tableau 3 : information concernant les juments	45
---	----

Tableau 4 : les différents paramètres analysés.....	47
--	----

Résultats et Discussion

Tableau 1 : Variations des globules blancs chez les juments à j12 avant le part présumé, j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part, j21 après le part	52
--	----

Tableau 2 : Variations des lymphocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	53
--	----

Tableau 3 : Variations des monocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	54
--	----

Tableau 4 : Variations des granulocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	55
---	----

Tableau 5 : Variations des globules rouges chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	56
--	----

Tableau 6 : Variations d'hémoglobine chez les juments à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	57
--	----

Tableau 7 : Variations d'hématocrite chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	58
--	----

Tableau 8 : Variations de VGM chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	59
---	----

Tableau 9 : Variations de TCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	60
--	----

Tableau 10 : Variations de CCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	61
---	----

Tableau 11 : Variations des plaquettes sanguines chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	62
---	----

Tableau 12 : Variations du taux de calcium chez les juments de reproduction à j12 avant le part, j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	63
---	----

Tableau 13: Variations de la créatinine chez les juments de reproduction à j12 avant le part ,j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	64
Tableau 14 : Variations d'urée chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	65
Tableau15: Variations de TGO chez les juments de reproduction à j12 avant le part, j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.....	66
Tableau 16 : Variations de TGP chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	67
Tableau 17 : Variations des protéines totales chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part	68

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Listes des tableaux	
Liste des graphes	
Introduction:	1
ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITALE DE LA JUMENT	
I. Rappels anatomo-physiologiques	4
A. Anatomie de l'appareil génital de la jument	4
1. Portion glandulaire	5
1.1. Les ovaires	5
2. Portion tubulaire	8
2.1 Les trompes utérines	9
2.2 L'utérus :	9
2.3 Col utérin	10
1.4. Le vagin :	10
TECHNIQUE D'EXAMEN DE L'APPAREIL GENITAL DE LA JUMENT PAR VOIE TRANS-RECTALE	
1- Contention de la jument :	11
2- Technique de l'examen	11
PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA JUMENT NON GRAVIDE	
1- le cycle œstral	
Diagnose de la phase du cycle œstral	15
2. Saisonnalité :	16
SAISON DE MONTE EFFECTIVE	18
EXAMEN ECHOGRAPHIQUE PAR VOIE TRANSRECTALE D'UNE POULINIÈRE	
1. Technique de l'examen échographique	19
2. Examen des ovaires :	20
2.1 Estimation du stade du cycle œstral	20
2.2 Prédiction ou diagnostic de l'ovulation	21
3. Examen des voies génitales	22

3.1_Estimation du stade du cycle œstral	22
---	----

Données générales sur les paramètres hémato-biochimiques équins

I.Hématologie	25
1. Généralités	25
2. Hémogramme et examens complémentaires d'hématologie	26
2.1 Hémogramme ou numération forme sanguine (FNS)	26
2.2 Morphologie et physiologie des cellules sanguines	27
2.2.1 Morphologie et physiologie des leucocytes (<i>Globules blancs</i>).....	27
2.2.2 Morphologie et physiologie des hématies(<i>Globules Rouges</i>).....	29
2.2.3 Morphologie et physiologie de l'hémoglobine	31
2.2.4 Morphologie et physiologie de l'hématocrite	32
2.2.5 Les constantes érythrocytaires	32
2.2.6 Morphologie et physiologie des plaquettes	33
II.Biochimie	34
1 Exploration du métabolisme calcique	34
2 Exploration biologique du rein	35
3 Exploration biologique du foie	37
4 Exploration biologique du métabolisme des protéines plasmatiques.....	38

Partie Expérimentale

Lieu d'étude	41
1. Haras El Mesk (ferme Feghouli)	42
2. Haras National Al- Chaouchaoua (Jumenterie de Tiaret)	44
Lieu d'analyses	45
Animaux et Alimentation.....	45
Animaux	45
Alimentation	46
Le Protocole expérimental	46
Les paramètres analysés	47
Matériel et méthode	48

Résultats et Discussion

Résultats	52
Résultats de la FNS	52
I.Bilan Hématologique	

Taux des globules blancs.....	52
Taux des lymphocytes.....	53
Taux des monocytes	54
Taux des granulocytes	55
Taux des globules rouges	56
Taux d'hémoglobine	57
Taux d'hématocrite	58
Taux de VGM	59
Taux de TCMH	60
Taux de CCMH	61
Taux des plaquettes.....	62
Résultats de la biochimie.....	63
Le calcium.....	63
Urée et Créatinine	64
Alanine-amino transférase et aspartate-amino transférase	66
Les protéines totales	68
Discussion	70
I. Bilan Hématologique.....	70
II. Le bilan Biochimique	72
Conclusion	77
Références bibliographiques	79
Annexes	81

Introduction

Introduction:

I.Introduction:

Le cheval , constitue l'une des plus belles conquêtes de l'homme et l'une des créatures les plus élégantes , qui ont fasciné l'homme notamment les algériens , où le cheval a une place très importante dans la culture Algérienne.

Le cheval a été domestiqué et utilisé par nos ancêtres pendant la révolution ,et c'est cette allure du cheval cabré et le guerrier en burnous blanc qui a installé la peur chez les soldats français. Arrivé au point ou Bernard Bajolet, ancien ambassadeur de France en Algérie qui a relaté dans son livre « Le Soleil ne se lève plus à l'Est », son amour aux chevaux tant qu'il vivait en Algérie.

C'est bien à l'intérieur du charmant haras , de Tiaret que naissent depuis plus d'un siècle les meilleures des races de chevaux d'Afrique . Nous avons les plus beaux spécimens de barbes ou de pur-sang arabe, qui s'affrontent dans des concours de sauts d'obstacles, des courses hippiques ou encore des spectacles de fantasia.

Malgré sa noblesse, la médecine équine reste un peu mal développée en Algérie. Pas mal d'études ont été consacrées pour la parasitose des équidés, mais en ce qui concerne la reproduction équine et spécifiquement les chaleurs de poulinage peu d'études ont été publiées, notamment la relation entre le laboratoire qui peut être évocateur de plusieurs modifications hémato-biochimiques que peut une jument présenter lors de ses chaleurs et leurs manifestations cliniquement.

C'est ainsi que nous nous sommes proposés de réaliser cette étude dans le but

- De comprendre selon quels principes et avec quel matériel sont réaliser les examens de l'appareil génital de la jument en connaissant la physiologie de son cycle œstral lors d'une approche clinique de la reproduction de cette dernière .
- Convaincre le lecteur que le laboratoire est un moyen de confirmation ou infirmation des suspicions lors d'examen clinique.
- Le laboratoire peut nous aider et orienter pour réussir notre insémination et éviter les échecs.
- S'approfondir dans le domaine de reproduction équine et comprendre le phénomène des chaleurs de poulinage spécial aux juments.
- Sensibiliser les vétérinaires à recourir au diagnostic para-clinique et réussir son traitement.

Introduction:

Ce qui nous a motivé pour réaliser ce travail

- A commencer par l'amour que portait le Prophète aux chevaux et sa recommandation de s'approcher d'eux et de pratiquer l'équitation.
- Notre amour et admiration aux chevaux et leur caractère fascinant depuis l'enfance qui nous a poussé à consacrer notre étude sur eux pour mieux les comprendre.
- La Wilaya de Tiaret, le berceau des chevaux, d'équitation et sa place au niveau de l'Afrique.
- L'influence que nos enseignants sur nous concernant le cheval .

Pour cela, nous avons divisé notre travail en deux parties. Une partie bibliographique où nous abordons le sujet de la reproduction équine , et des différents paramètres hématobiochimiques et dont les modifications peuvent être influencées au cours des chaleurs de poulinage.

Nous développerons dans la deuxième partie « partie expérimentale » les méthodes de dosage (hématologie et biochimie) ainsi que les méthodes utilisées dans le diagnostic échographique lors des chaleurs.

Nous finirons notre étude par une tentative de corrélation entre les différentes variations enregistrées entre les aspects biochimiques, hématologiques lors de cette période de chaleurs et de l'influence de la saison et le mode d'élevage ainsi que le facteur racial sur ces dernières.

Enfin, nous conclurons , par un rappel des différents résultats, obtenus suivis d'une conclusion .

*La reproduction
chez l'espèce équine*

La reproduction chez l'espèce équine

ANATOMIE DE L'APPAREIL GENITAL DE LA JUMENT

Le système reproducteur est constitué de deux catégories d'organes :

- Ceux qui forment l'appareil génital proprement parlé (ovaires et voies génitales)
- Ceux qui sont anatomiquement isolés de l'appareil génital mais qui jouent un rôle dans la régulation de la fonction sexuelle : épiphyse, rétine , hypothalamus, hypophyse.

I. Rappels anatomo-physiologiques

A. Anatomie de l'appareil génital de la jument

L'appareil génital de la femelle a pour rôle, d'une part l'élaboration des gamètes et des hormones sexuelles, et d'autre part d'être le siège de la fécondation, de la gestation et de la mise bas. Sachant que l'âge de puberté de la jument est de 12-18mois selon les auteurs (Barone,1978).

L'appareil génital peut être divisé en trois grandes parties selon leur fonction :

- **La section glandulaire** : constituée par les **ovaires** qui produisent les ovocytes et différentes hormones.
- **La section tubulaire** : constituée par les voies génitales proprement dites, et qui présente trois étages :
 - **Les trompes utérines** : captent les ovocytes et sont le siège de la fécondation.
 - **L'utérus** : reçoit l'œuf fécondé, permet la mise en place du placenta puis le développement fœtal.
 - **Le col de l'utérus et le vagin** : séparent le corps de l'utérus du sinus uro-génital (le sinus uro-génital est constitué du **vestibule du vagin** et de la **vulve**, qui permettent de recevoir le pénis de l'étalon lors de la saillie ainsi que le passage du nouveau-né lors de la mise bas).

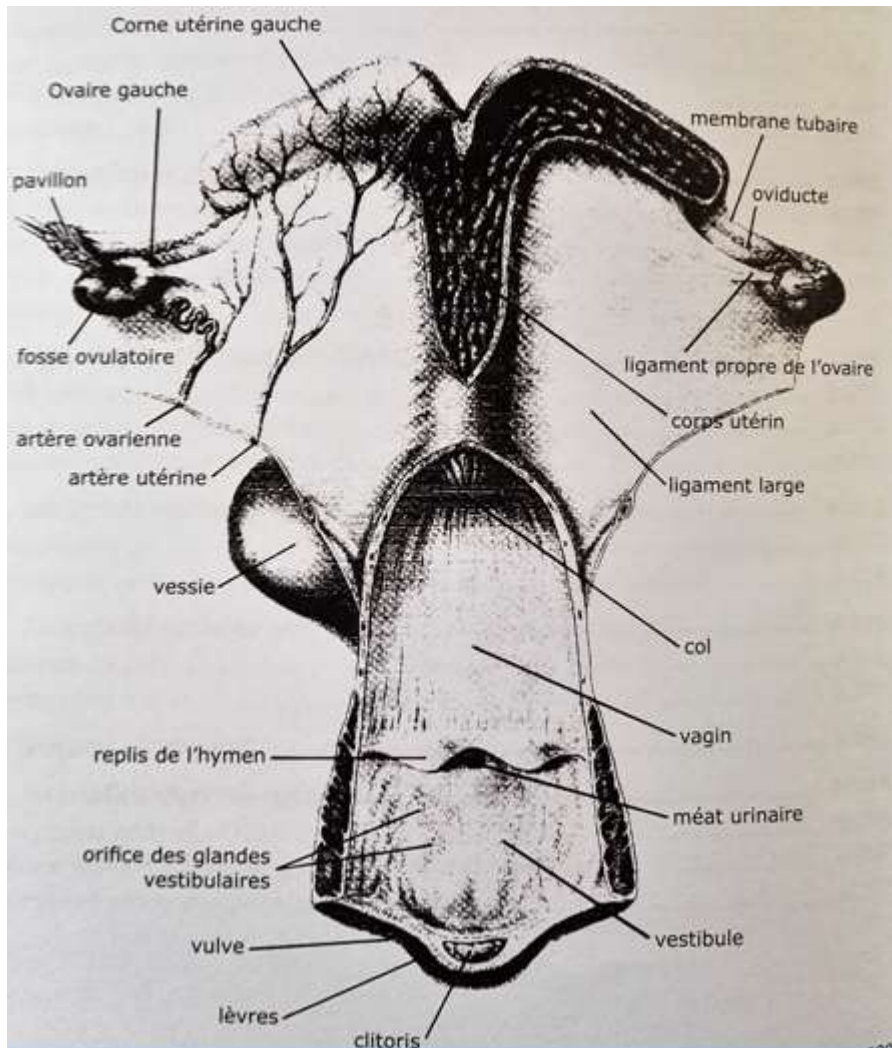


Figure 1 : Appareil génital de la jument (vue dorsale)(Ginther,1992).

1. Portion glandulaire

La portion glandulaire de l'appareil génital de la jument est représentée par les ovaires, qui ont un fonctionnement cyclique (Barone,1978).

1.1 Les ovaires

Les ovaires représentent les glandes génitales de la femelle, ils ont pour fonctions l'ovogénèse et la sécrétion endocrine par leur production d'hormones régulant l'activité génitale.

Chez la jument les ovaires représentent habituellement la partie la plus craniale de l'appareil génital non gravide, cette position très antérieure s'explique, comparativement aux ruminants notamment, par le fait que le tractus génital est à la fois non spiralé sur lui-même et que l'attache du ligament large se fait sur la partie dorsale de l'utérus , (chez d'autres espèces dont les ruminants, le tractus génital est spiralé, recourbé sur lui-même, et l'attache du ligament large sur l'utérus est à la fois ventrale et plus postérieure). Par conséquent, chez

La reproduction chez l'espèce équine

la jument, les ovaires se situent dans le plan transversal le plus antérieur de l'appareil génital alors que chez les ruminants une partie de l'utérus s'avance plus cranialement par rapport aux ovaires. Les ovaires, tout comme les follicules sont de bien plus grande taille chez la jument que chez les autres espèces de mammifères domestiques. Les ovaires équins ont la forme d'un haricot dont la taille varie en fonction de l'activité ovarienne. Ils sont plus volumineux pendant la saison de reproduction (printemps et été) et plus petits pendant la période de non activité (anœstrus hivernal). La taille moyenne des ovaires 6-8cm de long et de 3-4 cm de large par poids moyen de 70-80g (Ginther oj, 1992).

Les ovaires sont situés dans la région sous lombaire (en dessous de la 4^{ème} ou 5^{ème} vertèbre lombaire suspendus à de longs ligaments larges qui ont un peu l'aspect d'une serviette étalée, ils sont généralement positionnés plusieurs centimètres en arrière de chacun des deux reins. L'ovaire droit est systématiquement plus cranial de 2-3cm que le gauche. Du fait qu'ils peuvent être soulevés par les anses intestinales sur lesquelles ils flottent littéralement leur position réelle est variable. C'est la raison pour laquelle, les auteurs conseillent afin de faciliter la palpation des ovaires par voie transrectale, de suivre le trajet de la corne utérine ipsilatérale à son extrémité craniale (l'ovaire se situe en effet, à proximité de ce sommet de la corne utérine, parfois juste au contact du bout de la corne jusqu'à une distance de 5cm, en général un peu vers l'avant et vers le haut). On reconnaît sur chaque ovaire un pôle cranial et un pôle caudal. Une face latérale et une face médiale, la partie dorsale correspond à la zone d'attache du ligament, alors que la partie ventrale est libre. Le pôle caudal de l'ovaire est lié à la corne utérine par le ligament ovarien. Chaque ovaire en forme d'haricot présente au niveau de la partie ventrale une zone de dépression marquée. La partie dorsale de forme convexe est parfois appelée grande courbure (Ginther oj, 1992).

La surface externe de l'ovaire est largement recouverte par la séreuse péritonéale sauf au niveau de son attache dorsale, lieu de passage de l'innervation et de la circulation sanguine l'organisation interne de l'ovaire est spécifique des équidés avec une position respective de la médulla et du cortex très particulière. En effet, l'ovaire de jument est en quelque sorte (montée) à l'envers par rapport aux ovaires des autres espèces de mammifères domestiques, en d'autre terme chez la jument la médulla c'est-à-dire la zone de vascularisation de l'ovaire est périphérique entourant la partie corticale qui renferme les follicules et qui se situe au centre de la gonade. Ce tissu cortical n'est en contact avec la surface externe de l'ovaire qu'au niveau de la zone en dépression de la face ventrale de l'organe. Ce n'est par conséquent qu'au niveau de cette zone que l'ovulation peut se produire, c'est ce qui explique le nom de cette zone en dépression « la fosse d'ovulation ». Cette fosse d'ovulation est recouverte

La reproduction chez l'espèce équine

extérieurement par une assise de petites cellules polygonales qui correspondent à un vestige de l'épithélium germinatif primitif. La cicatrice d'ovulation des corps jaunes ne fait pas , compte tenu de cette structure particulière de l'ovaire, comme chez les autres espèces saillie au niveau de la surface convexe de l'ovaire, elle se situe plus dans la zone de la fosse d'ovulation. Les corps jaunes ont donc , comme les follicules, une localisation intra-ovarienne entraînant peu ou pas de déformation de la surface de l'ovaire , seules les volumineux follicules pourront être mis en évidence par palpation ovarienne. (Ginther oj , 1992).

L'ovaire possède à la fois une fonction endocrine et une fonction exocrine. La fonction exocrine correspond à la l'élaboration des gamètes et la fonction endocrine à la production des hormones sexuelles. L'ovaire est entouré d'une albuginée fibreuse blanchâtre, elle-même recouverte du péritoine rendant les faces lisses, à l'exception de la fosse d'ovulation. La zone corticale, contenant les organites de l'ovaire, est interne alors que la zone médullaire, très vascularisée, est repoussée à l'extérieur. (Chatelain, 1995).

Le maintien est assuré par le mésovarium, partie la plus craniale du ligament large. Il est renforcé par le **ligament suspenseur** de l'ovaire, qui lie la paroi lombaire à l'extrémité tubaire de l'ovaire. Le **ligament propre** de l'ovaire s'étend de l'extrémité utérine de l'ovaire à l'extrémité correspondante de la corne utérine. (Chatelain, 1995).

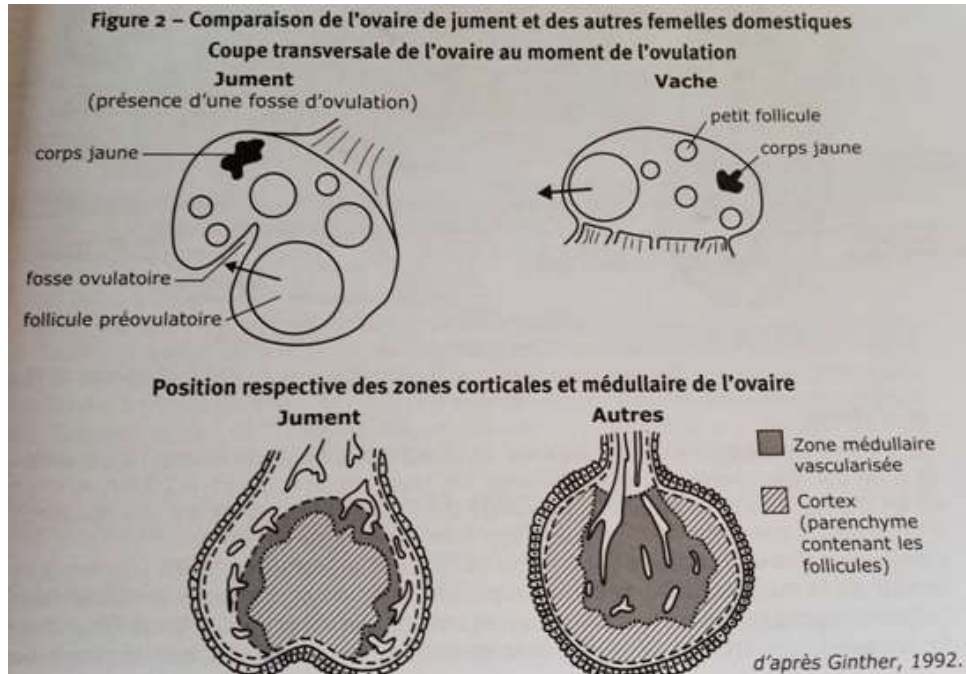


Figure 2 : comparaison de l'ovaire de jument et des autres femelles domestiques
Coupe transversale de l'ovaire au moment de l'ovulation (Ginther,1992).

La reproduction chez l'espèce équine

Les ovaires des mammifères domestiques sont le siège de la maturation ovocytaire chez les femelles.

Le développement folliculaire s'effectue dans la zone corticale de l'ovaire, et ce chez tous les mammifères. La particularité de l'espèce équine est la disposition de cette zone corticale au sein de l'ovaire. De plus, dans l'espèce équine, la zone d'ovulation de l'ovaire est restreinte à la fosse ovulatoire, par rapport aux autres mammifères domestiques où l'ovaire est presque entièrement recouvert d'épithélium germinatif. Le développement folliculaire s'effectue, chez la jument, en profondeur de l'ovaire et migre progressivement vers cette fosse ovulatoire où l'ovocyte sera libéré après l'ovulation (Kainer, 1993).

La vascularisation de l'ovaire :

La vascularisation de l'ovaire se fait via l'artère ovarienne, issue de l'artère iliaque interne. La vascularisation au sein même de l'ovaire est différente chez la jument par rapport aux autres mammifères, en relation avec la position relative particulière de la medulla et du cortex (Konig et Leibich, 2004).

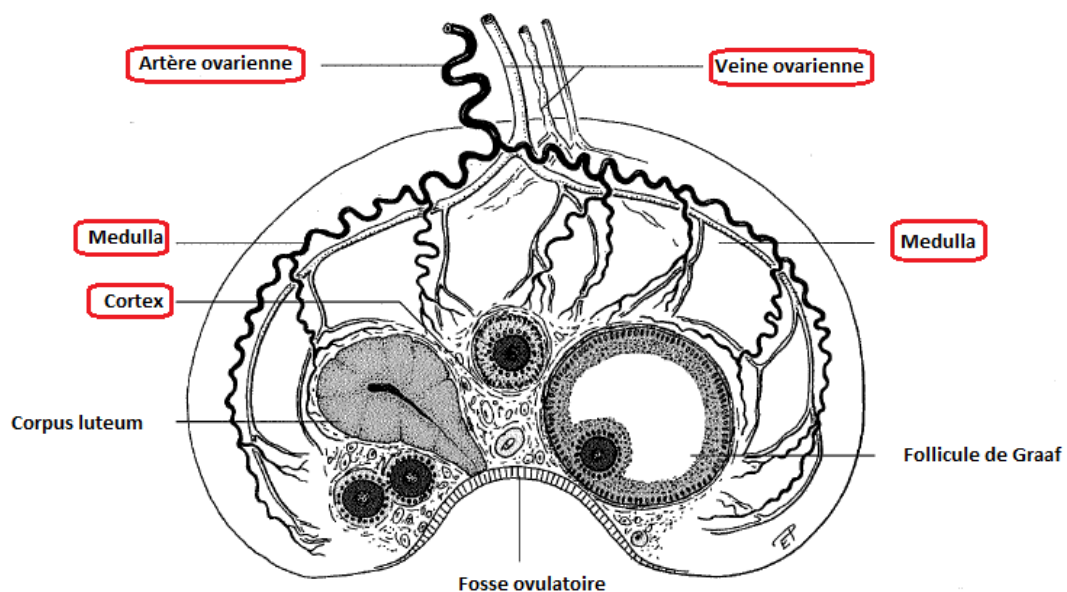


Figure 3 : Coupe schématique d'un ovaire de jument (Konig et Leibich, 2004)

2. Portion tubulaire

La portion tubulaire forme les voies génitales. On distingue :

- les trompes utérines.
- L'utérus.
- le vagin.

La reproduction chez l'espèce équine

2.1 Les trompes utérines

Appelées encore oviductes ou trompes de Fallope, sont de longs conduits sinueux mesurant, chez la jument 20 à 30 cm de longs lorsqu'ils sont totalement étirés. L'épithélium tubaire est cilié et cette ciliature induit une sorte de courant interne dirigé vers l'utérus. La trompe utérine est composée de 3 parties :

- ***L'infundibulum (pavillon)***

En forme d'entonnoir, est la partie la plus proche de l'ovaire

- ***L'ampoule***

Partie élargie un peu plus éloignée de l'ovaire

- ***L'isthme :***

Partie la plus étroite reliant l'ampoule à l'utérus.

Le bord cranial de l'infundibulum tubaire s'attache latéralement à la face latérale de l'ovaire. Au moment de l'ovulation, cette structure un peu en forme d'éventail recouvre la fosse d'ovulation afin de faciliter l'entrée de l'ovocyte dans le canal tubaire.

L'ampoule est la partie moyenne de la trompe utérine où se produisent la fécondation et la première division cellulaire, le 1^{er} clivage du zygote (ovocyte fécondé).

L'isthme aux parois riches en fibres musculaires assure le transit des jeunes embryons depuis l'ampoule, lieu de la fécondation, jusque dans la cavité utérine (L.Blanchard, 2005).

Les trompes utérines ne sont pas physiologiquement palpables par voie transrectale. (L.Blanchard, 2005).

2.2 L'utérus :

La forme globale de l'utérus de jument est souvent décrite comme étant celle du T majuscule, mais une forme en Y majuscule est sans doute, une vision plus proche de la réalité lorsqu'on regarde l'utérus vu de dessus en place dans la jument.

L'organe est appendu au ligament large, dans les cavités pelvienne et abdominale. La partie de ligament large à laquelle l'utérus est attaché est appelée **méso-metrium**. Le méso-metrium (**le ligament large**) s'attache directement sur la face dorsale des cornes utérines, alors que chez la vache, c'est sur la face ventrale, après avoir contourné les cornes latéralement. La partie libre de l'utérus se situe, par conséquent, ventralement par rapport au ligament large chez la jument et dorsalement à ce ligament large chez la vache. Cela limite un peu les capacités d'examen manuel du corps utérin du corps utérin par voie transrectale et empêcher de regrouper l'utérus dans la cavité pelvienne lors de cet examen transrectal chez la jument. à l'opposé, chez la vache ces deux procédés sont aisément réalisés. Les cornes utérines de la jument sont entièrement dans la cavité abdominale comme flottant au-dessus ou

La reproduction chez l'espèce équine

au milieu des anses intestinales (Sisson s, 1953).

La vascularisation de l'utérus est assurée de chaque côté par trois artères et veines qui cheminent dans le ligament large :

la branche utérine de l'**artère vaginale** et **veine** correspondante, l'**artère utérine** (par fois dénommée **artère moyenne de l'utérus**) et la **veine** correspondante et la branche utérine de l'**artère ovarique** et la **veine** correspondante (Sisson s, 1953).

2.3 Col utérin

Le col utérin est un organe soumis à de nombreuses variations. Son canal interne est tapissé par un épithélium dont les cellules secrètent un fin mucus ayant un rôle lubrifiant durant l'œstrus et un mucus épais qui obstrue la lumière du canal cervical pendant l'inter-œstrus et la gestation, le rendant beaucoup moins perméable aux bactéries et aux autres contaminants. Le col est apte à se dilater pour en quelque sorte se « mouler » autour de l'extrémité du processus urétral du gland du pénis lors des saillies et pour s'effacer au passage du poulain à la naissance. Il est en revanche hermétiquement fermé pendant l'inter-œstrus et plus encore pendant la gestation. Pendant l'œstrus, le col est très flasque et de ce fait beaucoup plus difficile à sentir par palpation transrectale.

Le col utérin de la jument diffère de celui de la vache en deux points majeurs :

3. La lumière du canal cervical peut largement se dilater et se refermer pendant le cycle œstral du fait de l'existence dans sa paroi d'une épaisse couche de fibres musculaires circulaires qui est également riche en fibres élastiques.

4. Le canal cervical ne comporte que des replis longitudinaux et non des anneaux transversaux qui l'oblitérent. par conséquent, l'accès à l'utérus par voie cervicale est beaucoup plus aisé et simple chez la jument que chez la vache (Sisson s , 1953) .

2.4 Le vagin :

C'est un organe tubulaire qui s'étend horizontalement sur 15 à 20 cm de long dans la cavité pelvienne, depuis l'exo-col jusqu'au repli transversal sur le plancher vaginal qui recouvre en partie l'**orifice externe de l'urètre**. Chez les juments vierges, ce repli transversal ventral se prolonge sur les autres parois vaginales (latérales et dorsales) pour former l'hymen. Exceptionnellement, cet **hymen** obstrue complètement la jonction vestibulo-vaginale, et est **imperforé** excluant toute possibilité d'accouplement tant qu'il n'est pas perforé chirurgicalement. Le vagin est prolongé caudalement par le vestibule (Ginther oj ,1992).

• Le vestibule

Il s'étend sur 10 à 12 cm depuis le repli transversal qui recouvre l'orifice externe de l'urètre et de la vulve. Un anneau vestibulo-vaginal existe à la jonction entre le vestibule et le vagin, en

La reproduction chez l'espèce équine

raison des muscles constricteurs de la vulve et du vagin qui se trouvent à ce niveau, cet anneau constitue une barrière efficace pour limiter la pénétration de contaminants dans les voies génitales plus postérieures.

• Vulve

Correspond à l'orifice externe des voies génitales femelles et aux structures qui l'entourent. L'ouverture vulvaire est verticale, elle commence normalement 5 à 7 cm en dessous de l'anus et se prolonge vers le bas sur 12 à 15 cm de long. La paroi des lèvres vulvaires renferme une musculature qui en assure le rapprochement étroit afin de fermer la fente vulvaire et de constituer une barrière à l'entrée des voies génitales.

Le **clitoris**, structure homologue du pénis, est logé dans une petite cavité située juste derrière et ventralement à la commissure inférieure des lèvres de la vulve. (Ginther oj ,1992).

TECHNIQUES D'EXAMEN DE L'APPAREIL GENITAL DE LA JUMENT PAR VOIE TRANSRECTALE

1- Contention de la jument :

Une contention adaptée de la jument est absolument indispensable avant de réaliser un examen de l'appareil génital. Cette précaution permet de prévenir les accidents aussi bien pour la femelle que pour le praticien. Une contention minimale mais efficace est la clé d'un examen en toute sécurité et doit être adaptée au cas par cas, en fonction de la jument. Il convient donc d'évaluer son comportement et ses réactions possibles avant d'entreprendre quoi que ce soit. Les juments habituées à subir des examens génitaux par voie transrectale régulièrement ne nécessitent, en général, qu'une contention minime, alors qu'une femelle non habituée, soumise la première fois à ce type d'examen, s'affole souvent un peu et parfois explose littéralement en cours d'examen. De manière idéale, un travail doit comporter une porte matelassée à l'arrière pour limiter les coups de pied si la jument rue, tout en évitant qu'elle ne se blesse les postérieurs. Il est possible également de la contenir en faisant tenir levé un des antérieurs. Le relèvement de la queue directement au dessus de la croupe et du dos de la jument aide aussi à détourner son attention vis-à-vis de ce que lui fait le praticien, un tord-nez peut être utilisé comme moyen de contention supplémentaire. Une tranquillisation peut se révéler utile pour assurer la contention de juments particulièrement nerveuses (Terry, 2005).

2- Technique de l'examen

L'examen se fait après avoir mis de longs gants en plastique à usage unique recouvrant la main, l'avant bras et le bras jusqu'à l'épaule (gants de palpation transrectale). La main protégée sera abondamment lubrifiée avant de commencer, un lubrifiant aqueux. La

La reproduction chez l'espèce équine

main une fois lubrifiée est étendue, les doigts resserrés en forme de cône afin d'être introduite dans le rectum en passant le sphincter anal qui est étroitement fermé. De lents mouvements de rotation du bras associés à une légère pression vers l'avant facilitent la progression dans le rectum. **NE PAS POUSSER VIOLEMMENT LA MAIN VERS L'AVANT !**

Le rectum doit alors être vidé de tous les crottins qu'il contient jusque le plus cranialement possible, avant de chercher à palper les structures intra-abdominales et pelviennes.

Trois points de repères de base sont régulièrement désignés par des experts sur le sujet pour identifier le tractus génital : le col, la bifurcation puis le bord antérieur des cornes utérines et les ovaires . La position de ces différentes structures est relativement variable .

Si la technique est correctement mise en place sur un utérus non dilaté par une gestation et ayant une localisation topographique physiologique, la main en crochet va alors facilement agripper l'utérus, le plus souvent au niveau de la bifurcation des cornes.

Les ovaires sont situés sous la voûte lombaire en position caudo-ventrale par rapport au rein ipsi-latéral . En introduisant le bras dans le rectum et en dirigeant la main vers la position supposée de l'ovaire , ce dernier peut habituellement être repéré du bout des doigts . Profitant d'un relâchement de la paroi du rectum , de légers mouvements de fermeture des doigts en pince permettent alors de saisir l'ovaire dans le creux de la main . Les ovaires sont tirés vers le bas et médialement lorsque le poids de l'utérus est augmenté (c.-à-d. au cours du post-partum, en fin de gestation).

Une fois que l'un de ces points de repère a été localisé et palpé, il suffit de partir de celui-ci et de réaliser une palpation méthodique de l'ensemble de l'appareil génital . Cet examen concerne les deux ovaires ,l'utérus et le col (Terry,2005)

PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA JUMENT NON GRAVIDE

1. Le cycle œstral

La jument est un animal **poly-œstrien saisonnier**, pendant la saison de reproduction, la jument non gravide a des cycles œstraux qui s'enchainent. Le cycle œstral est défini comme la période qui s'étend entre deux ovulations, avec des signes cliniques correspondant à l'œstrus pendant lequel la concentration plasmatique de progestérone est inférieure à 1ng/ml.

« Le cycle œstral comprend en fait la période qui correspond au processus conduisant à l'ovulation et la période entre deux ovulations ».

Le cycle œstral peut donc être considéré comme ayant deux phases : Une **phase folliculaire** est une **phase lutéale** . La phase folliculaire correspond à l'**œstrus** durant lequel la jument

La reproduction chez l'espèce équine

accepte d'être saillie par l'étalon et l'appareil génital est apte à assurer le transit des spermatozoïdes jusque dans les trompes utérines afin de permettre la fécondation, cette phase inclut le processus d'ovulation. La phase lutéale correspond à l'**inter-œstrus** durant lequel la jument refuse les accouplements et l'appareil génital est apte à permettre le développement embryonnaire. La période d'inter-œstrus se termine avec la régression du corps jaune et l'initiation de la phase folliculaire suivante.

La durée moyenne du cycle œstral mesurée au sein d'une large population de juments pendant la saison physiologique de reproduction est 21 à 22 jours avec des extrêmes ayant approximativement de 18 à 24 jours. La durée moyenne de l'œstrus est de 4 à 7 jours. La durée de l'inter-œstrus reste relativement constante de 14 à 15 jours et est moins affectée par l'influence des saisons que la durée de l'œstrus. La durée de l'œstrus est plus variable ayant de 2 à 12 jours ou plus. Au début de la saison de reproduction cette durée peut être encore bien plus longue, sans doute à cause d'une moindre décharge d'hormone lutéinisante à cette période. Par ailleurs, le diamètre du plus gros follicule au moment de la lutéolyse peut influencer l'intervalle de temps entre le début de l'œstrus et la survenue de l'ovulation (Daels pf, 1993).

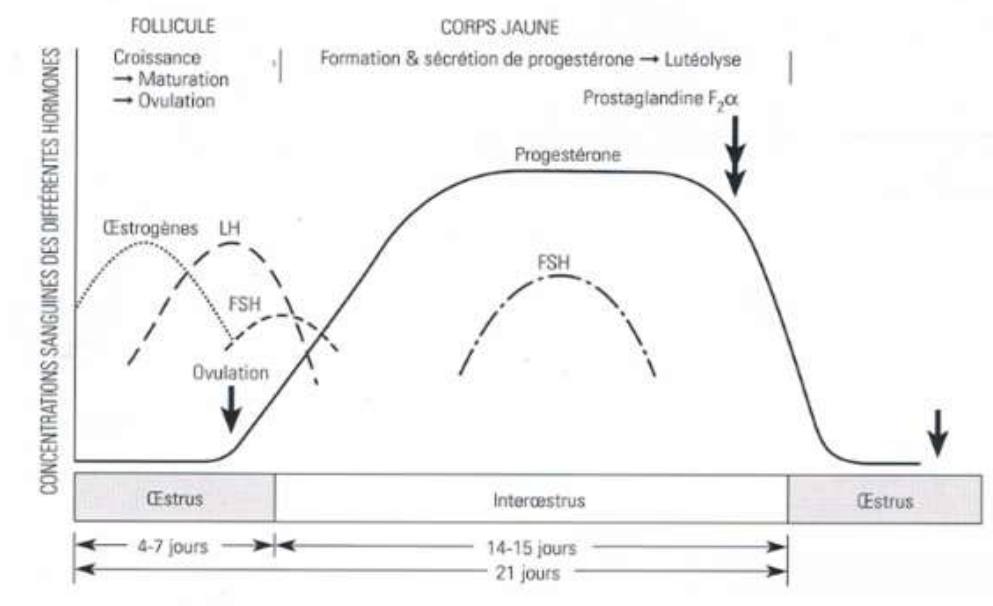


Figure 4 : la durée moyenne du cycle œstral chez la jument (Ginther, 1992).

Le déroulement régulier des cycles œstraux repose sur le délicat équilibre entre les hormones produites par la glande pinéale (épiphyse), l'hypothalamus, l'hypophyse, les ovaires et l'endomètre. Les cellules neuro-sécrétrices de l'hypothalamus produisent la **gonadolibérine** (la **GnRH Gonadotropin Releasing Hormone**). Les axones de ces cellules se projettent à l'intérieur de l'espace péri-vasculaire de l'éminence médiale au niveau de la tige pituitaire et

La reproduction chez l'espèce équine

libèrent de manière épisodique la GnRH dans le système porte hypothalamo-hypophysaire, lequel transporte l'hormone jusqu'à l'hypophyse antérieure (Daels pf ,1993).

La GnRH stimule la synthèse et la libération des hormones gonadotropes , **FSH (Follicule Stimulating Hormone)**, et **LH (luteinising hormone)** ,par l'hypophyse antérieure. Ces hormones passent dans la circulation sanguine et , au niveau des ovaires , la FSH est responsable de la maturation des follicules et de la production d'œstrogènes, tandis que la LH est responsable de l'ovulation et de formation du corps jaune. Les œstrogènes sécrétés par les follicules en cours de maturation assurent un rétrocontrôle positif sur la libération de LH lorsque la progestéronémie est basse , ce qui provoque la décharge ovulante de LH. L'inhibine et les œstrogènes produits par les follicules en croissance assurent un rétrocontrôle négatif sur la libération de FSH, ils inhibent donc la libération de FSH. La progestérone produite par le corps jaune assure un rétrocontrôle négatif sur la libération de LH (Daels pf ,1993).

La phase folliculaire du cycle œstral est caractérisée par la croissance terminale des follicules, associée à la production d'**œstrogènes**, elle se manifeste par le comportement œstral. De nombreux follicules commencent leur processus de maturation, mais habituellement, seul un follicule devient dominant et ovule. Le développement folliculaire au cours d'un cycle œstral se déroule habituellement en une ou deux vagues de croissance folliculaire.

Les autres follicules de la vague de croissance sont déjà en cours d'atrésie, et en fin de compte dégènèrent, leur taille diminuant. Le diamètre des follicules au moment où ils ovulent est en général compris entre 30 et 70 mm (rarement <35mm). La taille habituelle du follicule au moment de l'ovulation est de l'ordre de 40 à 45mm. La taille au moment de l'ovulation est souvent plus grande en début de saison de reproduction (de Mars à Mai) comparée à celle des follicules ovulant en pleine saison de reproduction (de Juin à Juillet). La majorité des ovulations se produit au cours des 48 dernières heures avant la fin de l'œstrus (habituellement le jour où l'intensité des signes comportementaux œstraux commence à diminuer) (Daels pf ,1993).

La phase lutéale débute avec l'ovulation par la formation du corps jaune source de sécrétion de la progestérone. Cette sécrétion provoque chez la jument un arrêt des manifestations comportementales de l'œstrus. La durée de vie du corps jaune dépend de la sécrétion endogène de **prostaglandine F2α(PGF2α)** par l'endomètre. Chez la jument cyclée non gravide, des décharges brutales de PGF2α à partir de l'endomètre se produisent entre le 13^e et le 16^e jour après l'ovulation. La PGF2α est captée par le drainage veineux de l'utérus,

La reproduction chez l'espèce équine

passé dans la circulation sanguine générale et gagne l'ovaire par voie systémique. La lutéolyse rapide induite par la $PGF_{2\alpha}$ se traduit par une diminution de la progestéronémie qui commence à pouvoir être mise en évidence dans les 4 heures qui suivent. Cela a pour effet, en retour, de lever l'inhibition exercée sur la sécrétion de LH. La maturation folliculaire et les signes comportementaux caractéristiques de la phase folliculaire du cycle œstral peuvent alors se produire (Daels *et al.*, 1993).

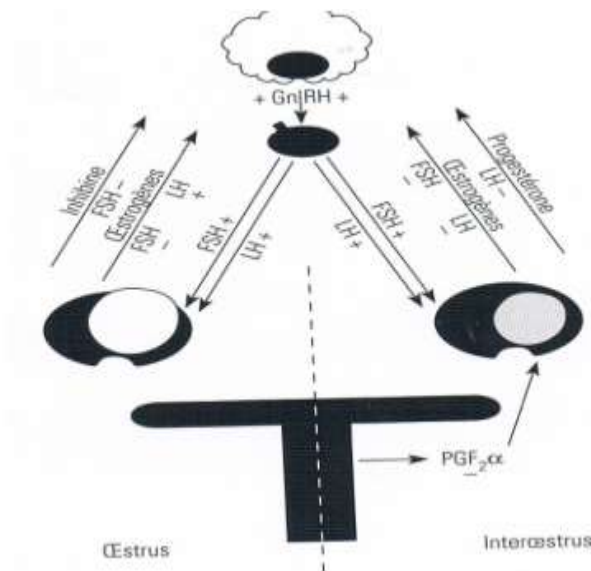


Figure 5 : schéma représentatif de la physiologie du cycle œstral chez la jument (Ginther, 1992).

1.1 Diagnostic de la phase du cycle œstral

La diagnose du stade du cycle œstral peut être faite par examen de l'appareil génital. Les critères évalués par palpation transrectale, pour tenter de déterminer la phase du cycle sont la taille et la consistance du ou des follicule(s) ovarien(s) et la tonicité de l'utérus et du col. Hormis au cours des 48 heures qui suivent l'ovulation, il n'est pas possible de mettre en évidence, par palpation transrectale des ovaires, la présence d'un corps jaune chez la jument. En effet, le follicule ovule au niveau de la fosse d'ovulation et la cavité folliculaire est intra-ovarienne, le corps jaune qui se développe ensuite à son niveau ne fait par conséquent pas saillie à la surface de l'ovaire. L'échographie par voie transrectale est également utile pour déterminer le stade du cycle œstral parce que la taille et les caractéristiques des follicules peuvent être directement observées, les corps jaunes peuvent être visualisés et l'intensité de l'œdème présent au niveau de l'utérus peut être appréciée. La conformation du col utérin : fermé et sec ou relâché, œdématisé et humide avec la présence de sécrétion de mucus peut être estimée par palpation transrectale ou observée à la faveur d'un examen vaginoscopique.

La reproduction chez l'espèce équine

Enfin, l'enregistrement des résultats du dépistage des signes comportementaux caractéristiques des chaleurs, avec un relevé précis des dates de mise en évidence de l'œstrus et/ou du refus de l'étalon, est très utile pour la diagnose des stades du cycle œstral.

De gros follicules pouvant être présents à n'importe quel stade du cycle œstral, l'évaluation de la taille folliculaire, n'est donc pas par elle-même, un indicateur fiable de l'œstrus ou de l'inter-œstrus. Lorsqu'une jument manifeste des signes comportementaux d'œstrus pendant l'épreuve de la barre de monte en présence d'un étalon, un ou plusieurs gros follicules sont présents dans l'ovaire, l'utérus et le col sont de consistance flasque, et le col est relâché. L'œdème des replis de l'endomètre peut être mis en évidence lors de l'examen échographique. L'ensemble de ces éléments fait conclure à une phase œstrale. Les mêmes critères sont utilisés pour prédire la survenue de l'ovulation et décider de la mise à la reproduction d'une jument en œstrus (Daels pf,1993).

5. Saisonnalité :

La variation saisonnière de la durée de l'éclairement journalier a une forte influence sur l'activité de reproduction de la jument. Le cheval est une espèce à reproduction saisonnière, du fait d'une régulation par la durée quotidienne de la lumière du jour ou photopériode. Le système de régulation de la fonction de reproduction du cheval répond positivement à l'augmentation de la durée de l'éclairement quotidien, et négativement à la diminution de longueur des jours. La longueur de la photopériode journalière module la fonction de reproduction en jouant sur la sécrétion de GnRH. Bien que mécanisme intime de l'activité de régulation de la glande pinéale sur la saisonnalité de la jument demeure non totalement élucidé, cette **glande pinéale (épiphyse)** est considérée comme étant à l'origine du signal de régulation de l'activité de l'hypothalamus via la sécrétion de la **mélatonine**. Chez la majorité des juments, mais pas toutes, la sécrétion de mélatonine est augmentée pendant la période nocturne. Lorsque les jours sont courts, la mélatonine produite par l'épiphyse est considérée comme étant responsable de l'inhibition de la synthèse et de la décharge de GnRH. En période de jours longs, la sécrétion de la mélatonine est réduite et l'effet inhibiteur sur la synthèse et la sécrétion de GnRH est levé (Fitzgerald BP ; Guillaume d, 1995).

Alors que la transition entre les saisons est un processus graduel et progressif, l'activité de la fonction de reproduction des juments au cours d'une année peut être divisée, à des fins descriptives, en quatre périodes qui correspondent aux changements de la durée du jour :

La reproduction chez l'espèce équine

- La phase d'activité maximale de la fonction de reproduction, correspondant à la saison et à la **période ovulatoire**, se situe au moment où les jours sont les plus longs autour du solstice d'été (21 Juin).
- La phase de transition qui suit est une **période d'anovulation**, coïncide avec le moment de l'équinoxe d'automne (21 Septembre) lorsque les jours et nuits ont la même longueur. Au cours de cette phase, les juments peuvent présenter des comportements d'œstrus un peu erratiques car non associés à des ovulations.
- La phase d'**anœstrus** ou de repos sexuel est centrée autour et après la période où les jours sont les plus courts de l'année, autour du solstice d'hiver (21 Décembre) .
- La phase qui suit celle d'anœstrus est une autre phase de transition ou **période d'anovulation** qui se déroule au moment de l'équinoxe de printemps (21 Mars). Cette période est caractérisée par une longue période de chaleurs assez erratique qui au final se terminera par la première ovulation de la saison de reproduction.

N.B : quelques juments conservent une action cyclique toute l'année. Même au sein des effectifs de juments qui vivent près de l'équateur, beaucoup ont tendance à présenter des saisons de reproduction et des périodes d'anœstrus (Guillaume D,1995).

La saisonnalité de la reproduction existe, en fait, physiologiquement pour que les poulains naissent au printemps, lorsque les conditions naturelles de vie à l'état sauvage sont les plus favorables à la survie des poulains (objectif de la saisonnalité). Cela peut être illustré par différents aspects de ces variations de la fonction de reproduction au cours de l'année. Au fur et à mesure que la durée des jours augmente, la longueur des phases œstrales diminue et le taux d'ovulations augmente, tout cela aboutissant à la fois à plus de gestations pour moins de travail. Les œstrus les plus courts et les taux d'ovulations les plus élevés surviennent en Juin, pour des poulinages qui auront lieu en Mai de l'année suivante. De plus, il y'a d'autres facteurs, dont le déterminisme n'est pas très bien élucidé, qui favorisent les mises-bas des juments pendant la saison de reproduction. Les juments qui poulinent tôt dans l'année ont tendance à avoir des gestations beaucoup plus longues que celles qui poulinent plus tardivement dans la saison. De la même manière, lors de poulinage précoce dans l'année, la première ovulation post-partum a tendance à survenir plus longtemps après la mise-bas que chez les juments qui ont leurs chaleurs de poulinage plus tardivement dans l'année. Tous ces phénomènes laissent penser qu'il existe des mécanismes intrinsèques qui poussent à ce que les accouplements et les poulinages se déroulent au moment de la saison physiologique naturelle de reproduction (de Mai à Juillet) (Ginther oj,1992).

La reproduction chez l'espèce équine

SAISON DE MONTE EFFECTIVE

L'espèce équine a été présentée comme une espèce très peu performante en termes de reproduction et d'élevage en comparaison aux autres espèces de mammifères domestiques. Cependant, cela est un faux raisonnement qui tient au fait que l'on a voulu faire correspondre la saison de monte à d'autres contraintes que celle de la physiologie afin de répondre aux besoins des sociétés humaines. La saison de monte effective pour les chevaux fixée le 1^{er} Janvier, est souvent officialisée comme se déroulant entre le 15 Février et les premières semaines de Juillet. Ce déplacement de la saison « administrative » de monte par rapport à la saison physiologique de reproduction fait qu'elle débute en période d'anovulation caractérisée par des chaleurs prolongées et des ovulations qui tardent à se produire, indiquant que les juments ne sont pas encore en période optimale de mise à la reproduction. Des échecs sont souvent enregistrés lorsque les chevaux sont mis à la reproduction en dehors de la période physiologique propice.

Lorsque la mise à la reproduction a lieu pendant la saison physiologique, la fertilité obtenue est parfaitement acceptable (Nishikawa Y,1975)

EXAMEN ECHOGRAPHIQUE PAR VOIE TRANSRECTALE D'UNE POULINIÈRE

En 1980, l'échographie en temps réel est pour la première fois utilisée considérée comme un outil de diagnostic potentiellement intéressant dans le domaine de la reproduction équine. Depuis cette première publication, les applications du diagnostic échographique en reproduction équine ont littéralement explosé, au point que l'échographe est devenu un outil fondamental pour ne pas dire indispensable à la fois pour les praticiens vétérinaires et pour les chercheurs.

Les images en deux dimensions avec différents niveaux de gris produites par les échographes en temps réel fonctionnant en mode B (B=mode brillance) fournissant une vue dynamique détaillée des structures étudiées. Sur cette base, l'échographie peut réellement voir les organes de la reproduction, qui jusque là n'étaient pas visibles, et peut suivre les différents événements de la vie génitale, de manière non invasive, apparemment sans effet secondaire néfaste pour les patientes examinées. Bien que la technologie qui se cache dans les échographes en temps réel soit assez complexe, la réalisation d'une échographie est relativement simple pour un spécialiste de la reproduction entraîné. Elle nécessite simplement une bonne habitude de la palpation transrectale et une connaissance de base des principes physiques de l'échographie et des images échographiques des différentes structures anatomiques de l'appareil génital (Ginther OJ ,1986).

La reproduction chez l'espèce équine

1. Technique de l'examen échographique

L'examen échographique de l'appareil génital de la jument est en général réalisé par voie transrectale. Le recours à un abord par voie transcutanée est limité à l'examen de l'utérus et du fœtus en fin de gestation (3 à 4 mois avant terme) .

Pour effectuer un examen échographique de l'appareil génital de la jument par voie transrectale , il convient de suivre les étapes suivantes :

- Evacuer avec une main et un bras très bien lubrifiés tous les excréments du rectum. Veiller à ne pas faire pénétrer d'air dans le rectum pendant ce retrait des crottins, car les ultrasons ne traversent pas l'air ce qui empêcherait de voir les structures sous-jacentes.
- Palper de manière systématique l'ensemble des organes de l'appareil génital.
- Après cette palpation, effectuer l'examen échographique en tenant la sonde protégée dans le creux de la main afin d'éviter tout risque de lésions des parois du rectum. Employer ensuite une procédure d'examen méthodique et systématisée.
- Veiller à bien lubrifier la sonde et à lui assurer un très bon contact avec la paroi du rectum, pour cela éviter la présence d'air et de fèces entre la sonde et les structures sous-jacentes.
- En cas de réaction excessive de la jument (violents efforts expulsifs en particulier), arrêter l'examen et faire une tranquillisation de l'animal. Dans de rares cas, une anesthésie épidurale peut s'avérer nécessaire avant de poursuivre l'examen..

Lors de l'examen proprement dit, nous préférons avancer la sonde lentement au dessus du col puis du corps de l'utérus jusqu'à visualiser la lubrification des cornes. La sonde est ensuite lentement déplacée en direction de l'extrémité de la corne utérine en prenant garde à ce que la succession des images en coupe transversale de la corne demeure au centre de l'écran. Lorsque la sonde atteint l'extrémité de la corne et qu'elle est déplacée légèrement vers l'avant et vers le haut, l'ovaire est examiné dans sa totalité. La sonde est alors lentement déplacée le long de la corne utérine en direction de la bifurcation des cornes et l'autre ovaire sont examinés de la même manière. Une fois que le second ovaire a été examiné, la sonde est ramenée lentement vers la bifurcation des cornes. Elle est ensuite retirée en imprimant un léger mouvement de rotation d'un côté à l'autre du corps utérin et du col jusqu'à ce qu'elle soit sortie du rectum. Cette démarche systématique permet d'être sûre que la totalité de l'appareil génital a été examinée à deux reprises, permettant une diagnose correcte de la localisation d'une vésicule embryonnaire ou des vésicules embryonnaires lors de gestations multiples ainsi que des anomalies présentées par l'utérus. Cette démarche systématique doit

La reproduction chez l'espèce équine

également, en principe, permettre d'être assuré de ne pas avoir raté la visualisation d'un ou de plusieurs embryons ou fœtus (McKinnon AO,1993).

Le diagnostic échographique est de ce fait utilisé chez les juments poulinières pour :

- Evaluer et suivre l'activité ovarienne .
- Diagnostiquer des affections de l'appareil génital.
- Diagnostiquer une gestation et suivre son déroulement.

2. Examen des ovaires :

Les ovaires de la jument sont facilement examinés par échographie transrectale. Le tissu du stroma ovarien est uniformément échogène (blanc). Les follicules au contenu liquidien apparaissent donc sous la forme d'images anéchogènes (noires) en forme de disque ou parfois un peu irrégulières (Ginther OJ ,1986).

L'aspect échographique des corps jaunes est variable allant d'une image uniformément hyperéchogène à une image hétérogène ou un peu mouchetée où seulement une partie de la structure est composée de tissu échogène. Du fait de leur limite assez distincte, une assez grande proportion des corps jaunes peut être mise en évidence par rapport au stroma ovarien qui les entoure (Ginther OJ, 1986).

2.1 Estimation du stade du cycle œstral

L'avènement de l'échographie en temps réel fournissant des images de très bonne qualité a permis des études détaillées de la dynamique de la croissance folliculaire au cours du cycle œstral chez la jument. Au cours d'un cycle, les juments ont dans la majorité des cas une seule vague de croissance folliculaire, mais il peut survenir, moins fréquemment, des cycles avec deux vagues de croissance folliculaire. Dans l'un ou l'autre des cas, le follicule pré-ovulatoire devient identifiable par échographie environ 10 à 12 jours avant l'ovulation. Les follicules d'inter-œstrus (c.à.d. les gros follicules mis en évidence alors qu'un corps jaune cyclique fonctionnel est présent) peuvent parfois atteindre une taille quasi identique (à savoir >35mm de diamètre) à celle du follicule pré-ovulatoire de l'œstrus, bien que ce dernier soit, en général, le follicule qui atteint la plus grande taille au cours d'un cycle.

Les follicules destinés à ovuler ont une croissance rapide (augmentation moyenne de leur diamètre de l'ordre de 3mm/jour) qui débute environ 7 jours avant l'ovulation. Cette augmentation rapide de taille se fait en parallèle de l'atrophie des autres follicules de la même vague de croissance folliculaire. Le corps jaune est en général visible pendant toute la période où il est fonctionnel. Parfois, néanmoins, la structure lutéale demeure visible par échographie, même après l'ovulation du cycle suivant. A moins qu'une limite nette soit mise en évidence autour du corps jaune, il peut être difficile de différencier un corps jaune du stroma ovarien,

La reproduction chez l'espèce équine

puisque tous deux sont échogènes. Un dosage de la progestéronémie peut dans ce cas-là être utile pour confirmer ou infirmer l'existence d'une phase lutéale. Si la concentration sanguine de progestérone est élevée, un corps jaune fonctionnel est présent, si cette concentration est faible, l'image échogène correspond plus à du stroma ovarien ou à un corps jaune non fonctionnel en cours d'involution. Lorsque toutes les caractéristiques échographiques des différentes structures présentes dans les deux ovaires d'une jument sont prises en compte, en association avec les données sur l'aspect échographique de l'utérus et sur la tonicité ou le relâchement du col utérin, il est possible d'estimer le stade du cycle œstral avec un degré de certitude beaucoup plus grand que par la seule palpation transrectale.

L'inactivité ovarienne de la phase d'anœstrus saisonnier est caractérisée par de petits ovaires avec une activité folliculaire réduite voire absente et aucune structure lutéale. La période de transition avec un hyper-œstrus est caractérisée par une activité folliculaire marquée et prolongée avec de nombreux follicules de différentes tailles avec aucune apparition de structure lutéale associée à des images échographiques de l'utérus et du col qui ne correspondent pas exactement à celles caractéristiques de l'œdème observé lors d'œstrus ovulatoires (McKinnon AO,1993).

2.2 Prédiction ou diagnostic de l'ovulation

L'échographie transrectale permet de mesurer le diamètre de l'image en coupe du follicule, d'apprécier sa forme ainsi que l'échogénicité du liquide folliculaire autant de paramètres utiles pour tenter de prédire la survenue de l'ovulation. Le diamètre d'un follicule prêt à ovuler est en général compris entre 40 et 50 mm. Néanmoins, des ovulations peuvent se produire au niveau de follicules de plus petite taille, en particulier lors d'ovulations doubles unilatérales (McKinnon AO,1993).

Dans les 24 heures qui précèdent l'ovulation, la majorité des follicules, mais pas tous, ont tendance à perdre leur forme sphérique pour devenir ovoïdes ou piriformes. De la même manière et au même moment, l'image échographique de la paroi du follicule a tendance à devenir plus large avec un aspect un peu flou ou festonné. Le sommet du follicule piriforme sera à proximité de la fosse d'ovulation. Parfois, il est constaté que l'échogénicité du liquide folliculaire a tendance à légèrement augmenter juste avant l'ovulation, mais cela n'est pas un indicateur fiable de l'imminence de cette dernière.

Au moment de l'ovulation, le follicule se vide de son contenu liquidien soit de manière très rapide et brutale, soit plus graduellement ce qui correspond à un délai qui va de 1 à 7 minutes. L'échogénicité du follicule change alors passant d'une structure d'échogénicité hétérogène, lorsque le liquide folliculaire est évacué et que le tissu lutéal commence à se

La reproduction chez l'espèce équine

mettre en place. Le corps jaune en cours d'installation présente souvent une petite cavité centrale anéchogène qui correspond à la persistance d'un peu de liquide folliculaire ou à la présence de sang. Dans certains cas également, cette cavité peut présenter, pendant plusieurs jours, des zones avec une brillance échogène soit à l'intérieur même de la cavité soit autour d'elle. Il est exceptionnel qu'un follicule qui se vide de son contenu ne se transforme pas en corps jaune.

Des examens échographiques ovariens en période péri-ovulatoire garantissent une détermination précise du nombre, de la localisation, de la taille et de la forme des follicules ovariens. Contrairement à la palpation transrectale, l'échographie ovarienne peut précisément diagnostiquer les ovulations de plusieurs follicules présents dans le même ovaire (Ginther OJ,1986).

3. Examen des voies génitales

Bien que les trompes utérines ne puissent pas être facilement détectées à l'aide d'une sonde échographique, le reste des voies génitales peut être habituellement examiné dans leur totalité. Il n'y a que lorsque l'utérus est très volumineux que cela n'est pas possible, ce qui produit :

- Au début de l'involution utérine post-partum ;
- Lors de gestation à un stade avancé ;
- Lors de situations pathologiques telles les pyromètres, les mucomètres, l'existence de très gros kystes lymphatiques de l'endomètre (Ginther OJ,1986).

3.1 Estimation du stade du cycle œstral

L'échogénicité des tissus utérins en fonction de l'imprégnation hormonale peut permettre de distinguer un inter-œstrus, phase lutéale progestative, d'un œstrus, phase folliculaire ostrogénique du cycle œstral. L'utérus lors de l'inter-œstrus (imprégnation progestative) a une échogénicité relativement homogène. Il n'est pas possible, pendant l'inter-œstrus (entre le 2^e ou 3^e jour et le 14^e ou 16^e jour post-ovulation), de distinguer sur les images échographiques ni la lumière utérine ni les replis de l'endomètre. Souvent, lors de l'inter-œstrus, une réflexion intense d'échos ultrasoniques (ligne blanche) apparaît sur l'image en coupe longitudinale du corps utérin au niveau de la lumière utérine qui est virtuelle. Au niveau des images en coupes longitudinales du corps utérin, cela donne une ligne plus ou moins continue au milieu de l'image correspondant à l'utérus alors que sur des images en coupe transversale de la corne, cela peut apparaître comme un point très échogène au centre de la corne. Au moment de l'œstrus, l'aspect échographique de l'utérus est très hétérogène avec un mélange de zones hypo-échogènes, les replis de l'endomètre sont alors devinés. Ce

La reproduction chez l'espèce équine

type d'images échographiques résulte de l'œdème de l'endomètre et plus rarement d'un peu de liquide secrété par les glandes endométriales dans la lumière utérine. Un motif assez caractéristique, ressemblant à une étoile de mer est alors bien visible sur les images en coupe transversale des cornes utérines des juments en œstrus. L'aspect caractéristique des images de cornes utérines sous imprégnation ostrogénique est également souvent comparé à **une tranche d'orange ou de tomate**...l'intensité de l'hétérogénéité des images échographiques utérines (donc l'intensité de l'œdème de l'endomètre) est maximale environ 1 à 3 jours qui suivent l'ovulation. Les transitions entre aspect hétérogène et homogène et vice et versa se passe de manière plus graduelle pendant l'automne pour les juments qui sont encore cyclées à cette saison.

Le col utérin des juments en inter-œstrus est bien délimité, hyperéchogène et contracté. Pendant l'œstrus, il devient moins visible et est relâché, il perd une partie de son échogénicité. La lumière du canal cervical a plus de chance d'être vue par échographie au moment de l'œstrus que l'inter-œstrus (Ginther OJ,1986).

*Données générales sur les paramètres
hémato-biochimiques équins*

I. Hématologie

1. Généralités

Le sang est un tissu constitué de plusieurs types cellulaires reposant sur une matrice liquide de nature essentiellement protéique. Les cellules sanguines sont fabriquées à l'origine dans la moelle osseuse. On distingue deux tissus cellulaires ; le tissu myéloïde et le tissu lymphoïde.

Les cellules sanguines issues du tissu myéloïde sont fabriquées à partir de trois lignées:

- La lignée érythroïde à l'origine des érythrocytes ou globules rouges.
- La lignée myélo-monocytaire qui donne les granulocytes et les monocytes.
- La lignée plaquettaire à l'origine des plaquettes (même si pour certains auteurs les plaquettes ne sont pas des cellules).

Les cellules issues du tissu lymphoïde sont les précurseurs de la lignée lymphoïde ; les lymphoblastes. Ces cellules vont donner des lymphocytes qui sont le 4^{ème} et dernier élément cellulaire présent dans le sang périphérique circulant (Archer,1977).

• Les érythrocytes (Globules Rouges ou Hématies)

sont des cellules anucléées contenant un pigment(l'hémoglobine) , permettant le transport d'oxygène au sein de l'organisme.

Beaucoup d'hormones ont par ailleurs un effet activateur sur la lignée érythroïde : les corticoïdes et l'ACTH, la thyroxine et la TSH, la prolactine , l'hormone de croissance. Seuls les œstrogènes inhibent l'érythropoïèse.

La durée de vie des hématies du cheval est de 150 jours, par ailleurs , le temps de vie des hématies est plus court chez les nouveau-nés et chez les animaux atteints d'anémie à médiation immune ou d'anémie ferriprive (Christine medaille,2008).

• Les leucocytes (Globules blancs)

Comprennent les cellules granuleuses et lymphocytes , qui sont respectivement impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire et humorale.

Dans des conditions physiologiques , la proportion respective de granulocytes et de lymphocytes varie avec l'âge et avec le stress de l'animal. Ainsi, une leucocytose physiologique est notée lors d'activité musculaire intense et au moment de la parturition (Christine medaille,2008).

• Les plaquettes

Sont issues de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes médullaires et sont indispensables à l'hémostase. Parmi les mammifères, le cheval a le nombre de plaquettes le plus bas (environ 150000/mm₃) (Christine medaille,2008).

• Le plasma sanguin

Est le liquide dans lequel baignent ces différents éléments cellulaires. Il est composé à 90% d'eau, et contient des protéines, des ions, des enzymes, des minéraux, des oligo-éléments, des métabolites et des catabolites. Physiologiquement, le plasma est jaune très pâle du fait de la présence de bilirubine produite par la dégradation de l'hémoglobine. Il devient ictérique (jaune soutenu) lors d'hémolyse, d'hépatopathie ou d'anorexie. Il peut toutefois être en jaune chez les chevaux lors de consommation de plantes contenant une grande quantité de pigments caroténoïdes et xanthophylles (Christine medaille,2008).

2. Hémogramme et examens complémentaires d'hématologie

2.1 Hémogramme ou numération forme sanguine (FNS)

L'hémogramme est le premier examen biologique utilisé pour dépister, explorer et suivre la plupart des hémopathies. Ses indications sont très nombreuses et dépassent largement le cadre des pathologies hématologiques. Il est réalisé à partir d'un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube contenant un anticoagulant sec de type EDTA. L'hémogramme est un examen automatisé. Il a pour but d'apporter des informations quantitatives sur les cellules sanguines mais également des informations qualitatives. (c'est un ensemble des données mesurées et calculées concernant les hématies, les leucocytes, et les plaquettes (Christine medaille,2008).

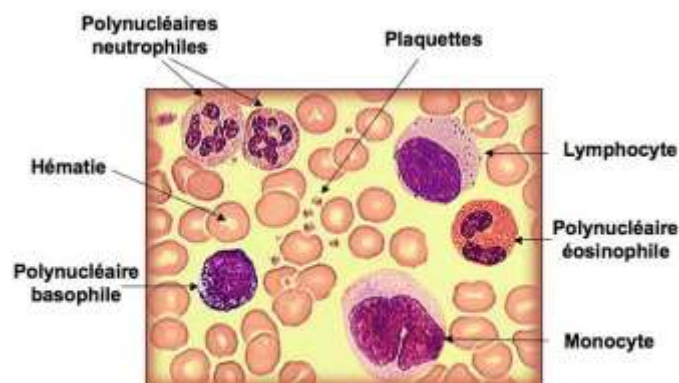


Figure 6 : frottis sanguin du cheval représentant les différentes cellules sanguines (Archer,1977).

Les particularités de la race équine :

- C'est un animal de sport qui présente des modifications des paramètres concernant les hématies. Chez les chevaux pur-sang notamment, le nombre d'hématies, le VGM et l'hémoglobémie sont plus élevés que dans les races croisées.
- Chez le nouveau-né, le nombre d'hématies, le VGM, l'hématocrite et l'hémoglobémie sont plus élevés que chez l'adulte. Ces paramètres atteignent les valeurs usuelles de l'adulte vers l'âge de 1 an chez le cheval.
- Chez la femelle gestante, le nombre d'hématies, l'hématocrite et l'hémoglobémie diminuent progressivement jusqu'à la mise-bas sous l'effet de l'hémodilution (augmentation du volume plasmatique liée au placenta) puis remontent quelques semaines après dans l'intervalle de valeurs usuelles (Christine médaille, 2008).

2.2 Morphologie et physiologie des cellules sanguines

2.2.1 Morphologie et physiologie des leucocytes (Globules blancs)

a. Les Leucocytes (Globules Blancs)

Définition

Les leucocytes ou globules blancs sont les cellules qui participent aux défenses de l'organisme. Elles sont synthétisées dans la moelle osseuse hématopoïétique avant, pour certains, de subir une phase de maturation dans la moelle osseuse ou dans le thymus. Il y'a trois grandes catégories ; les monocytes, les lymphocytes et les granulocytes ou polynucléaires (Kohler, 2010 ; Cotter, 2002).

b. Les monocytes

Définition

Sont les plus grands leucocytes circulants et les moins nombreux. Ces cellules ont une durée de vie dans le milieu sanguin très courte (environ 24 heures). Elles passent ensuite dans les tissus où elles se différencient en macrophages. Elles appartiennent au système mononucléaire phagocytaire (Cotter, 2002 ; Bienzle, 2000 ; Welles, 2000).

Morphologie

En microscopie optique, elles apparaissent arrondies, ayant un diamètre de 15 à 20µm. Le cytoplasme est gris bleuté (ciel d'orage) coloré au May Grünwald Giemsa (MGG) et a un aspect un peu granuleux. Il existe en périphérie des voiles cytoplasmiques visibles en

microscopie optique. Le noyau est central, en fer à cheval ou en E. Le cytoplasme peut aussi avoir quelques vacuoles claires de taille variable (vacuoles lysosomiales) (Muhlnickel, 2010; Cotter, 2002; Parot, 2011; Satué et *al*, 2012).

Rôles

Les monocytes sont les précurseurs des macrophages qui phagocytent les bactéries. Leurs lysosomes contiennent des enzymes protéolytiques bactéricides. Ils synthétisent différentes cytokines, (Murray, 2002; Laifer, 2011)

c. Les lymphocytes

Définition

Ce sont des cellules mononuclées, au rapport nucléo-cytoplasmique élevé. Leur durée de vie est variable, certains lymphocytes mémoires peuvent avoir une durée de vie très longue.

Morphologie

En microscopie optique, ce sont des cellules de petites tailles, environ 7 µm de diamètre avec un noyau occupant la quasi-totalité de la cellule. Leur forme est régulière et arrondie. Le noyau est sphérique à ovale. Ils sont le deuxième type cellulaire quantitativement majoritaire dans le sang périphérique (Cotter, 2002; Parot, 2011).

Tous les lymphocytes sont semblables sur le plan morphologique mais il existe plusieurs groupes de lymphocytes mis en évidence par des marqueurs antigéniques de membrane les lymphocytes B et les lymphocytes T, dont la maturation se fait au niveau du thymus, décrit également un troisième groupe apparenté aux lymphocytes T : Les cellules NK ou Natural Killer. La population lymphocytaire sanguine comprend 8 à 12 % de lymphocytes B, 70 à 80 % de lymphocytes T et 5 à 15 % de cellules NK (Satué et *al*, 2012).

Rôles

Ces cellules sont responsables des réponses spécifiques immunitaires. 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; Cotter, 2002; Muhlnickel, 2010).

d. Les granulocytes

Autrefois qualifiés de **polynucléaires** (parce que certains d'entre eux, les granulocytes neutrophiles, semblent posséder plusieurs noyaux), sont des globules blancs qualifiés de « non spécifiques » dans la mesure où ils ne sont pas dirigés contre un seul antigène. Il existe différentes catégories de granulocytes : les neutrophiles (qui sont les plus abondants), les basophiles et les éosinophiles. Cette dénomination est basée sur leur affinité à absorber des colorants neutres, basiques, ou acides à base d'éosine (colorant MGG = May-Grünwald Giemsa).

Leurs rôles sont également différents dans le corps :

- les granulocytes neutrophiles sont des phagocytes, c'est-à-dire des cellules capables d'avalier et de digérer les antigènes comme les bactéries. Comme leur nom l'indique, ils possèdent des granules qui peuvent être exocytés (déversés hors de la cellule) afin de limiter l'inflammation à l'endroit de l'infection ;
- les granulocytes basophiles attirent les autres globules blancs en déversant l'histamine contenue dans leurs granules. Cette histamine active la réaction inflammatoire et intervient également dans les réactions allergiques ;
- les granulocytes éosinophiles sécrètent des substances qui tendent à limiter l'action de l'histamine des granulocytes basophiles. Leur rôle est de s'attaquer aux parasites de l'organisme, sans les phagocyter : ils se fixent dessus et déversent leurs granules qui contiennent des enzymes destinées à les détruire (Archer;1977)

2.2.2 Morphologie et physiologie des hématies(Globules Rouges)

Sur un frottis sanguin les hématies ont une taille, un contour et une coloration homogène. Elles ont des particularités variables selon les espèces. Les hématies sont anucléées, rondes et de tailles variables mais homogènes au sein d'une même espèce.

Chez une particularité du cheval est qu'environ 1% des hématies présente un corps de Howell-Jolly, qui est un reliquat de noyau (Cordonnier, 2009; Didelot, 2006 ; Adili, 2007 ; Sirois, 1990).

Chez le cheval leur diamètre est compris entre 5 et 6 μm et ils tendent à former des **rouleaux** lors de la réalisation de frottis mais cette agglutination en rouleaux est réversible et n'est pas pathologique (Cordonnier et Fontaine, 2005; Grisard, 1990; Sellon, 1995; Kramer, 2000).

Données générales sur les paramètres hémato-biochimiques équins

La proportion des différentes catégories de lipides et de protéines au sein de la membrane plasmique de l'hématie va influencer très nettement sa déformabilité. Ainsi, une certaine proportion de cholestérol est présente dans la bicouche lipidique qui compose la membrane plasmique des hématies. Toute variation dans ses proportions va modifier les propriétés mécaniques de la membrane et réduire la durée de vie de l'hématie.

Le rôle des hématies est de transporter l'hémoglobine qui permet l'oxygénation tissulaire. Chaque molécule d'hémoglobine est constituée de quatre hèmes associés chacun à une molécule de globine. L'hème est composé d'un noyau porphyrique, au centre duquel est placé un ion ferreux Fe^{+2} .

Chaque hématie contient entre 250 et 400 millions de molécules d'hémoglobine. Lorsque les hématies vieillissent ou qu'elles sont anormales ; elles sont phagocytées dans la rate par les cellules macrophagiques. Le fer et les globines contenus dans l'hème de l'hémoglobine sont récupérés et réutilisés par l'organisme pour la synthèse de nouvelles hématies. Le noyau porphyrique est dégradé en biliverdine. Qui est transformée en bilirubine. Celle-ci est libérée dans le sang. Conjuguée lors de son passage hépatique, puis par voie biliaire. Dans l'intestin, la bilirubine se transforme en urobilinogène et de la bilirubine conjuguée est toutefois réabsorbée, repasse dans la circulation générale, est filtrée par le rein et éliminée dans l'urine.

Lors d'hémolyse aigue ou d'hépatopathie, la bilirubinémie augmente et colore le plasma en jaune, entraînant un ictère.

Chez le cheval, la concentration sérique en bilirubine (essentiellement présente sous forme de bilirubine non conjuguée) est physiologiquement élevée, d'où la couleur jaune du plasma (Christine medaille,2008).

Troubles et déséquilibres

Une diminution du nombre des érythrocytes, 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. Plusieurs causes sont à l'origine de ce trouble.

la perte de sang la destruction des globules rouges ou la diminution de la production des globules rouges et les désordres de l'alimentation

- La perte de sang peut être causée par une hémorragie due à une blessure importante, à un parasitisme sévère (surtout les parasites qui ont une action hématophage (Léglise, 2005 ; Pietrement, 2004).
- La destruction des globules rouges est plutôt rare, mais peut être causée par une maladie auto-immune, infectieuse comme l'anémie infectieuse équine ou parasitaire comme la babésiose (Coggins, 2002).
- Puisque le centre de chaque globule rouge contient une molécule de fer, l'anémie est souvent causée à un manque de fer dans l'alimentation. Les vitamines de complexe B sont également impliquées dans la synthèse des globules rouges. Une fois de plus, une carence en vitamines B est très rare chez le cheval puisque les microorganismes de sa flore intestinale en produisent naturellement, uniquement dans les cas où il y a un désordre de cette dernière (Cotter, 2002 ; Petit et al, 2004).
- On peut noter une augmentation de nombre des érythrocytes (polyglobulie) chez le cheval de sport. La rate peut libérer jusqu'à l'équivalent de 50% des globules rouges totaux. Il y a ensuite une augmentation linéaire de l'hématocrite parallèle à celle de l'intensité de l'effort. Cette augmentation est physiologique. On peut remarquer une augmentation pathologique lors des tumeurs de la moelle osseuse (Satué et al, 2012). Les animaux nouveau-nés ont un nombre de globules rouges très élevé. (Kolb, 1975).

2.2.3 Morphologie et physiologie de l'hémoglobine

Morphologie

L'hémoglobine 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. Elle se trouve dans les hématies dont elle est le principal constituant, puisqu'elle représente 95% des protéines intracellulaires de l'hématie. Elle est de ce fait responsable de la couleur rouge du sang.

Une faible quantité d'hémoglobine se situe dans le plasma où elle est liée à une protéine appelée haptoglobine (Cordonnie, 2005).

Fonctions

Chaque hème peut fixer une molécule d'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. Le catabolisme de l'hémoglobine conduit à la formation de bilirubine (Ayadi, 2009).

Le taux sanguin d'hémoglobine, ou hémoglobinémie, s'exprime en grammes d'hémoglobine par décilitre de sang (g/dl) ou en grammes d'hémoglobine par litre (g/l) (Petit et *al*, 2004).

Déséquilibres et troubles

La diminution du taux d'hémoglobinémie est le signe d'une anémie. En fonction des variations des indices érythrocytaires, cela définira les types d'anémie.

Une valeur anormalement haute est le signe d'une hémococoncentration, qui peut être dû à des phénomènes divers tels que les déshydratations d'où certains processus inflammatoires aboutissant à des hypo-volémies (Cotter, 2002 ; Petit et *al*, 2004).

2.2.4 Morphologie et physiologie de l'hématocrite

Définition

L'hématocrite est le rapport du volume occupé par les hématies et le volume sanguin total. Pour le calculer, du sang est prélevé sur anticoagulant (par exemple l'EthylDiamineTétrAcétate 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. $Ht(\text{en } \%) = \text{Volume de GR} / \text{Volume sang total} \times 100$.

Déséquilibre et troubles

La mesure de l'hématocrite permet d'objectiver une éventuelle anémie et permet d'évaluer l'hémococoncentration du sang. L'hématocrite est augmenté en cas de déshydratation ou en cas de polyglobulie mais elle est augmentée de façon physiologique lors d'exercice chez le cheval de sport (Parot, 2012 ; Satué et *al*, 2012 ; Brakch et Kessler, 2011).

2.2.5 Les constantes érythrocytaires

Ces dernières précisent les caractéristiques des hématies et permettent de classer les anémies :

- V.G.M

Volume Globulaire Moyen, exprimé en femtolitre (fl). Il est mesuré par l'automate. Lorsqu'il est élevé, on parle de macrocytose, lorsqu'il est bas de microcytose et lorsqu'il est dans les valeurs usuelles on parle de normocytose.

- C.C.M.H

Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine, exprimée en g/dl, est une valeur calculée en divisant l'hémoglobinémie par l'hématocrite ($CCMH = Hb/Ht$). C'est un

paramètre très important pour définir l'anémie.

- si la CCMH est normale, on parle d'anémie normochrome.
- Si la CCMH est basse, on parle d'anémie hypochrome.
- Si la CCMH est augmentée, il s'agit soit d'un artéfact, généralement une surélévation de l'hémoglobémie du fait d'une hémolyse ou d'un échantillon lipémique, soit une déshydratation intracellulaire liée à un excès d'anticoagulant (EDTA) par rapport à la quantité de sang, soit à un plasma hyper osmotique (ex : administration de composés hypertonique par perfusion).

- T.C.M.H

Taux Corpusculaire Moyen en Hémoglobine, exprimé en picogramme (pg), est calculé en divisant l'hémoglobémie par le nombre d'hématies ($TCMH = Hb / \text{Nombre GR}$). Il est moins intéressant que le CCMH car il ne tient pas compte du volume des hématies (Christine medaille, 2008).

2.2.6 Morphologie et physiologie des plaquettes

Les plaquettes sont des éléments circulants anucléés, de taille et de nombre variable, dont le rôle principal est d'assurer l'hémostase au sein de l'organisme.

La production plaquettaire au niveau médullaire est principalement stimulée par la thrombopoïétine, dont la synthèse est directement liée à la numération plaquettaire : lors de thrombopénie, la concentration plasmatique en thrombopoïétine augmente, lors de thrombocytose, elle diminue. La rate et le poumon sont les deux principaux lieux de stockage des plaquettes.

Les plaquettes contiennent de nombreuses substances actives qui vont avoir pour rôle :

- Au cours des différentes étapes de l'hémostase primaire.
- Dans la coagulation plasmatique, par sécrétion de substances déclenchant les cascades de réaction de la coagulation.
- Dans l'inflammation, par libération de substances vasoactives et chimiotactiques pour les polynucléaires neutrophiles.
- Dans la lutte contre les infections bactériennes, par liaison aux endotoxines et détoxification du plasma (Archer, 1977).

Désordres plaquettaires

Thrombopénie

Se définit comme une diminution de la numération plaquettaire en deçà des valeurs usuelles définies pour l'espèce dans les conditions données.

Les thrombopénies sont fréquentes et peuvent être d'origine centrale ou périphérique. Toutefois, avant de conclure à une thrombopénie, il faut toujours réaliser un frottis sanguin afin de vérifier le défaut plaquettaire et l'absence d'agrégats (notamment en queue de frottis).

Les mécanismes physico-pathologiques conduisant à une thrombopénie incluent une perte excessive de plaquettes, une destruction ou une utilisation accrues, une séquestration, et un défaut de synthèse médullaire.

Thrombocytose

C'est une augmentation du nombre de plaquettes circulantes. Cette augmentation peut être transitoire ou permanente, ce qui dans ce cas augmente le risque de formation de thrombine (agrégats plaquettaires) à l'intérieur des vaisseaux sanguins (Archer, 1977).

II. Biochimie

1. Exploration du métabolisme calcique

Introduction

Le calcium est trouvé sous 3 formes dans le plasma : 50% environ est sous forme ionisée Ca^{+2} , forme libre physiologiquement active ; 10% du calcium est chélaté à des molécules telles que lactate, citrate et bicarbonate, phosphate ; et environ 40% du calcium est lié à des protéines, et pour les 4/5 plus spécifiquement à l'albumine.

La calcémie est une constante avec une marge de variation physiologique faible ; sa concentration intra et extracellulaire est finement régulée.

Métabolisme

Le calcium a de nombreuses fonctions biologiques et intervient dans de nombreuses régulations comme cofacteur : la coagulation sanguine, l'excitabilité neuromusculaire, la perméabilité membranaire, la régulation hormonale. Le calcium est le composant minéral essentiel du squelette : 99% du calcium correspond au calcium osseux et le % restant se répartit entre les muscles et le secteur extracellulaire.

Données générales sur les paramètres hémato-biochimiques équins

Le calcium est absorbé de façon active dans l'intestin grêle sous la dépendance de la vitamine D (1-25OHD3).

La parathormone potentialise le rôle de la vitamine D, les corticoïdes le diminuent.

Le calcium est éliminé, d'une part par le tube digestif de façon passive, et d'autre part, il est filtré par le glomérule rénal mais avec une réabsorption, dans le tube contourné distal, de 98% du calcium filtré (sous le contrôle de la parathormone).

Dosages et valeurs usuelles

La mesure de la calcémie totale est la mesure des trois formes plasmatiques du calcium. Elle est effectuée sur sérum ou plasma héparine (EDTA, citrate sont des anticoagulants à proscrire puisqu'ils chélatent l'ion calcium), en général en spectrophotométrie. Le calcium se conserve bien dans le plasma centrifugé et séparé. L'hémolyse et la lipémie sont à éviter.

Le dosage du calcium ionisé (Ca^{+2}) est le dosage le plus utile pour l'appréciation des troubles calciques, mais sur le plan pratique, ce dosage effectué par électrode spécifique est soumis à de nombreuses contraintes pré-analytiques. L'échantillon doit être traité comme pour un dosage de gaz du sang : prélèvement en anaérobiose, dosage quasi-immédiat, connaissance simultanée du pH sanguin pour l'interprétation ou prélèvement sur tube sec avec séparateur de sérum, centrifugation et congélation immédiate sans décantation.

Donc le dosage du calcium sous sa forme ionisée n'est possible que sur un prélèvement d'excellente qualité avec un appareil de gazométrie. De fait, il est préférable de conserver la mesure de la calcémie totale en appliquant la formule suivante lorsque l'albuminémie est basse (Christine médaille, 2008).

La baisse de la calcémie a été rapportée dans de nombreuses situations pathologiques et est liée soit à l'action de la parathormone, soit à l'action de la vitamine D, soit la précipitation de l'ion calcium.

2. Exploration biologique du rein

▪ L'urée

Principal catabolite chez les mammifères est excrété par le rein dans l'urine, cette petite molécule non liée à des protéines de transport est produite par dégradation de l'ammoniac dans le foie. Elle est librement et rapidement filtrée du plasma vers l'urine par le glomérule rénal et partiellement réabsorbée au niveau de l'anse de Henlé.

Données générales sur les paramètres hémato-biochimiques équins

La concentration plasmatique d'urée augmente progressivement, de façon non linéaire, avec la réduction du DFG. De fait, il faut une réduction d'environ 50% du DFG pour voir apparaître une augmentation significative de la concentration d'urée.

Par ailleurs, sa concentration plasmatique varie également en fonction de nombreux facteurs extra-rénaux. Le suivi de la concentration d'urée est donc un marqueur peu sensible, et d'une spécificité variable, de l'insuffisance rénale.

D'un dosage très facile en chimie sèche ou en chimie liquide, il est généralement associé à celui de la créatinine plasmatique (Christine medaille,2008).

▪ **La créatinine**

Catabolite de la créatine et créatine-phosphate présente dans les muscles. Sa concentration augmente au-delà des valeurs usuelles quand les trois quarts des néphrons sont atteints. Il existe également une élimination intestinale physiologique de la créatinine qui n'est pas négligeable, en particulier chez l'animal insuffisant rénal.

La valeur de la Créatininémie, qui est fonction de la masse musculaire de l'animal, reste stable chez un individu, bien qu'il soit préférable de la mesurer chez un sujet à jeun et hors effort musculaire intense.

Son dosage largement répandu est généralement basé sur le principe de la réaction de Jaffé qui n'est pas spécifique (nombreuses interférences analytiques) et assez imprécise, ce qui conduit à obtenir des valeurs usuelles extrêmement variables d'une technique à l'autre.

La surveillance de la progression d'une insuffisance rénale par la mesure de la Créatininémie doit s'appuyer sur des valeurs obtenues par la même méthode de dosage.

Les méthodes de dosages par méthode de Jaffé modifiée ou par méthode enzymatique sur les automates de chimie liquide sont d'une bonne qualité analytique (Christine medaille,2008).

Dosages uniques de l'urée et créatinine plasmatiques/sériques

Ces deux paramètres rénaux sont des marqueurs tardifs, peu sensibles, de la réduction du débit de filtration glomérulaire et donc de l'insuffisance rénale débutante.

La valeur de l'urée plasmatique est bien corrélée aux symptômes d'azotémie. Chez un animal déshydraté, l'urée est plus fortement réabsorbée, ce qui tend à sous-estimer le DFG et donc à conclure à tort une insuffisance rénale (la créatinine, elle, restant constante chez

l'animal quel que soit son état d'hydratation).

A contrario, la valeur de concentration d'urée aura tendance à s'abaisser rapidement chez un animal polydipsique ou maintenu sous réanimation hydro-électrolytique, alors que la Créatininémie reflètera plus justement le niveau de filtration glomérulaire.

La créatinine (n'étant pas réabsorbée par les tubules) est donc un meilleur marqueur de DFG mais en revanche, par son élimination extra-rénale, les variations de sa concentration ne sont pas bien corrélées à la gravité de l'insuffisance rénale, surtout en phase terminale (Christine médaille, 2008).

3. Exploration biologique du foie

Le foie joue un rôle majeur dans le métabolisme protéique, lipidique et hormonal. Il intervient également dans les processus de détoxification de substances exogènes et endogènes, de la biosynthèse/dégradation des acides aminés et de la synthèse de l'urée, de la synthèse et l'excrétion de la bile, synthèse de protéines plasmatiques et du stockage de quelques vitamines (Christine médaille, 2008).

Dosages sanguins des marqueurs enzymatiques

Les enzymes dites témoins de la cytololyse

- L'aspartate aminotransférase A.S.A.T (transaminase TGO)

Cette enzyme est présente à la fois au niveau du foie et dans le muscle cardiaque et squelettique : de fait, une augmentation de cette dernière signifie une inflammation musculaire qui peut être confirmée par dosage de la créatine kinase (C.K).

Elle augmente modérément lors de choléstase et sous l'action des corticoïdes (Christine médaille, 2008).

- L'alanine aminotransférase A.L.A.T (transaminase TGP)

Cette enzyme est présente majoritairement dans les hépatocytes, et libérée dans le sang en cas de destruction des hépatocytes ou par augmentation de la perméabilité cellulaire.

Une augmentation rapide et importante de son activité plasmatique signifie une hépatite aiguë avec cytololyse, un accroissement modéré signifie une affection chronique (Christine médaille, 2008).

Une élévation modérée sur plusieurs semaines peut être rencontrée suite à :

- Une tumeur primitive ou secondaire .

- Une hépatopathie secondaire à un traitement (corticoïdes) .
- Une atteinte gastro-intestinale (ex : pancréatite).
- Diabète sucré et infiltration lipidique hépatique.
- Une anémie hémolytique.
- Une infection bactérienne à distance .

4. Exploration biologique du métabolisme des protéines plasmatiques

Les protéines sont des constituants nombreux (environ une centaine) de l'organisme et essentiels au fonctionnement des mammifères.

Elles jouent un rôle physiologique primordial au niveau cellulaire, ont un rôle de transport, et pour certaines, sont dotées d'activité enzymatique ou hormonale. Seules les protéines présentes dans le plasma ont un intérêt diagnostique.

Ces molécules sont formées de chaînes d'acides aminés dont l'enchaînement est codé génétiquement, qui sont repliées et donnent à la molécule une configuration spatiale propre , celle-ci laisse apparaître différents groupements chimiques (carboxyles, aminés..) mis en évidence dans diverses réactions colorées comme celle, connue, dite du biuret (Christine médaille,2008).

Hyper-protidémies

Il existe 3 causes :

- phénomène de privation d'eau :

Dans ce cas, l'albumine et les globulines augmentent dans la même proportion, associée à la valeur de l'hématocrite. La protidémie totale est un bon témoin de l'état d'hydratation de l'animal.

- Augmentation relative des globulines :

Secondaire à des affections inflammatoires, infectieuses ou à médiation immunitaire.

- Augmentation d'une seule immunoglobuline anormale.

Hypo-protidémies

Peuvent concerner l'albumine, les globulines (rapport albumine/globuline modifiée) ou les deux simultanément(rapport A/G conservé) .

Hypo-protidémie globale par effet de dilution.

Hypo-protidémie par pertes.

Données générales sur les paramètres hémato-biochimiques équins

Hypo-albuminémie isolée.

Hypo-globulinémie isolée.

Tableau 1 : les valeurs usuelles d'hématologie et de biochimie équine.

<i>Les paramètres Sanguins</i>	<i>Les valeurs usuelles</i>
Globules blancs	5400-14300/mm ³
Lymphocytes	1500-7700/mm ³
Monocytes	0-1000/mm ³
Neutrophiles	2260-8580/mm ³
Eosinophiles	0-1000/mm ³
Basophiles	0-290/mm ³
Globules rouges	6,8-12,9 * 10 ⁶
Hémoglobine	11-19 g/dl
Hématocrite	32-53%
VGM	37-58 fl
TCMH	12,3-19,9 pg
CCMH	31-38,6g/dl
Plaquettes	100-350 * 10 ³ /mm ³
VMP	4-8fl
Calcémie	105-120 mg/l
Urémie	0.24-0.48 g/l
Créatininémie	6-18mg/l
TGO	<240 UI/l
TGP	<15 UI/l
Protidémie	60-85 g/l

Partie Expérimentale

Partie expérimentale

Lieu d'étude

Nous avons travaillé au niveau de deux lots différents, à savoir :

1. Haras El Mesk (ferme Feghouli)

Nous avons pu récolter quelques information sur cet élevage équin d'où :

Propriétaire : Mr Feghouli Ahmed.

Activité : unité d'élevage et centre de rayonnement auprès des éleveurs équins en collaboration avec l'ONDEEC , le CNIAC et la chambre de l'agriculture .

Date de début d'activité : 2010.

Superficie : 52 hectare.

Cout d'investissement : 250.000.000 DA.

Mode de financement : fonds propres .

Localisation : Route de Ain Boukhelif Tiaret.

Infrastructures :

Bureau du vétérinaire du Haras .

Laboratoires et annexes de prélèvement et reproduction doté d'un échographe.

Ecuries :

- Nombre de boxes disponibles : 115.
- Ecurie (A) : pour les juments .
- Ecurie (B) :pour étalons.
- Ecurie (C) : pour poulains et juments vides.

2 hangars (575m²) *2.

Pâturage en paddocks .

Irrigation : par kits d'aspersion

02 puits.

02 bassins d'eau .

Effectif :

Ouvriers :29.

Gérant de la ferme :01

Partie expérimentale

Chef de station : 01

Docteur vétérinaire : 02

Technicien vétérinaire :01

Palefreniers : 10

Gardiens : 06

Paysagistes :02

Ouvriers :07.

Races des cheveu	Nombre des chevaux
Barbe	12
Arabe barbe	07
Pur-sang	26
Arabe	49
Poney Shetland	08
Total	102

Tableau 2 : races des chevaux aux niveau du haras et leur nombre .



Figure 7 : localisation du Haras El Mesk par GPS (Situation Géographique)

Partie expérimentale

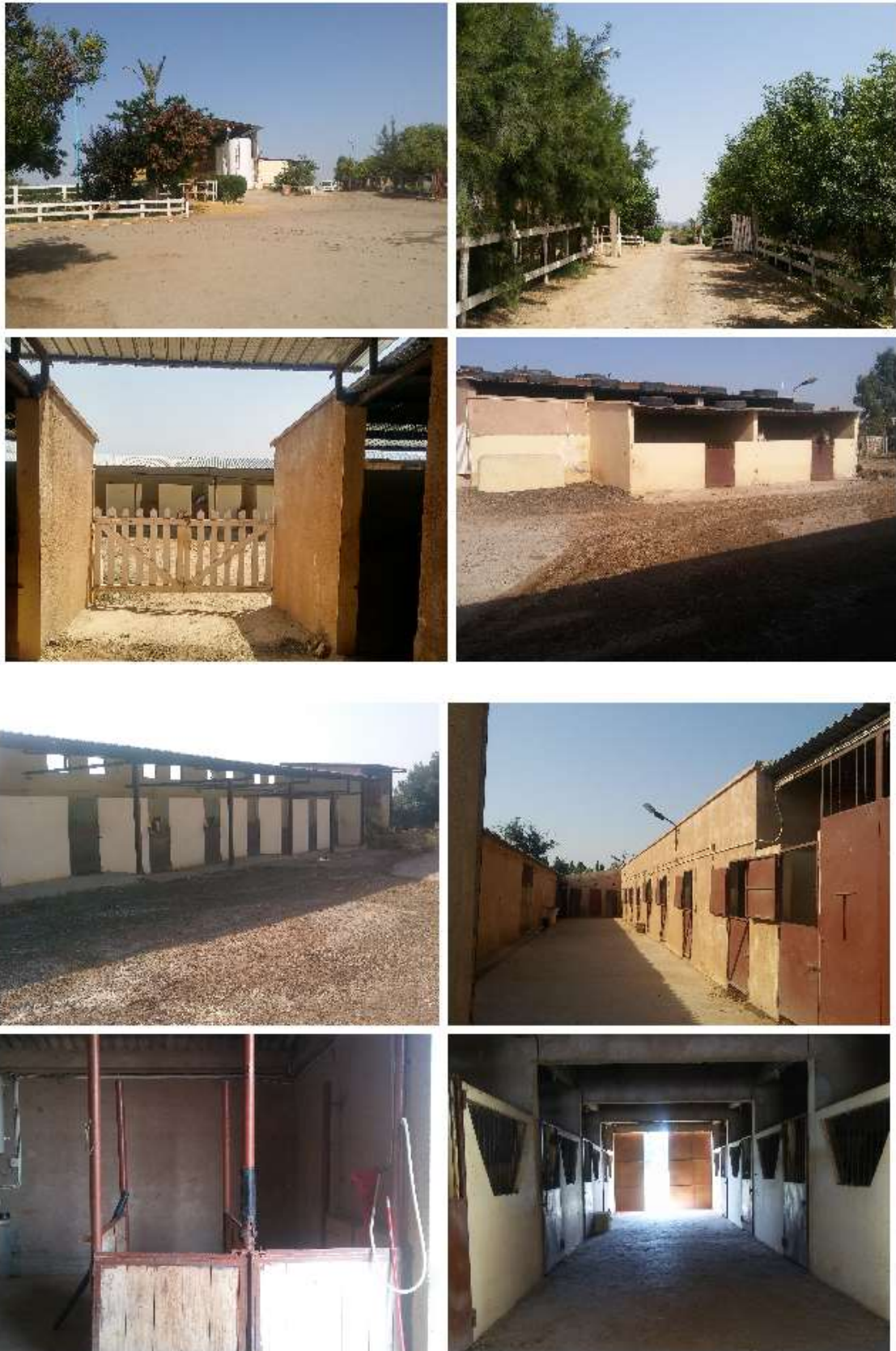


Figure 8 : présentation du Haras El Mesk.

Partie expérimentale

2. Haras National Al- Chaouchaoua (Jumenterie de Tiaret)

c'est le 2^{ème} auquel était réalisée note étude , organisme inscrit depuis 1995, au patrimoine historique du pays.

La jumenterie c'est avant tout l'histoire d'une jumenterie qui remonte à 1874. C'est aussi l'histoire d'un patrimoine génétique, dont la source remonte à 1852. La jumenterie de Tiaret, c'est surtout la pureté des souches et la consistance du patrimoine génétique du pur sang Arabe. Le Haras de Tiaret reste incontestablement un des plus anciens producteurs de chevaux arabes en occident depuis 1878, bien avant même la création des stud-books anglais, égyptiens, et polonais. La jumenterie, reste une source d'archive généalogique remontant à plus d'un siècle, constitue un réservoir historique certain, pour les chercheurs, historiens, scientifiques et tout amoureux du cheval en général.

Son statut et celui d'une ferme pilote autonome, avec une vocation d'élevages équins, majoritairement le pur-sang Arabe, suivi du Barbe, Arabe-barbe, Anglo-arabe.

(280 chevaux).

Une grande superficie qui avoisine les 741 Hectares et un personnel de 57 ouvriers.

La production équine annuel est de : 60 Poulains /AN.



Figure 9: localisation du Haras National Al-Chaouchaoua par GPS

(Situation Géographique).

Partie expérimentale

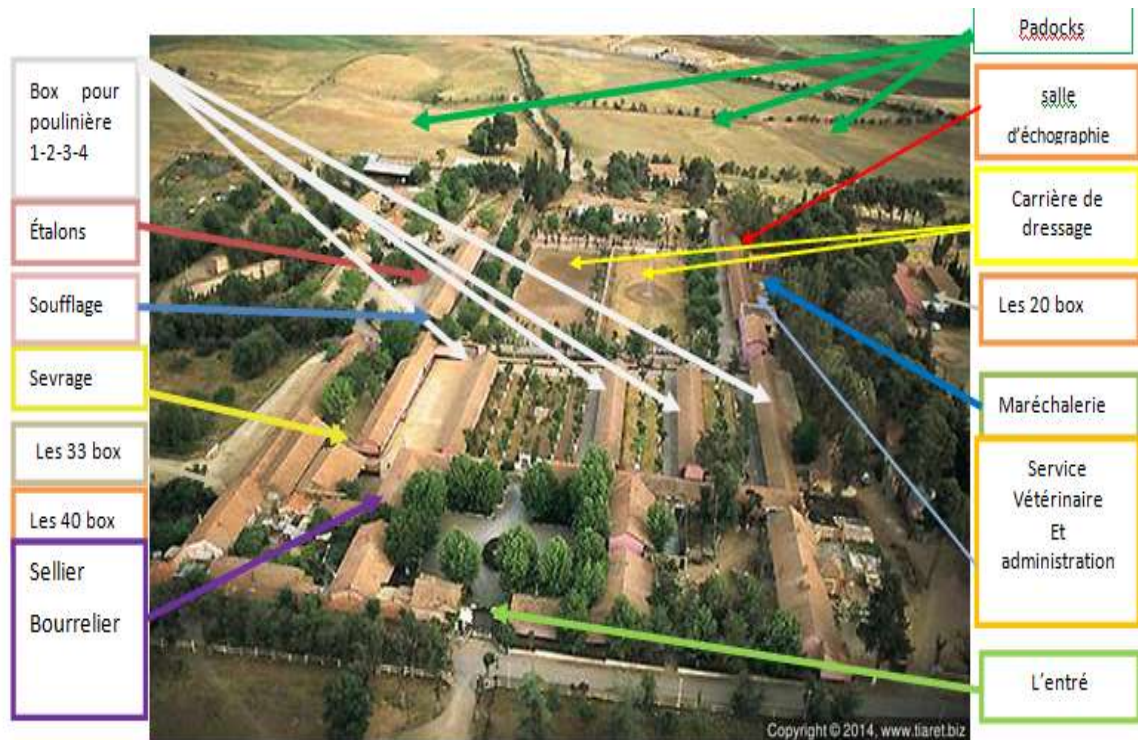


Figure 10 : Situation géographique et présentation du Haras National.

Lieu d'analyses

Les analyses étaient faites au niveau de l'Etablissement Public De Santé De proximité – Tiaret.

Animaux et Alimentation

Animaux

Les prélèvements ont été effectués sur 10 juments :

09 pur-sang arabe.

01 barbe (a été éliminée).

jument	lot	race	âge
Nihad	Lot : Haras El Mesk	PA	12ans
Bousnia		PA	6ans
Fijoa		PA	8 ans
Smina		PA	10ans
Kayen		PA	15ans
Rokhsa	Lot : Haras National Chaouchaoua	PA	9 ans
Taquafa		PA	7ans
Ghana		PA	19ans
Fayrouz		PA	20ans

Tableau 3 : information concernant les juments .



Figure 11 : les juments de l'expérimentation .

Alimentation

Les juments étaient nourries avec un aliment concentré (orge mouillé) à raison de 3Kg matin et 3Kg le soir.

La quantité de fourrage distribuée (foin d'avoine) est identique pour les deux lots (une botte pour 5 juments).

N.B : les juments du Haras El Mesk recevaient en plus de la luzerne .

La distribution quotidienne des aliments concentrés aux juments des deux lots se fait de manière manuelle deux fois par jour à la même heure le matin à 08^h:30, et l'après midi à 16^h:00.

En plus de la ration journalière, de 10h à 15h :30 les juments partent aux prés (paddocks) pour faire de l'exercice et un broutage d'herbe.

Le Protocol expérimental

Les prélèvements de sang ont été réalisés durant les périodes citées :

- 12 ours avant le part.
- 13 J1 après le part.
- 14 J7 après le part.
- 15 J14 après le part.
- 16 J21 après le part.

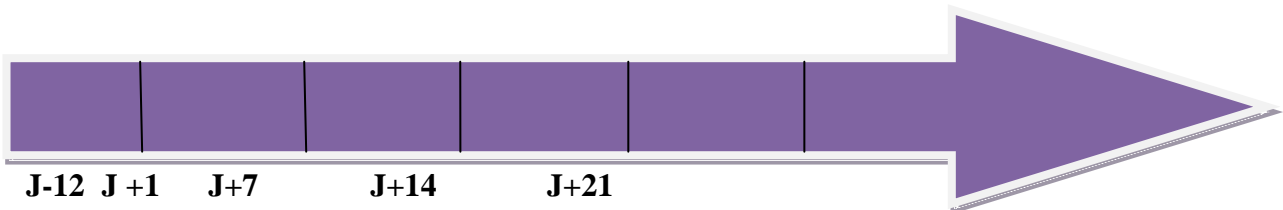


Figure 12 : les différentes périodes de prélèvement.

Partie expérimentale

Les paramètres analysés

Hématologie	Biochimie
Globules Blancs	Calcémie
Lymphocytes	Créatininémie
Monocytes	Urémie
Granulocytes	TGO
Globules Rouges	TGP
Hémoglobine	Protidémie
Hématocrite	
VGM	
TCMH	
CCMH	
Plaquettes Sanguines	

Tableau 4 : les différents paramètres analysés.

Partie expérimentale

Matériel et méthode

Les prélèvements ont été effectués sur :

- Tubes **EDTA** pour les prélèvements sanguins destinés pour faire une hématologie .
- Tubes Héparines pour les prélèvements sanguins destinés pour la biochimie .



Figure 13 : Tubes EDTA.



Figure 14 : Tubes Héparines.

Centrifugeuse pour la séparation du sang pour les tubes héparines :

Le modèle EBA 20 est une petite centrifugeuse pratique permettant de traiter des échantillons en faible quantité. Elle est équipée en série d'un rotor angulaire 8 places permettant de loger des tubes d'un volume allant jusqu'à 15 ml. Avec une ACR max.



Figure 15 : centrifugeuse EBA 20.

Un automate compteur d'hématologie modèle URIT-3000 PLUS .

Partie expérimentale



Figure 16 : automate d'hématologie URIT-3000 PLUS.

Analyseur de biochimie automatique URIT-8021A.



Figure 17 : automate de biochimie URIT-8021A.

Echographes

- **Au niveau du Haras El Mesk :**

Ils utilisent l'échographe **ALOKA SSD-500**



Figure 18 : échographe ALOKA SSD-500.

Partie expérimentale

- **Au niveau du Haras National Al-Chaouchaoua**

Ils utilisent l'échographe **DRAMINSKI IScan**



Figure 19 : échographe DRAMINSKI IScan.

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

Résultats

I. Bilan Hématologique

Résultats de la FNS

- **Taux des globules blancs**

Le tableau ci-dessous montre une moyenne maximale de **8 166,67 GB/mm³** de sang notée durant la 3^{ème} période du prélèvement (J+7 PP).

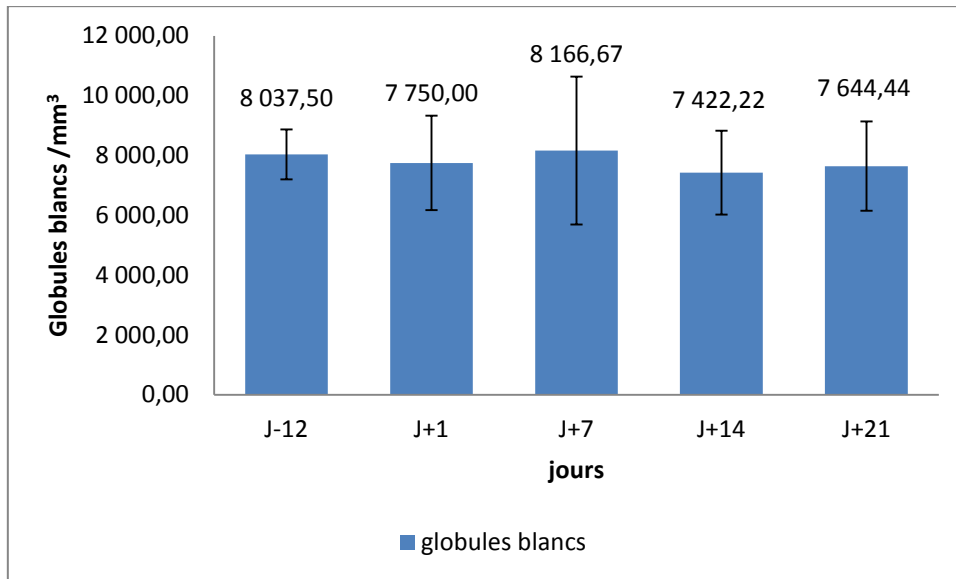
Sachant que les valeurs usuelles de ces derniers sont entre **5400-14300GB/mm³** nous avons noté que la valeur des globules blancs durant les 5 périodes est dans les normes mais avec des variations d'une période à l'autre.

Période 1 (j -12 avant la mise bas) : nous avons noté que le taux des globules blancs est de **8037,50GB/mm³** ce taux a diminué lors du 2^{ème} prélèvement qui était effectué 24 heures après le poulinage puis a augmenté 7 jours après la mise bas (valeur maximale). Pendant la 4^{ème} période nous avons remarqué une diminution du taux des globules blancs ainsi que lors de la 5^{ème} période avec une légère augmentation par rapport à la période précédente.

Tableau 1: Variations des globules blancs chez les juments à j12 avant le part présumé, j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part, j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne globale GB/mm ³	8 037,50	7 750,00	8 166,67	7 422,22	7 644,44
Ecart type	833,130928	1577,52066	2470,32387	1399,80157	1490,89831

Résultats et Discussion



Graph 1: Variations des globules blancs chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part , j7 après le part , j14 après le part , j21 après le part.

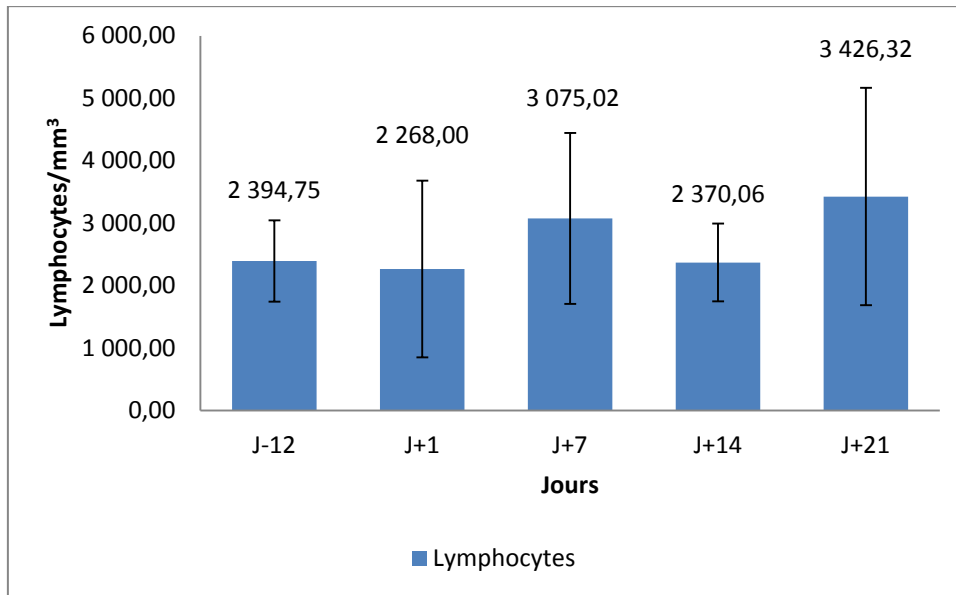
- **Taux des lymphocytes**

Les valeurs usuelles des lymphocytes sont de **1500-7700/mm³**. Nous avons remarqué que durant toutes les périodes des prélèvements le taux est resté dans les normes avec une valeur maximale pendant la 5^{ème} période de prélèvement **3426,32/mm³**, cependant le taux des lymphocytes a reconnu une décroissance à partir du prélèvement 1 au prélèvement 2 puis il a augmenté durant le 3^{ème} prélèvement et a baissé durant le 4^{ème} prélèvement.

Tableau 2 : Variations des lymphocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part , j7 après le part , j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne globale/mm ³	2 394,75	2 268,00	3 075,02	2 370,06	3 426,32
Ecart type	651,543168	1414,68543	1368,85171	621,510079	1738,73538

Résultats et Discussion



Graphe 2: Variations des lymphocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

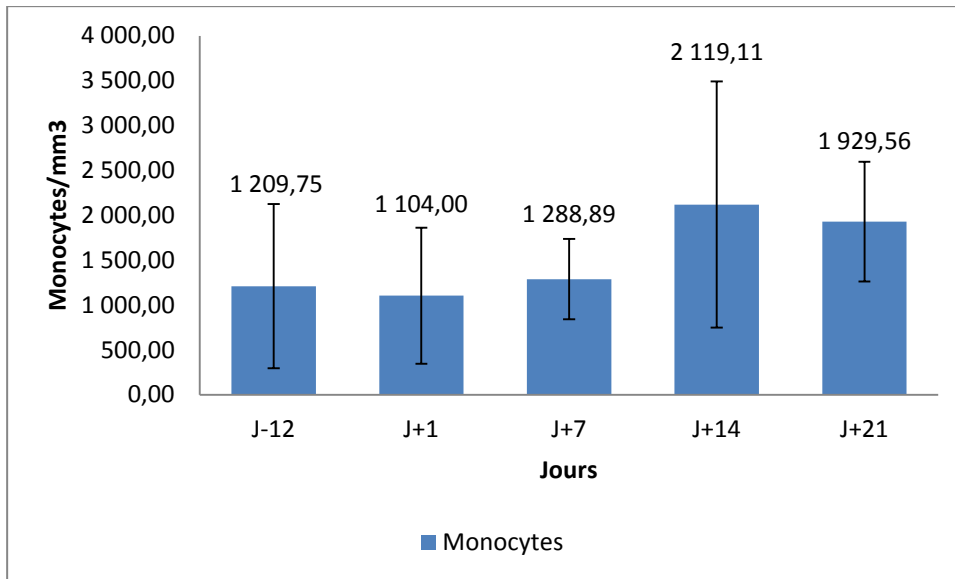
- **Taux des monocytes**

Les valeurs usuelles des monocytes sont de **0-1000/mm³**. Nous avons remarqué que durant toutes les périodes de prélèvement le taux est resté élevé avec une valeur maximale de **2119,11/mm³** observée lors de la 4^{ème} période du prélèvement. Le taux des monocytes a baissé durant la 2^{ème} période puis a augmenté pendant la 3^{ème} et 4^{ème} période puis a rechuté lors du dernier prélèvement.

Tableau 3 : Variations des monocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne globale monocyte/mm³	1 209,75	1 104,00	1 288,89	2 119,11	1 929,56
Ecart type	914,141244	758,127015	448,454135	1371,19915	665,553738

Résultats et Discussion



Graphe 3: Variations des monocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

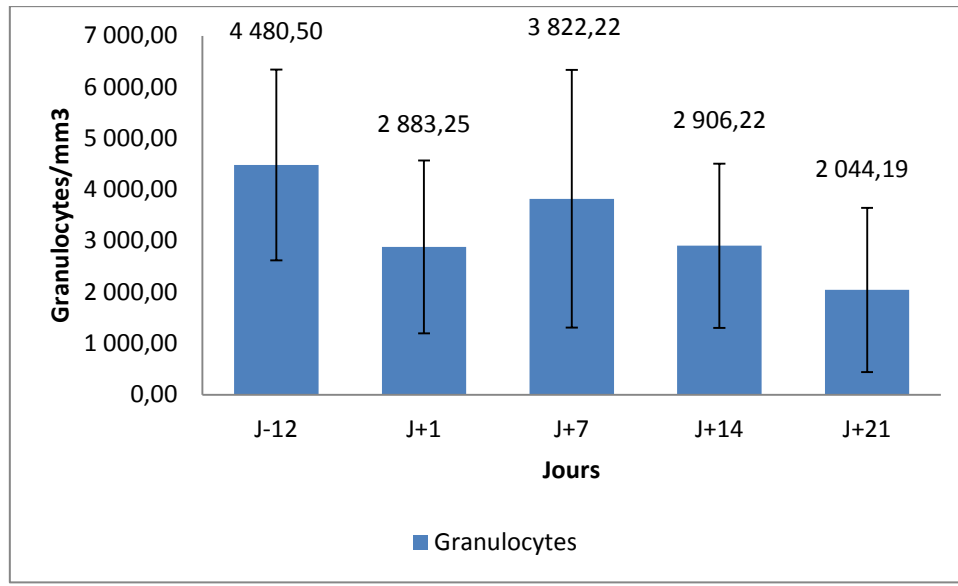
- **Taux des granulocytes**

Les valeurs usuelles des granulocytes sont entre **(2260-9870)/mm³** avec une valeur maximale au cours de la 1^{ière} période , ce taux a diminué au cours de la 2^{ème} période puis a augmenté au cours de la 3^{ème} période , et à la 4^{ème} et 5^{ème} période a reconnu une décroissance .

Tableau 4 : Variations des granulocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne /mm³	4480,50	2883,25	3822,22	2906,22	2044,19
Ecart type	1858,97691	1685,23468	2513,35323	1602,70036	1603,61979

Résultats et Discussion



Graphe 4 : Variations des granulocytes chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

- **Taux des globules rouges**

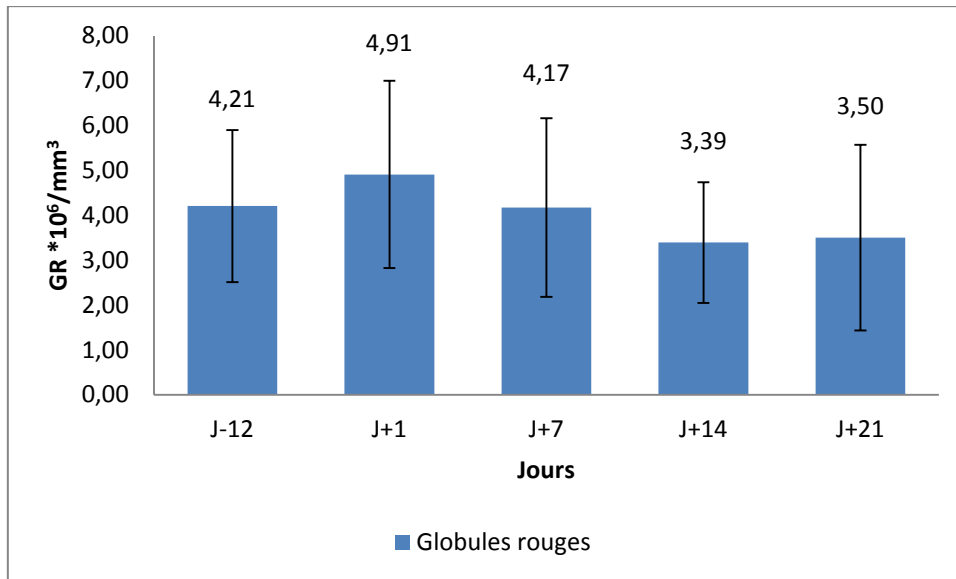
Les valeurs usuelles des globules rouges chez le cheval sont de $(6.8-12.9)10^6/mm^3$. Nous avons remarqué que les juments présentaient un taux faible des globules rouges durant toutes les périodes de prélèvements avec une valeur maximale de $4.91*10^6/mm^3$ durant la 2^{ème} période.

Le taux des globules rouges à augmenté au 2^{ème} prélèvement puis nous avons noté une diminution de ce taux pendant le 3^{ème} et 4^{ème} prélèvement et au final une légère augmentation.

Tableau 5: Variations des globules rouges chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne GR* $10^6/mm^3$	4,21	4,91	4,17	3,39	3,50
Ecart type	1,69499263	2,08612037	1,99014517	1,34457242	2,06973898

Résultats et Discussion



Graphe 5: Variations des globules rouges chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part , j7 après le part , j14 après le part , j21 après le part.

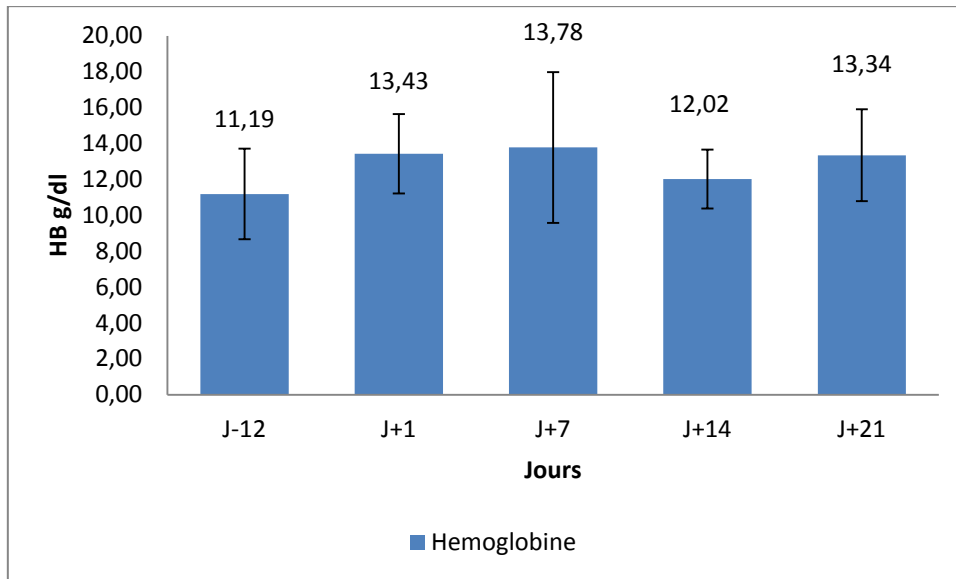
- **Taux d'hémoglobine**

Les valeurs usuelles d'hémoglobine sont de **11-19g/dl** . Nous avons remarqué que durant toutes les périodes de prélèvements le taux est resté dans les normes mais avec des variations durant les différentes périodes avec une valeur maximale de **13.78g/dl** durant la 3^{ème} période . Nous avons signalé que le taux a augmenté de la 2^{ème} et 3^{ème} période puis a légèrement baissé au cours de la 4^{ème} période puis a rencontré une croissance à la 5^{ème} période.

Tableau 6 : Variations d'hémoglobine chez les juments à j12 avant le part , j1 après le part , j7 après le part , j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne HB g/l	11,19	13,43	13,78	12,02	13,34
Ecart type	2,51931822	2,2153684	4,19725439	1,64527944	2,56032767

Résultats et Discussion



Graph 6 : Variations d'hémoglobine chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

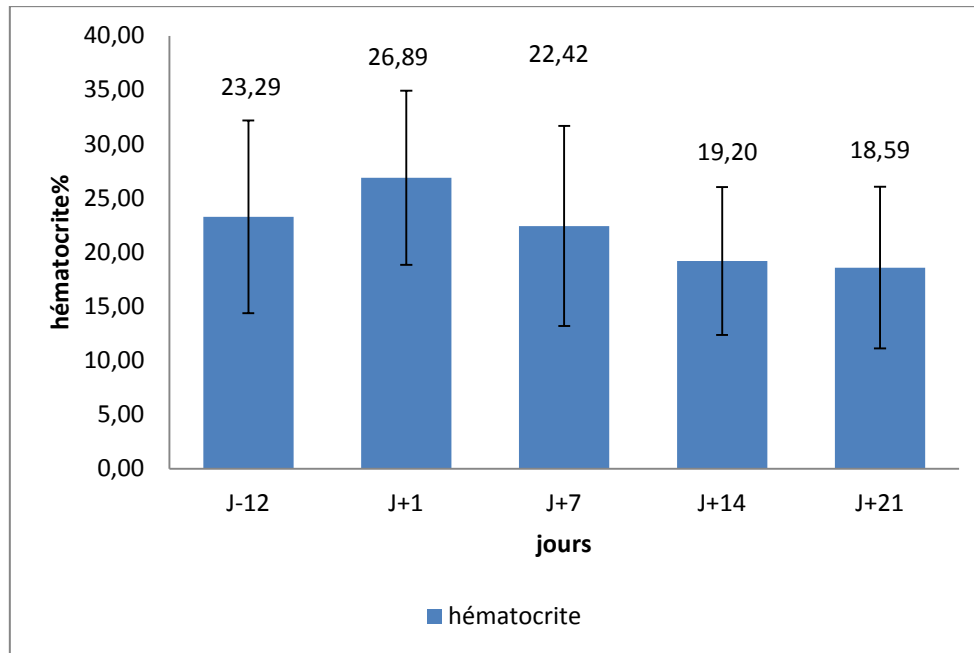
- **Taux d'hématocrite**

Les valeurs usuelles d'hématocrite sont de **32-53%**. Les résultats ont affiché que son taux est toujours diminué par rapport à la normale durant toutes les périodes avec une valeur maximale de **26.89%** pendant la 2^{ème} période. Le taux s'est élevé de la 1^{ière} à la 2^{ème} période puis a commencé à s'abaisser durant le reste des périodes.

Tableau 7 : Variations d'hématocrite chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne %	23,29	26,89	22,42	19,20	18,59
Ecart type	8,90127399	8,03855664	9,23874691	6,83355691	7,48054885

Résultats et Discussion



Graphe 7 : Variations d'hématocrite chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

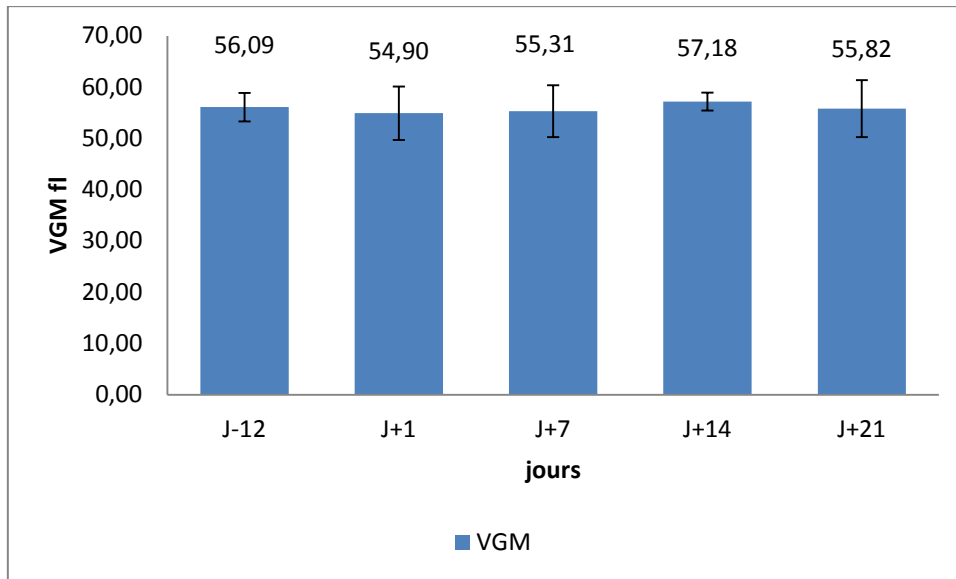
- **Taux de VGM**

Les valeurs usuelles sont de **37-58 fl** . nous avons observé que les valeurs de ce dernier sont restées dans les normes durant toutes les périodes avec une valeur maximale de **57,18fl** observée pendant la 4^{ème} période. Le taux de VGM a reconnu une décroissance de la 1^{ière} à la 2^{ème} période puis une augmentation au cours de la 3^{ème} et 4^{ème} période et au final une diminution de ce taux.

Tableau 8 : Variations de VGM chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne fl	56,09	54,90	55,31	57,18	55,82
Ecart type	2,77150681	5,18734724	5,04243107	1,73477504	5,55557778

Résultats et Discussion



Graph 8 : Variations de VGM chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

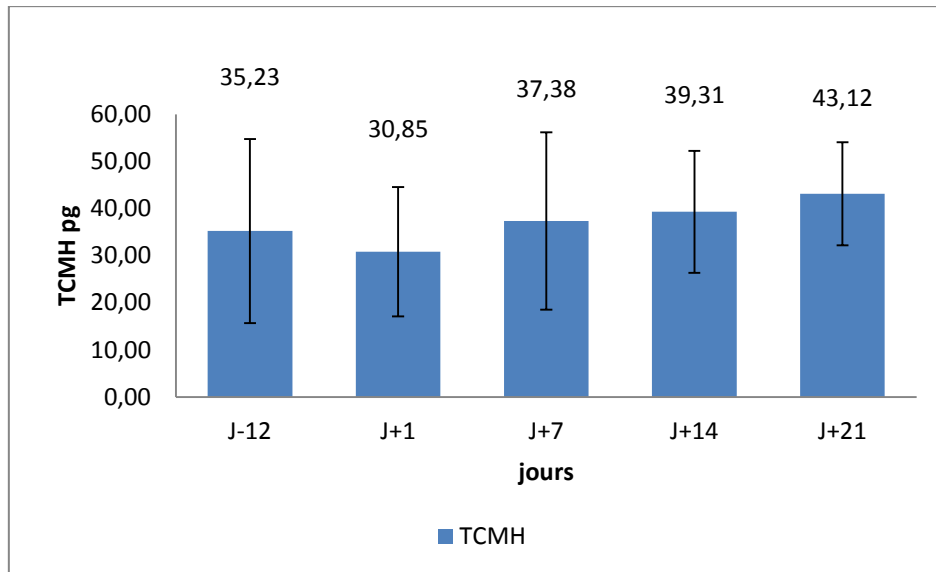
- **Taux de TCMH**

Les valeurs usuelles de TCMH sont de **12.3-19.9pg** . Nous avons remarqué que le taux de TCMH est élevé durant toutes les périodes avec une valeur maximale de **43.12pg** pendant la 5^{ème} période. Le taux a diminué de la 1^{ière} à la 2^{ème} période puis a augmenté de la 3^{ème} et 4^{ème} période jusqu'à la fin des prélèvements .

Tableau 9: Variations de TCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne pg	35,23	30,85	37,38	39,31	43,12
Ecart type	19,4966481	13,6986965	18,828222	12,9384547	10,9250604

Résultats et Discussion



Graph 9 : Variations de TCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

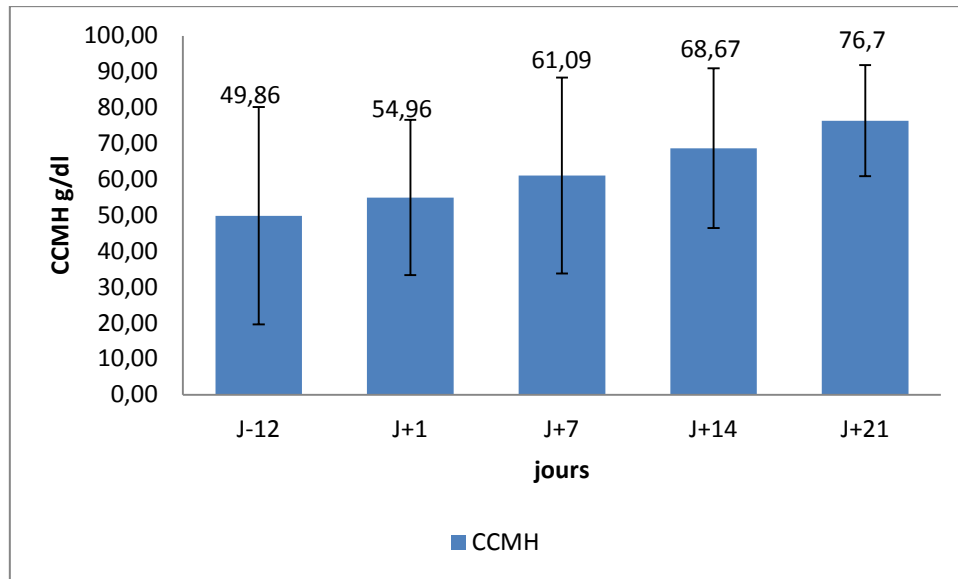
- **Taux de CCMH**

Les valeurs usuelles de CCMH sont de **31-38.6g/dl**. Nous avons vu que le taux de CCMH est très élevé durant les 5 périodes de prélèvements avec une valeur maximale de **76.37g/dl** durant la dernière période. L'augmentation du taux de CCMH au cours des différentes périodes est dans l'ordre croissant de la 1^{ière} à la 5^{ème} période.

Tableau 10 : Variations de CCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne g/dl	49,86	54,96	61,09	68,67	76,37
Ecart type	30,287524	21,6112363	27,2694171	22,2589308	15,4488673

Résultats et Discussion



Graphe 10: Variations de CCMH chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

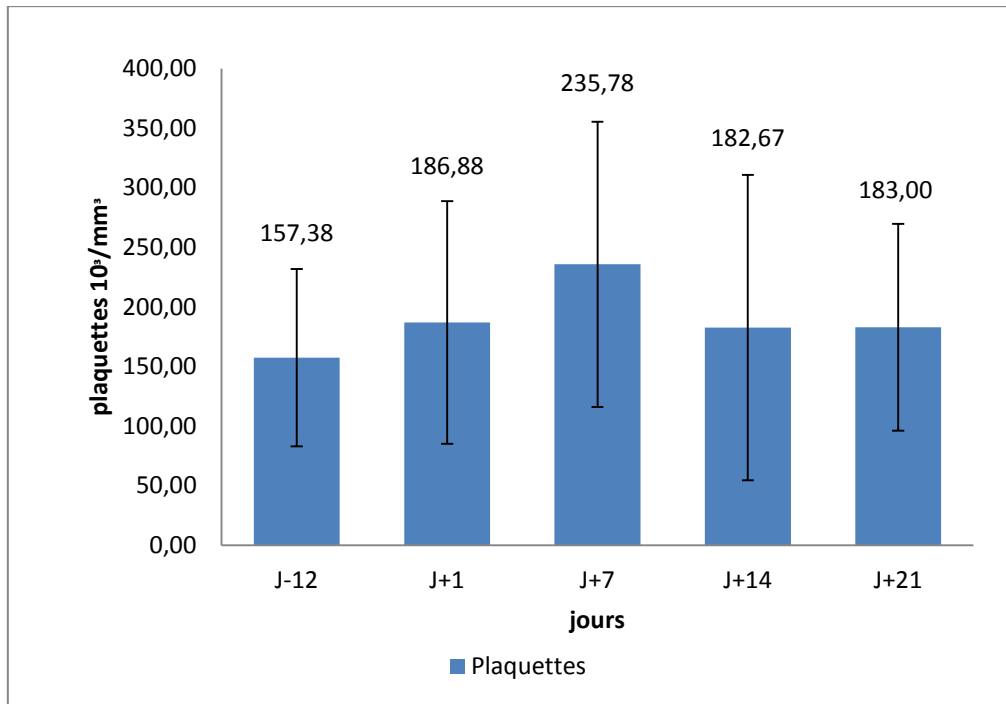
- **Taux des plaquettes**

Les valeurs usuelles des plaquettes sont de $(100-350)10^3/\text{mm}^3$. Nous avons considéré que les valeurs des plaquettes durant toutes les périodes sont dans les normes avec une valeur maximale de $235,78*10^3/\text{mm}^3$ durant la 3^{ème} période . Le taux des plaquettes a commencé à s'élever des la 1^{ière} périodes jusqu'à la 3^{ème} puis a reconnu une baisse durant la 4^{ème} période et après une légère croissance au cours de la 5^{ème} période .

Tableau 11 : Variations des plaquettes sanguines chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne $10^6/\text{mm}^3$	157,38	186,88	235,78	182,67	183,00
Ecart type	74,3311846	101,802943	119,646122	128,267299	86,7337881

Résultats et Discussion



Graph 11: Variations des plaquettes sanguines chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Résultats de la biochimie

- **Le calcium**

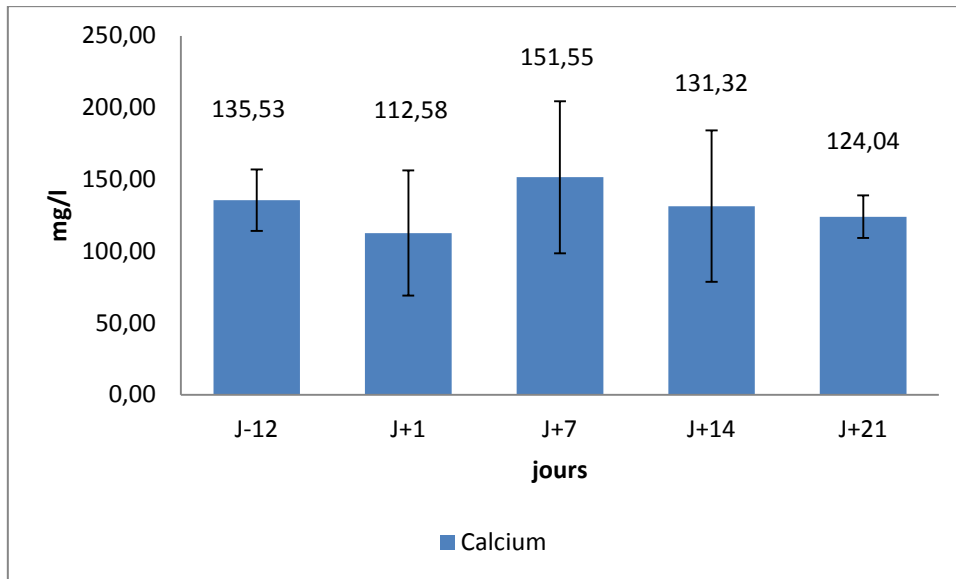
Les valeurs usuelles du calcium au niveau sanguin sont de **105-120mg/l** . Nous avons remarqué que le taux est resté élevé par rapport aux normes durant toutes les périodes de prélèvement sauf durant la 2^{ème} période ou le taux est resté dans les normes . La valeur maximale est de **151.55mg/l** .

Nous avons noté une diminution du taux de calcium au cours de la 2^{ème} période puis une brusque augmentation lors de la 3^{ème} période et une diminution encore une fois au cours de la 4^{ème} et 5^{ème} période

Tableau 12: Variations du taux de calcium chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part .

période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne mg/l	135.53	112.58	151.55	131.32	124.04
Ecart type	21,3938362	43,613671	52,9739056	52,7244552	14,8123471

Résultats et Discussion



Graph 12: Variations du taux de calcium chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part .

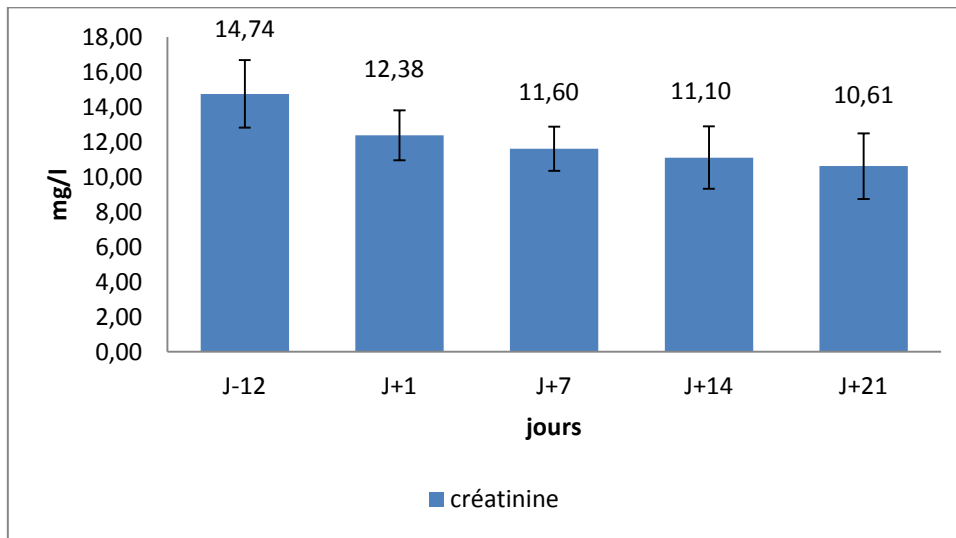
- **La créatinine**

Les valeurs usuelles sont de **6-18mg/l** . Nous avons noté que le taux de créatinine est resté dans les normes durant toutes les périodes avec une valeur maximale de **14.74mg/l** observée lors de la 1^{ière} période puis ce taux a commencé à s'abaisser de la 1^{ière} à la dernière période par ordre décroissant .

Tableau 13: Variations de la créatinine chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne mg/l	14,74	12,38	11,60	11,10	10,61
Ecart type	1,93016469	1,42721563	1,26095202	1,78815547	1,87512963

Résultats et Discussion



Graph 13 : Variations de la créatinine chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

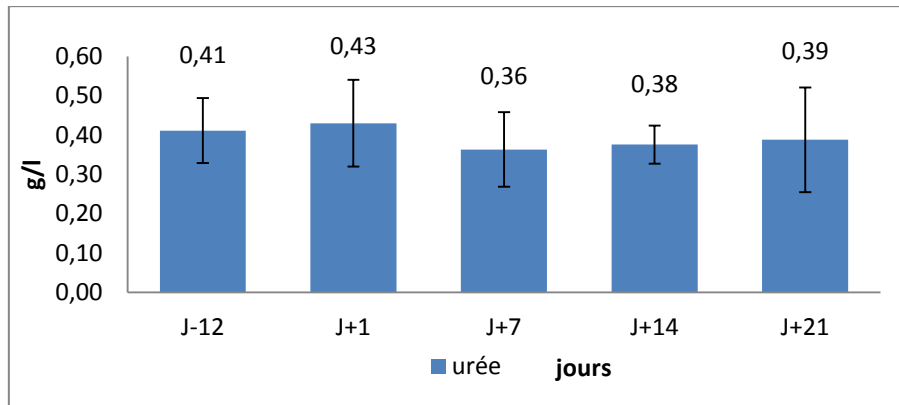
- **L'urée**

Les valeurs usuelles de l'urée sont de **0.24-0.48g/l** . Nous avons constaté que le taux d'urée est resté dans les normes avec une valeur maximale au cours de la 2^{ème} période de **0.43g/l** . Nous avons observé une élévation durant la 2^{ème} période puis une diminution au cours de la 3^{ème} et puis on a remarqué une augmentation pendant la 4^{ème} et 5^{ème} période .

Tableau 14 : Variations d'urée chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne g/l	0.41	0.43	0.36	0.38	0.39
Ecart type	0,08253787	0,11034038	0,09473648	0,04850544	0,13330208

Résultats et Discussion



Graph 14 : Variations d'urée chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

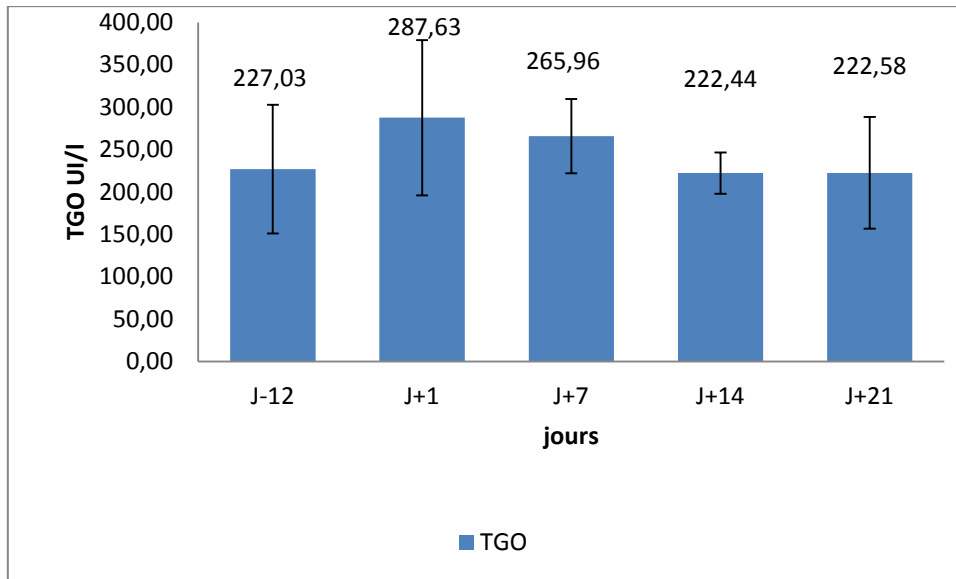
- **Taux de TGO**

Le taux de TGO doit être $<240\text{UI/l}$. Nous avons remarqué que durant la 2^{ème} et la 3^{ème} période le taux de TGO a dépassé les normes puis est revenu normal au cours de la 4^{ème} et 5^{ème} période .

Tableau15: Variations de TGO chez les juments de reproduction à j12 avant le part, j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne UI/l	227.03	287.63	265.95	222.44	222.58
Ecart type	75,993698	91,7098735	43,8740851	24,3724286	65,9550752

Résultats et Discussion



Graph 15 : Variations de TGO chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

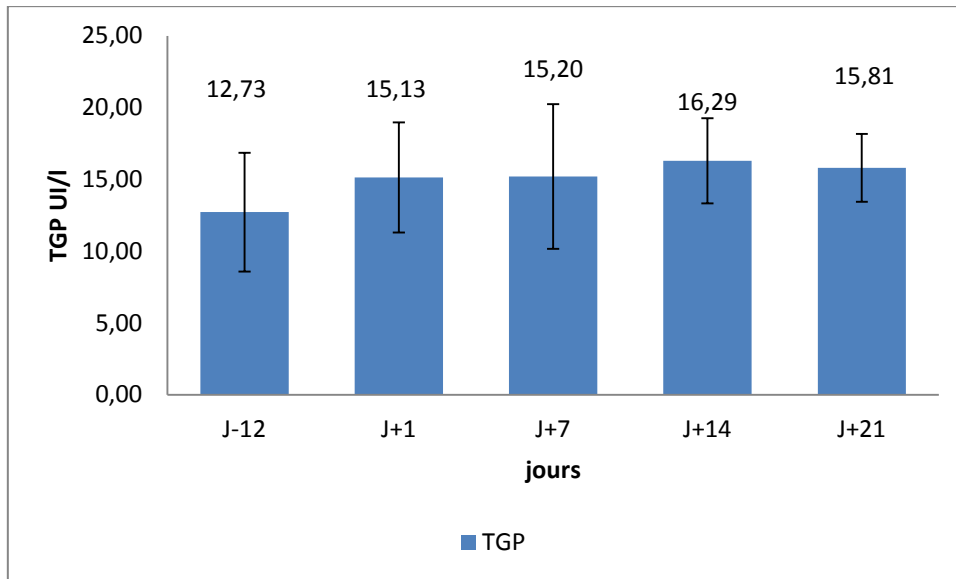
- **Taux de TGP**

Le taux de TGP doit être <15UI/l . Nous avons remarqué que ce taux est resté dans les normes juste durant la 1^{ière} période puis c'est élevé et a reconnu une valeur maximale de 16.29UI/l pendant la 4^{ème} période et a légèrement diminué pendant la 5^{ème} période .

Tableau 16 : Variations de TGP chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne UI/l	12.73	15.13	15.20	16.29	15.81
Ecart type	4,13409171	3,82818495	5,04033729	2,96582385	2,36561009

Résultats et Discussion



Graph 16: Variations de TGP chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

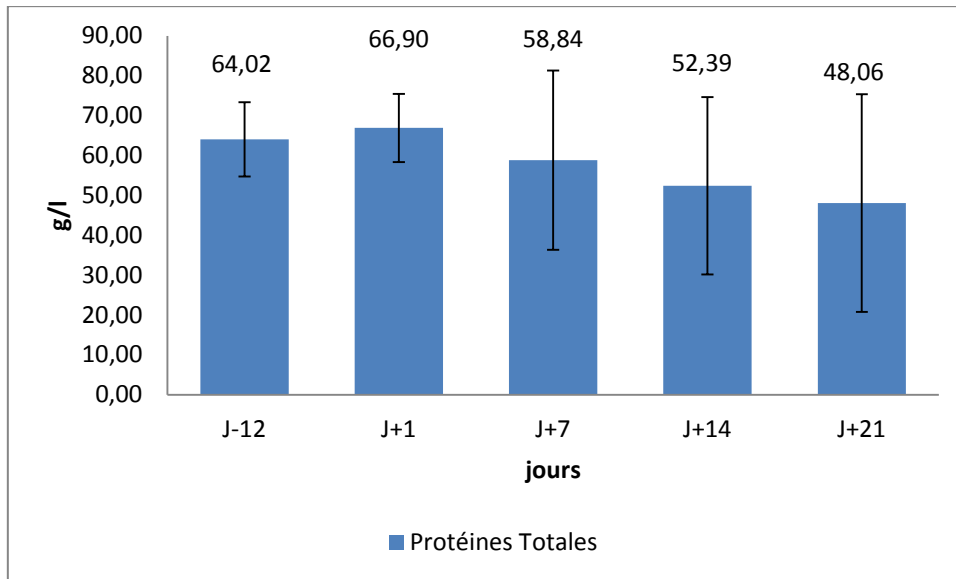
- **Taux des protéines totales**

Les valeurs usuelles des protéines totales sont de **57-73g/l** . Nous avons remarqué que le taux est resté dans les normes pendant toutes les périodes des prélèvements avec une valeur maximale de **66.90g/l** au cours de la 2^{ème} période et une diminution de ce dernier au cours de la 3^{ème} période puis une légère augmentation au cours de la 4^{ème} et 5^{ème} période

Tableau 17 : Variations des protéines totales chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Période	J-12	J+1	J+7	J+14	J+21
Moyenne g/l	64.02	66.90	58.84	58.93	61.79
Ecart type	9,28753764	8,53506167	22,4930378	22,2158081	27,323306

Résultats et Discussion



Graph 17: Variations des protéines totales chez les juments de reproduction à j12 avant le part , j1 après le part, j7 après le part, j14 après le part , j21 après le part.

Résultats et Discussion

Discussion

Dans la présente étude, nous avons exploré l'impact de la gestation, la parturition et des chaleurs de poulinage sur les paramètres hématologiques et biochimiques chez les juments pur-sang arabes à savoir : une FNS complète, calcium, créatinine, urée, TGO, TGP et les protéines totales.

Les ajustements métaboliques qui se produisent pendant la gestation sont complexes et répandus, et la gestation est associée à un état métabolique instable comparé avec l'état des juments non gestantes. Ces adaptations métaboliques sont essentielles pour assurer un développement approprié du fœtus et pour fournir des substrats adéquats qui sont nécessaires *in utero* et après la naissance (Hadden et McLaughlin, 2009).

Des changements dans le métabolisme sont également nécessaires pour répondre aux besoins altérés des femelles avec des réserves et des substrats d'énergie suffisants pour faire face aux exigences de la gestation ainsi que celles de l'exercice (travail) et de l'allaitement (Hadden et McLaughlin, 2009).

I. Bilan Hématologique

L'hémogramme blanc

La diminution du taux des globules blancs après 24h de poulinage est probablement due à la migration des leucocytes du secteur vasculaire au lieu de l'inflammation « utérus » et leur élévation à j+7 après le part est due à une nouvelle production de GB qui migrent vers le siège de l'inflammation au cours de la saillie entre J+7 et J+9 car le sperme déposé au niveau des voies génitales est considéré comme un corps étranger, ainsi que le col est toujours ouvert, ce qui prédispose à une pénétration des germes, en outre, cette période consiste en une involution utérine non achevée. A j+14 le taux a baissé, ceci est dû au retour à l'état normal, tandis que chez les juments témoins selon des études antérieures sur des juments en péripartum (Harvey et al. 1994, Aoki et al.2013, Bazzano et al. 2014, Mariella et al. 2014), les résultats ont montré une augmentation significative des GB 24h après la mise bas, le pic des GB pourrait être dû au stress physique associé à l'accouchement (Aoki et al.2013) et la libération consécutive du cortisol et des catécholamines (Morel, 1993). On sait que ces hormones de stress induisent des changements en chiffres absolus et relatifs des proportions de leucocytes dans le sang. Ces résultats sont contradictoires par rapport aux nôtres.

Une monocytopenie physiologique peut être présente en phase initiale d'une période de stress (Weiser et Thrall, 2004), ce qui n'est pas le cas dans le présent travail, ceci pourrait

Résultats et Discussion

être probablement dû à la présence d'infections sub-cliniques chez les juments de notre étude.

L'hémogramme rouge

Pendant la gestation, la plupart des animaux domestiques et des humains développent une anémie en raison d'une hémodilution relative, c'est une exception chez le cheval parce que les saignements de l'endomètre chez le cheval ne sont pas possibles (le placenta est non sarcastique), la perte de sang après la mise bas est généralement la cause résultant de lésions utérines, cervicales ou vaginales.

Dans le présent travail, nous avons noté une diminution des GR durant toute la période expérimentale ce qui pourrait être due à l'hémodilution, du fait que le taux d'HB était toujours normal.

En plus, nous avons rapporté un taux d'Ht inférieur aux normes car l'hématocrite représente le pourcentage de volume circulant occupé par les érythrocytes et suite à l'hémodilution ce taux est représentatif.

Nos résultats sont en accord avec ceux cités par Cymbaluck et al, (2013) qui ont rapporté une diminution du taux des GR à J+7 PP suite à une hyper hydratation due à une consommation d'eau importante lors de la lactation (50% à 70% d'eau supplémentaire).

Pour le VGM les valeurs enregistrées dans notre travail étaient dans la fourchette des valeurs usuelles, la CCMH et la TCMH ont montré des valeurs supérieures à la normale cela est due à l'âge des juments qui est d'une moyenne de 12ans, ainsi la CCMH et la TCMH augmentent physiologiquement avec l'âge (Cebulj-Kadunc et al, 2002).

Une augmentation artéfactuelle de CCMH peut être causée par une hémolyse (*in vivo* ou *in vitro*). Une augmentation vraie de CCMH n'est en théorie pas possible car la concentration en hémoglobine ne peut pas augmenter dans l'hématie (Brockus, 2011).

L'évaluation de l'hémostase n'est pas réalisée en routine sans suspicion d'anomalie, mais la numération des plaquettes et l'étude de leur taille, grâce à plusieurs indices, fait partie de tous les bilans hématologiques.

Nos résultats montrent un taux de PLT dans les normes.

II. Le bilan Biochimique

Le calcium

Ca^{++} et le P^+ jouent un rôle clé dans plusieurs fonctions corporelles telles que le métabolisme osseux et énergétique. Ces électrolytes comprennent environ 70% de la teneur en minéraux du corps et jusqu'à 50% des minéraux dans le lait. La plupart des dépôts de Ca^{++} et de P^+ dans le fœtus surviennent au cours des deux derniers mois de gestation, ce qui suggère que la plupart du développement squelettique survient à ce moment-là (Kavazis et al, 2002).

Dans la présente étude, nous avons remarqué une augmentation du taux de calcium de J+7 jusqu'au dernier prélèvement J+21, ce qui est en désaccord avec Mariella et Al, 2014, Coruzzi, 1989 ; Richadson, 1991 ; Holley and Evans, 1977 ; Martin, 1996 ; Berlin et Aroch, 2009 qui ont trouvé une diminution de la concentration du Ca au péri-partum, ceci est peut être due aux régimes alimentaires distribués aux juments (luzerne et orge) riches en Ca et Mg.

Urée et Créatinine

L'urée est un produit final du catabolisme protéique, synthétisée dans le foie et excrétée par les reins. La concentration en urée du sérum est déterminée par l'équilibre entre le catabolisme protéique et la fonction excrétoire rénale.

Dans la présente étude les valeurs de l'urémie et de la Créatininémie sont dans la fourchette des valeurs usuelles. Ces résultats sont en accord avec la publication sur les juments durant la période péripartum (Mariella, J. et al, 2014). Les changements dans le taux de l'urée sérique peuvent refléter une augmentation de la demande d'énergie et une exigence plus élevée d'acides aminés pour les processus anabolisants. Selon Mariella et al. (2014), l'azote uréique reste élevé, en raison de la forte demande énergétique au début de la lactation (Aoki et Ishii, 2012). Dans une étude antérieure, Aoki et Ishii (2012) ont suggéré que ces résultats pourraient être liés à des changements dans le métabolisme énergétique plutôt que dans la fonction rénale.

Ce qui explique l'augmentation des concentrations sériques de l'urée juste après le part.

La **synthèse** de l'urée est réalisée par le foie à partir de l'ammoniac. L'ammoniac est issu de la dégradation des acides aminés et de l'urée présente dans les aliments et donc dans le contenu digestif ; cette dégradation est principalement réalisée par la flore gastro-intestinale

Résultats et Discussion

(Thrall et al, 2004). L'urée est **excrétée** principalement par les reins (75 à 100%), le reste est excrété par la salive, la sueur, le tractus gastro-intestinal (Reed et al, 2011).

L'urémie peut **augmenter suite** à un exercice prolongé par augmentation du catabolisme protéique, ou en cas d'alimentation riche en protéines ; elle peut au contraire diminuer en cas d'alimentation pauvre en protéines (Latimer, 2011).

Le dosage de l'urée est également utilisé pour évaluer la fonction rénale, mais l'urée étant métabolisée par la flore intestinale chez les chevaux, sa concentration plasmatique n'est que modérément augmentée en cas d'insuffisance rénale. Ce dosage est ainsi moins pertinent chez les équidés que chez les carnivores (Desjardins et Cadoré, 2006 ; Latimer, 2011).

La créatinine est formée à partir de la condensation spontanée et la déshydratation de la créatine musculaire en une structure circulaire, elle est ensuite excrétée par les reins (Thrall m.a,2004). et en très faible quantité au niveau gastro-intestinal (Latimer k.s. 2011). Elle permet donc l'évaluation de la fonction rénale (avec l'urée, dont l'intérêt est limité chez les chevaux comme dit précédemment) (Thrall m.a ,2004).

La concentration en créatinine plasmatique dépend de la masse musculaire et du niveau d'activité physique, elle est donc beaucoup plus élevée chez chevaux athlétiques que sédentaires (Desjardins i., 2006).(Latimer k.s.,2011)

La concentration élevée de la créatinine juste avant le part peut être éventuellement due à la compression du fœtus du système urinaire et l'augmentation des déchets dans la circulation maternelle, ce qui a induit une réduction de la filtration glomérulaire.

Alanine-amino transférase et aspartate-amino transférase

L'ALAT est une enzyme libérée, retrouvée en faible concentration hépatique chez les chevaux et en quantité modérée dans les muscles (cardiaque et squelettiques).

C'est une enzyme non spécifique qui nécessite d'être analysée en association avec d'autres variables (Thrall m.a.,2004).

L'ASAT est une enzyme induite, **retrouvée** en concentration élevée au niveau hépatique et dans les muscles (cardiaque et squelettiques) de toutes les espèces, c'est une enzyme non spécifique qui nécessite d'être analysée en association avec d'autres variables (Thrall M.A,2004) .

Une augmentation significative de l'activité peut être due à une souffrance hépatique ou musculaire, ou une hémolyse car les érythrocytes contiennent de l'ASAT.

Résultats et Discussion

Le dosage de l'ASAT est utilisé en association avec celui des CK (= Créatine Kinase) pour évaluer une souffrance musculaire.

Dans la présente étude, nous avons noté une légère augmentation des TGO à J+1pp et J+7PP ceci est probablement due à la sollicitation du foie pour la production des hormones et des protéines du colostrum, ainsi que l'activité intense des muscles au cours de la parturition.

Pour la TGP, une augmentation est notée durant les premiers, septièmes et quatorzièmes jours pp, cela est peut être due aux mêmes facteurs que ceux des TGO.

Par rapport à certaines publications, nos valeurs sont dans la fourchette des valeurs usuelles.

Les protéines totales

Selon les résultats de cette étude, la concentration des protéines totales dans le plasma sanguin de la jument pendant la fin de la gestation et durant le postpartum n'a pas changé de manière significative. La légère augmentation des concentrations de protéines totales dans la fin de la gestation, est le résultat de changements hormonaux dans l'organisme. La sécrétion d'hormones (glucocorticoïdes, thyroxine) augmente également pendant la gestation, en raison de l'augmentation de la sécrétion d'hormones sexuelles, qui à leur tour intensifie les événements métaboliques dans l'organisme (Nett et al, 1973 ; Cunningham, 1997). Les glucocorticoïdes améliorent la mobilisation des protéines extra hépatiques et le transport des acides aminés vers les cellules du foie. Les acides aminés mobilisés dans les cellules du foie aideront à synthétiser le glucose à travers la néoglucogenèse, qui est la principale source d'énergie pour l'embryon. L'augmentation graduelle de la concentration de protéines totales dans le plasma sanguin des juments pendant la gestation a été enregistrée par Herak et al, (1994).

Les protéines dans leur ensemble ont plusieurs **rôles** : fonction nutritive, pression osmotique, participation dans la réponse immunitaire, (formation des anticorps du colostrum) et réponse inflammatoire, processus de coagulation, participation à l'équilibre acido-basique (Latimer k.s,2011).

La **synthèse** protéique a lieu principalement dans le foie, le système immunitaire étant le second site principal de synthèse protéique.

Le sérum contient toutes les protéines plasmatiques sauf le fibrinogène et les facteurs de coagulation, qui sont consommés pendant la formation du caillot sanguin.

Avec l'âge, la quantité de protéines totales augmente globalement, mais l'albuminémie

Résultats et Discussion

diminue alors que la globulinémie augmente. La quantité de protéines totales diminue chez les individus très âgés.(Kaneko j.j,(2008). L'augmentation des globulines consiste surtout en une augmentation des immunoglobulines et des protéines de la phase aiguë de l'inflammation (Latimer k.s ;2011).

Après un **stress**, une **excitation** ou un **exercice**, les protéines totales augmentent légèrement(Desjardins,2006) . Ce qui explique l'augmentation à J+1PP dans notre étude suite au stress causé par la parturition.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Ce travail de projet de fin d'études avait pour objectif essentiel d'évaluer l'influence des chaleurs de poulinage sur quelques paramètres hémato-biochimiques, ainsi qu'à la fin de la période de gestation et la parturition (période de transition) (le péri-partum). Ces périodes constituent un état de stress assez important chez les femelles que nous avons voulu évaluer à travers l'étude de quelques paramètres sanguins.

Sur la base de ce travail, nous pouvons conclure que les juments de l'expérimentation ont présenté :

- Un bilan leucocytaire normal (GB, lymphocytes et granulocytes) excepté pour les monocytes où nous avons observé une augmentation de leur taux.
- Une diminution du taux des GR et de l'hématocrite suite à l'hémodilution observée en postpartum.
- Un taux d'hémoglobine normal excluant une véritable anémie.

Pour les paramètres biochimiques, nous avons noté :

- Une hypercalcémie suite à la richesse du régime alimentaire en minéraux.
- L'urée et la créatinine étaient dans les normes montrant un bon fonctionnement rénal et une bonne alimentation.
- Une élévation des ASAT et ALAT en postpartum suite à l'activité intense du foie durant cette période.
- Une protéinémie normale durant toute la période expérimentale.

A travers ces résultats, nous pouvons juger qu'il n'y a pas de variations significatives des paramètres hémato-biochimiques durant le foal heat, cependant des fluctuations dans les valeurs des paramètres hémato-biochimiques étudiés ont été enregistrées. En revanche, le bilan d'hématologie et de biochimie demeure très intéressant pour prédire des pathologies postpartum.

Références
Bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- J. Mariella et al. / *Theriogenology* 81 (2014) 526–534.
- Braun jp, Benard p, Burgat v, Rico ag. gamma glutamyl transferase in domestic animals. *vet res commun* 1983;6:77–90.
- Flisinska-Bojanowska A, Komosa M, Gill J. Influence of pregnancy on diurnal and seasonal changes in glucose level and activity of FDPA, ALAT and ASAT in mares. *Comp Biochem Physiol A* 1991;98:31–5.
- Hansen mf, Todd ac, McGee wr. blood picture of lactating and non-lactating throughbred mares. *vet med* 1950;45:228–30.
- Harvey j.w. (dir.). eukocytes. In: (2001). atlas of veterinary hematology. blood and bone marrow of domestic animals. philadelphia, pennsylvania, USA: Saunders, Elsevier, pp. 45-74.
- laboratory evaluation of plasma and serum proteins. In: Thrall m.a., Baker d.c., Campbell t.w., Denicola d., Fettman m.j., Lassen e.d., Rebar a., Weiser g. dir.) (2004). veterinary hematology and clinical chemistry. Baltimore, md: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 401-415.
- Meuten dj, Kociba g, Therelfall wr, Nagode la. serum alkaline phosphatase in pregnant mares. *vet clin pathol* 1980;9: 27–30.
- Sevinga m, Barkema hw, Hesselink jw. Serum calcium and magnesium concentrations and the use of a calcium-magnesium borogluconate solution in the treatment of Friesian mares with retained placenta. *Theriogenology* 2002;57:941–7.
- Archer, rk. The nature of the blood and its disorders. In : *Comparative Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th edition.
- daels pf, fatone s, hansen bs et al: dopamine antagonist-induced reproductive function in anoestrous mares: gonadotropin secretion and effect of environmental cues.
- daels pf, hughes jp : the normal estrous cycle. in mckinnon ao, voss jl, editors : *equine reproduction*, pp 121-132. philadelphia, 1993, lea and febiger.
- Duncan and Prasse's *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5th edition. Ames, ia, USA: Wiley-blackwell, pp. 173-210).
- Duncan and Prasse's *Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. 5th edition. Ames, IA, USA: Wiley-blackwell, pp. 173-210).
- fitzgerald bp, schmidt mj: absence of an association between melatonin and reproductive activity in mares during the non breeding, *biol reprod monogr* 1: 425-434-1995.
- ginther oj : *reproductive biology of mares : basic and applied aspects*, ed 2, pp 41-74, 105-290.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

gross plains, wi,1992, equiservices.

ginther oj : reproductive biology of the mare : basic and applied aspects, ed 2, pp1-40. cross plains, wi, 1992, equi-services.

Ginther oj : Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare, Gross Plains, WI,1986, Equiservices.

Ginther oj: Reproductive biology of the mare : basic and applied aspects, ed2,pp.173-220,305-311,392-396. Gross Plains, WI, 1992, Equiservices.

greenhoff gr , kenney rm : evaluation of reproductive status of non-pregnant mares . j am vet med assoc 167 : 449-458, 1995.

greenhoff gr, kenney rm: evaluation of reproductive status of non-pregnant mares. j am vet med assoc 167:449-458,1975.

guillaume d, arnaud g, camillo fet al: effect of melatonin implants on reproductive status of mares. biol reprod monogr 1 / 435-442-1995.

haematology. [éd.] Archer, rk and Jeffcott, lb. Oxford : Blackwell Scientific Publications,1977:1-12.

in proceedings of the 7th international symposium on equine reproduction , university of pretoria, south africa,1998,pp45-46.

Livre : guide pratique des analyses biologiques vétérinaires par Christine medaille et Alexandra briend-marchal. Editions MED'COM .

manuel de reproduction équine :nom de l'auteur : terry l.blanchard , dickson d.varner , james schumarcher ,charles c.love , steven p.brinsko , sherri l.rigby .traduit et adapté de la 2ème édition américaine par le docteur vétérinaire jean-françois bruyas éditions maloine 27 ;rue de l'école –de-medecine-75006 paris 2005.

McKinnon ao, Carenevale em: ultrasonography. in mckinnon ao, voss jl, editors, equine reproduction, philadelphia,1993, lea and febiger.

Nishikawa y, Hafez ese : Horses . In Hafez ese , Editor, reproduction in farm animals , pp 288-300. Philadelphia, 1975, Lea and Febiger.

sisson s , grossman jd : the anatomy of domestics animals , ed 4 , pp 606-614 . philadelphia , 1953 ; wb saunders .

Annexes

ANNEXES

FICHE DE PRÉLÈVEMENTS

Informations générales

Nom de la jument :

Race :

Heure :

Âge :

N° de la jument :

Date :

lot du prélèvement :

Examen clinique

- Etat général : Bon Assez bon mauvais

- Body Score et poids :

- Etat des muqueuses : humides sèches

- Couleur des muqueuses :

- Oculaires : - buccales : - vaginale :

- Fréquence cardiaque : btm/mn

- Fréquence respiratoire :

- Température rectale :

- Pli de peau :

- Comportement, vigilance :

Présence Absence

- Anomalies : - antécédents médicaux :

➤ Prélèvements :

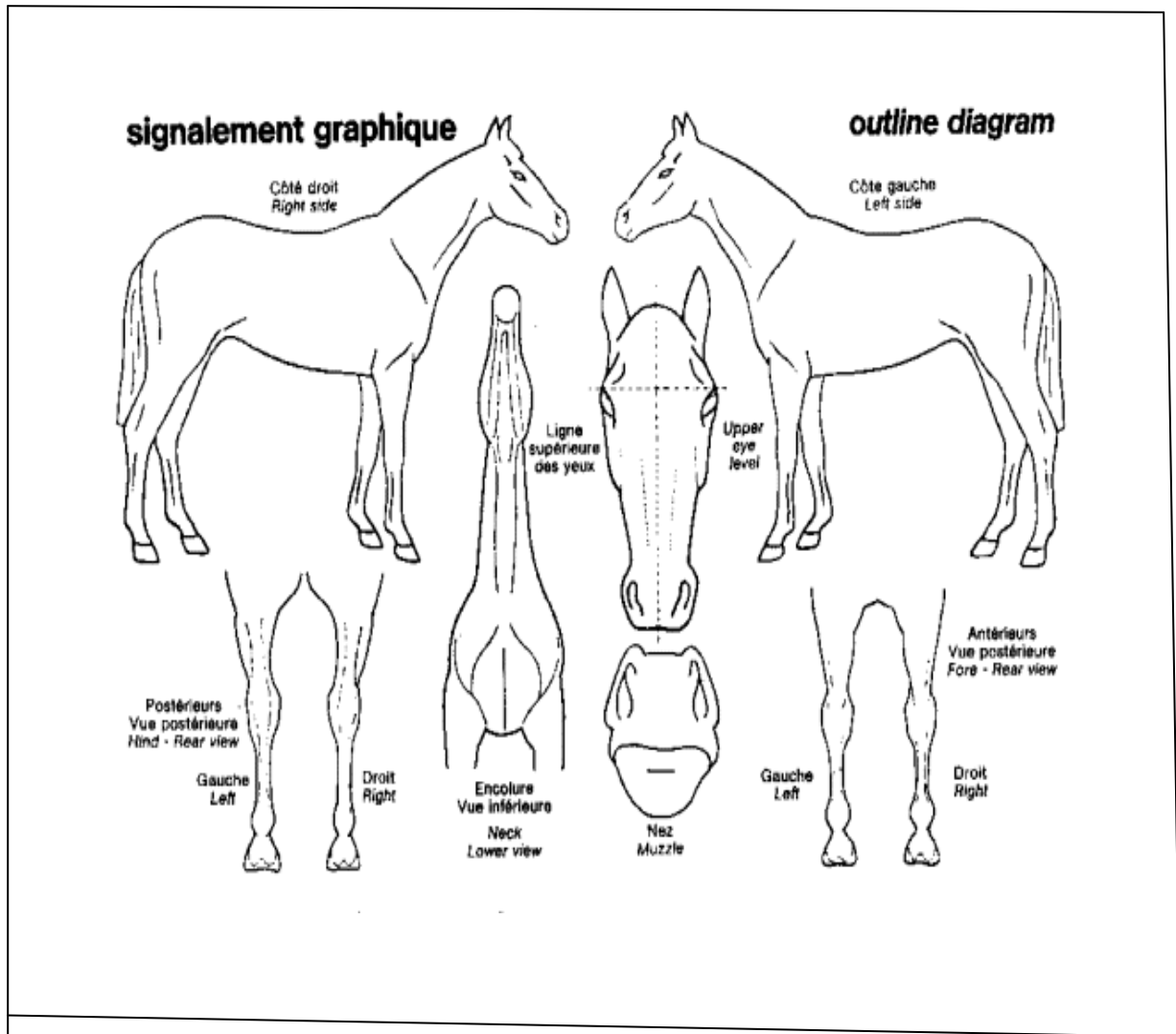
○ Sang : sur E.D.T.A. sur héparine sur tube sec sur tube citraté

➤ Périodes de prélèvements :

- 12j avant le part date :
- 24h post-partum date :
- 7j post-partum date :
- 14j post-partum date :
- 21j post-partum date :

ANNEXES

- signalement de la jument :



ANNEXES



Université IBN KHALDOUN – Institut des Sciences Vétérinaires
 Département de Santé Animale
 Laboratoire de Diagnostic
 Service d'Hématologie-Biochimie



Fiche de résultats

<u>Date:</u>				<u>N°:</u>
<u>Animal:</u>				
<u>Espèce:</u> équine	<u>Race:</u>	<u>Sexe:</u>	<u>Âge:</u>	

<u>Paramètres</u>	<u>Résultat</u>	<u> Valeurs usuelles</u>
GB.....		(5400-14300) /mm ³
Lymphocytes.....		(1500-7700) /mm ³
Monocytes.....		(0-1000) /mm ³
Neutrophiles.....		(2260-8580) /mm ³
Eosinophiles.....		(0-1000) /mm ³
Basophiles.....		(0-290) /mm ³
GR.....		(6,8-12,9)10 ⁶ /mm ³
Hb.....		(11-19)g/dl
Ht.....		(32-53)%
VGM.....		(37-58) fl
TGMH.....		(12,3-19,9) pg
CCMH.....		(31-38,6) g/dl
Plaquettes.....		(100-350)10 ³ /mm ³
VMP.....		(4 - 8) fl
IDP.....		(6 - 12)%
Calcium.....		(105-120) mg/l
Magnésium.....		(16 - 25) mg/l
Cholestérol.....		(0,51-1,09) g/l
Triglycéride.....		(< 0,5) g/l
Créatinine.....		(6 - 18) mg/l
Urée.....		(0,24 - 0,48) g/l
BT.....		(5 - 31) mg/l
Glu.....		(0,5 - 0,94) g/l
TGO.....		(< 240) UI/l
TGP.....		(<15) UI/l
PAL.....		(<450) UI/l
GGT.....		(<20) UI/l

Conclusion

FICHE DE PRÉLÈVEMENTS

Informations générales

Nom de la jument :

Race :

Heure :

Âge :

N° de la jument :

Date :

lot du prélèvement :

Examen clinique

- Etat général : Bon Assez bon mauvais

- Body Score et poids :

- Etat des muqueuses : humides sèches

- Couleur des muqueuses :

- Oculaires : - buccales : - vaginale :

- Fréquence cardiaque : btm/mn

- Fréquence respiratoire :

- Température rectale :

- Pli de peau :

- Comportement, vigilance :

Présence Absence

- Anomalies : - antécédents médicaux :

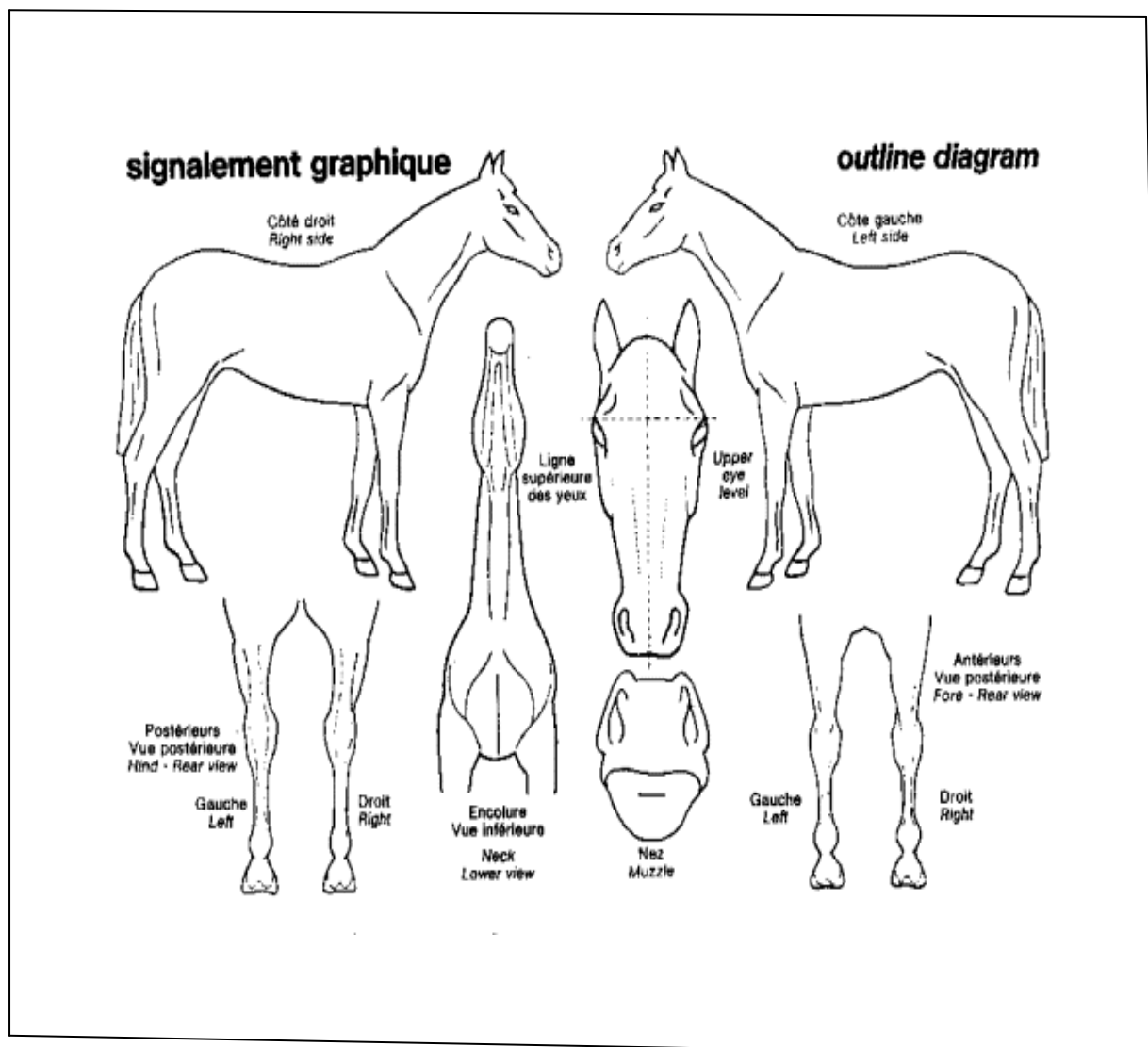
➤ Prélèvements :

○ Sang : sur E.D.T.A. sur héparine sur tube sec sur tube citraté

➤ Périodes de prélèvements :

- 12j avant le part date :
- 24h post-partum date :
- 7j post-partum date :
- 14j post-partum date :
- 21j post-partum date :

- signalement de la jument :

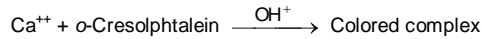


Quantitative determination of calcium IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

The measurement of calcium in the sample is based on formation of color complex between calcium and o-cresolphthalein in alkaline medium:



The intensity of the colour formed is proportional to the calcium concentration in the sample^{1,2,3}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Calcium is the most abundant and one of the most important minerals in the human body. Approximately 99% of body calcium is found in bones. A decrease in albumin level causes a decrease in serum calcium.

Among causes of hypercalcemia are cancers, large intake of vitamin D, enhanced renal retention, osteoporosis, sarcoidosis, thyrotoxicosis, hyperparathyroidism.

Low levels of calcium are found in hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, vitamin D deficiency, malnutrition and intestinal malabsorption^{1,6,7}.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1 Buffer	Ethanolamine	500 mmol/L
R 2 Chromogen	o-Cresolphthalein 8-Hydroxyquinolein	0.62 mmol/L 69 mmol/L
CALCIUM CAL	Calcium aqueous primary standard 10 mg/dL	

PRECAUTIONS

R1/R2: Corrosive (C);R35:Causes severe burns.

PREPARATION

All the reagents are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.

Do not use reagents over the expiration date.

Signs of reagent deterioration:

- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 570 nm \geq 0.2.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 570 nm.
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment (Note 1, 2).

SAMPLES

- Serum or plasma¹: Separated from cells as rapidly as possible. Blood anticoagulants with oxalate or EDTA are not acceptable since these chemicals will strongly chelate calcium.

- Urine¹: Collect 24 hour urine specimen in calcium free containers. The collecting bottles should contain 10 ml of diluted Nitric acid (50% v/v). Record the volume.

Dilute a sample 1/2 in distilled water. Mix. Multiply results by 2 (dilution factor).

Stability of the samples: Calcium is stable 10 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength: 570 nm (550-590)
Cuvette: 1 cm. light path
Temperature 37°C / 15-25°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water.
- Pipette into a cuvette:

	Blank	Calibrator	Sample
R 1 (mL)	1.0	1.0	1.0
R 2 (mL)	1.0	1.0	1.0
Calibrator (Note 3, 4) (µL)	--	20	--
Sample (µL)	--	--	20

- Mix and incubate for 5 min. at 37°C / 15-25°C.
- Read the absorbance (A) of the samples and calibrator, against the Blank. The color is stable for at least 40 minutes.

CALCULATIONS

Serum and plasma

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Calibrator}} \times 10 (\text{Calibrator conc.}) = \text{mg/dL calcium in the sample}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{ Sample}}{(A) \text{ Calibrator}} \times 10 (\text{Calibrator conc.}) \times \text{vol. (dL) urine/24 h} = \text{mg/24 h calcium}$$

Conversion factor: mg/dL x 0.25= mmol/L.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems.

Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

Adults	8.5-10.5 mg/dL	\cong 2.1-2.6 mmol/L
Children	10-12 mg/dL	\cong 2.5-3 mmol/L
Newborns	8-13 mg/dL	\cong 2-3.25 mmol/L

Urine:

Adults	50-300 mg/24h	\cong 1.25-7.5 mmol/24h
Children	80-160 mg/24h	\cong 2-4 mmol/24h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0.10 mg/dL to linearity limit of 15 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
Mean (mg/dL)	9.08	15.7	9.03	14.28
SD	0.17	0.24	0.17	0.23
CV (%)	1.97	1.53	1.99	1.62

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,034 A.

Accuracy: Results obtained using SPINREACT reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x).

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r): 0.91.

Regression equation: $y=0.9069x + 0.9114$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed with triglycerides up to 1.25 g/L^{1,2,3}.

A list of drugs and other interfering substances with calcium determination has been reported by Young et. al^{4,5}.

NOTES

- CALCIUM CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
- It is recommended to use disposable material. If glassware is used the material should be scrupulously cleaned with diluted 1/1 HNO₃ in water and then thoroughly rinsed it with distilled water.
- Most of the detergents and water softening products used in the laboratories contains chelating agents. A defective rinsing will invalidate the procedure.
- Calibration with the aqueous standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
- Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
- SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.**

BIBLIOGRAPHY

- Farell E C. Calcium. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1051-1255 and 418.
- Kessler G. et al. Clin Chem Vol 10, No 8 1964; 686-706.
- Connerty H. V. et al. Am J Clin Path Vol 45, No 3 1996; 200-296.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACCC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACCC 1995.

PACKAGING

Ref:1001061

Cont.

R1:1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref:1001062

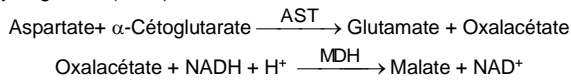
R1:1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST) IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'AST est une enzyme intracellulaire, qui se trouve en grandes quantités dans les muscles du cœur, les cellules du foie, les cellules du muscle squelettique et en plus faibles quantités dans les autres tissus.

Bien qu'un niveau élevé d'AST dans le sérum ne soit pas caractéristique d'une maladie hépatique, elle s'emploie principalement pour les diagnostics et le suivi, avec d'autres enzymes telles que l'ALT et l'ALP. Elle s'utilise également dans le cadre du contrôle post-infarctus, chez les patients souffrant de troubles musculaires du squelette et dans certains autres cas^{1, 4,5}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte les données cliniques et les données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	L-aspartate	200 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrats	Lactate déshydrogéné (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogéné (MDH)	600 U/L
	α -cétoglutarate	12 mmol/L

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001160 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.

Réf: 1001161 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.

Réf: 1001162 Dissoudre (→) une tablette de substrats de R2 dans 50 mL de R1.

Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostaté à 25°C, 30°C ó 37°C (\pm 0,1°C)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μ L)	100
- Mélanger et incubé pendant 1 minute

- Lire l'absorbation (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbation à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorbation par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 μ mol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	2,08
30°C	0,73	1,00	1,54
37°C	0,48	0,65	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Femmes	Jusqu'à 16 U/L	22 U/L	31 U/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 360 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (U/L)	SD	CV (%)	
Moyenne (U/L)	55,5	165	55,0	162
SD	1,30	3,44	0,92	2,52
CV (%)	2,35	2,07	1,68	1,55

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00051 $\Delta A/\text{min}$

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r^2): 0,98277.

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,9259x - 5,1685$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-1116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

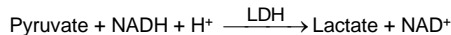
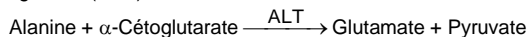
Ref: 1001160	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001161		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001162		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL

**Détermination quantitative d'alanine amino transférase
GPT (ALT)
IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'ALT est une enzyme intracellulaire, qui se trouve principalement dans les cellules du foie et des reins.

Son meilleur avantage est le diagnostic de maladies du foie.

On l'observe en grandes quantités dans le cadre de maladies hépatiques, telles que l'hépatite, les maladies du muscles et des infarctus du cœur, étant donné que la valeur de l'ALT reste dans les limites standards et augmente dans les niveaux de AST^{1, 4, 5}.

La diagnostique clinique doit être réalisée en prenant en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L
R 2 Substrats	L-Alanine	500 mmol/L
	NADH	0,18 mmol/L
	α -Cétoglutarate	15 mmol/L

PRECAUTIONS

R1 : H290- Peut être corrosif pour les métaux.
Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Mélanger: 1 vol. de (R2) Substrats + 4 vol. (R1) Tampon.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostaté à 25°C, 30°C ou 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μL)	100
- Mélanger et incubé pendant 1 minute
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L d'ALT}$$

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui converti 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE^{4, 5}

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Femmes	Jusqu'à 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Chez les nouveau-nés en bon état de santé, on a détecté des valeurs presque doublées par rapport à celle relevées chez les adultes, état donné leur maturité hépatique, ces valeurs redeviennent normales dans les trois mois.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0 U/L, jusqu'à la limite de linéarité de 400 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du CINA 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (U/L)	SD	Moyenne (U/L)	SD
Moyenne (U/L)	42,0	116	41,1	115
SD	0,47	0,42	0,76	1,61
CV (%)	1,11	0,36	1,85	1,40

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00052 $\Delta A/\text{min}$

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99597.

Equation de la Courbe de régression: $y=1,1209x + 1,390$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'ALT^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Alanine aminotransférase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTATION

Réf: 41280	Cont.	R1: 1 x 60 mL
		R2: 1 x 15 mL
Réf: 41282		R1: 1 x 240 mL
		R2: 1 x 60 mL
Ref: 41283		R1: 1 x 480 mL
		R2: 1 x 120 mL

Détermination quantitative de protéines totales IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

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

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé^{1, 4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les protéines sont des composés organiques macromoléculaires, répartis largement dans l'organisme. Elles fonctionnent comme des éléments structuraux et de transport. Elles sont divisées en deux fractions, albumines et globulines.

Leur détermination est utile pour détecter:

- l'hyperprotéinémie produite par hémococoncentration, déshydratation ou augmentation de la concentration des protéines spécifiques.
- l'hypo protéinémie par hémodilution due à une défaillance dans la synthèse protéique, à des pertes excessives (hémorragies) ou à un catabolisme protéique excessif^{4, 5}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R Biuret	Tartrate de potassium de sodium	15 mmol/L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre (II)	5 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	1000 mmol/L
T PROTEIN CAL	Patron primaire d'albumine bovine 7 g/dL	

PRECAUTION

R: H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H412-Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation (A) du blanc à 540 nm $\geq 0,22$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 540 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé¹.

Stabilité de l'échantillon: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C).

PROCEDURE

1. Conditions de test:
Longueur d'ondes: 540 nm (530-550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C/15-25°C
2. Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
3. Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,2,3) (µL)	--	25	--
Echantillon (µL)	--	--	25

4. Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
5. Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 7 \text{ (Étalon conc.)} = \text{g/dL de protéines totales}$$

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Adultes: 6,6 – 8,3 g/dL

Nouveau-nées: 5,2 – 9,1 g/dL

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,007 g/dL jusqu'à la limite de linéarité de 14 g/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (g/dL)	SD	CV (%)	
Moyenne (g/dL)	6,53	4,89	6,77	5,08
SD	0,01	0,01	0,07	0,05
CV (%)	0,21	0,24	1,05	0,94

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,0825 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,97002

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,954x + 0,511$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Hémoglobine et lipémie^{1, 4}.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de protéines^{2, 3}.

REMARQUES

1. T PROTEIN CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
2. Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques
3. Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
4. **SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.**

BIBLIOGRAPHIE

1. Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
2. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
3. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
4. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
5. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001290	Cont.	R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001291		R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001292		R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL



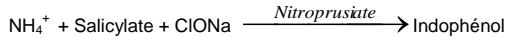
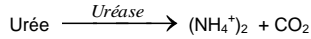
Détermination quantitative d'urée
IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

 L'urée catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂).

Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorithe (ClONa), en présence du catalyseur nitroprussiate, pour former un indophénol vert ::


 L'intensité de couleur formé est proportionnel à la concentration d'urée en le fait à diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction.

 Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales^{1,4,5}.

La diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	Tampon phosphates pH 6,7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
R 2 ClONa	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mmol/L
R 3 Enzymes	Hypochlorite de sodium (ClONa)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
UREA CAL	Uréase	30000 U/L
	Patron primaire de détection d'urée 50 mg/dL	

PRECAUTIONS

R2: Corrosif (C); R35: provoque des brûlures graves.

S26 En cas de contact avec les yeux, laver à grande eau claire immédiatement et se rendre chez un médecin. S37/39 Utiliser des gants adaptés et des protections pour les yeux/les mains.

S45 En cas d'accident ou de malaise se rendre au plus chez le médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

PREPARATION

- Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) une tablette de R3 dans le flacon de R1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à dissolution complète du contenu.

- Stabilité: 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

- Le R2 ClONa prêt à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation (A) du blanc à 580 nm ≥ 0,32.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 580 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque2).

ECHANTILLONS

 - Sérum ou plasma héparinisé¹: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ni de fluorure comme anticoagulants.

 - Urine¹: Diluer l'échantillon à 1/50 dans de l'eau distillée; mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution). Eviter le développement de bactéries, en réglant le pH < 4.

L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 580 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	Blanc	Étalon	Echantillon
	1,0	1,0	1,0
Étalon ^(Remarque 1,3,4) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incuber 5 min à 37°C ou 10 min à température ambiante.

- Pipeter:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R 2 (mL)	1,0	1,0	1,0

- Mélanger et incuber 5 min. à 37°C ou 10 min. À température ambiante.
- Lire l'absorbation (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes à 15-25°C.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{ Échantillon} - (A) \text{ Blanc}}{(A) \text{ Étalon} - (A) \text{ Blanc}} \times 50 (\text{Étalon conc.}) = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

 10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée¹.

Facteur de conversion: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 gr/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE
Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,3 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 200 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	40,0	139	40,0	142
SD	1,27	3,50	1,86	3,75
CV (%)	3,17	2,50	4,64	2,63

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00505 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x). Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,9941.

Equation de la Courbe de régression: y=0,9972x + 0,011.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

 Comme anticoagulants, il est conseillé d'utiliser de l'héparine. Ne jamais utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure¹.

 Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée^{4,5}.

REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, manipuler avec précaution. Peut être contaminé très facilement.
- Le matériel utilisé et l'eau distillée ne doivent ni contenir d'ammonium, ni de sels¹.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Tabacco A et al. Clin Chem 1979; 25: 336-337.
- Fawcett J K et al. J Clin Path 1960; 13: 156-169.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001331	Cont.	R1: 2 x 150 mL, R2: 2 x 150 mL, R3: 2 → 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001329		R1: 5 x 50 mL, R2: 5 x 50 mL, R3: 5 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL

Quantitative determination of creatinine IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE OF THE METHOD

In the first reaction, creatinase and sarcosine oxidase were used in the enzymatic hydrolysis of endogenous creatine to produce hydrogen peroxide, that is eliminated by catalase. In the second reaction, the catalase is inhibited by sodium azide, and creatinase and 4- aminoantipyrine (4-AA) were added, and only the creatine generated from creatinine by creatinase was hydrolyzed sequentially by creatinase and sarcosine oxidase to produce hydrogen peroxide. This newly-formed hydrogen peroxide was measured in a coupled reaction catalyzed by peroxidase, with N-ethyl-n-sulphopropyl-mtoluidine (TOPS)/4-AA as a chromogen.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Creatinine is the result of the degradation of the creatine, component of muscles, it can be transformed into ATP, that is a source of high energy for the cells. The creatinine production depends on the modification of the muscular mass, and it varies little and the levels usually are very stable. Is excreted by the kidneys. With progressive renal insufficiency there is retention in blood of urea, creatinine and uric acid. Elevate creatinine level may be indicative of renal insufficiency². Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R 1	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0,5 mmol/L, Creatinase 10 KU/L, Sarcosine Oxidase 5 KU/L Catalase 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH 7,5.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Creatinase 30 KU/L, peroxidase KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.
CREATININE CAL	Creatinine aqueous primary standard 2 mg/dL.

PRECAUTIONS

CAL: H290-May be corrosive to metals.
Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

R1 and R2 are ready to use.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use.
R1 and R2 are stable 8 weeks after opening bottle.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer o photometer measuring at 545±20 nm
- Cell holder thermostable at 37°C
- General laboratory equipment.

SAMPLES

- Serum or plasma¹.
- Urine (24 h)¹: Dilute fresh urine 1/50 with distilled water. Multiply the result by 50 (sample dilution factor). Creatinine is stable 1 day at 2-8°C.

PROCEDURE

1. Assay conditions:
Wavelength: 545 nm (525-565)
Cuvette: 1 cm light path
Temperature: 37°C (±0,1°C)
2. Adjust the instrument to zero with distilled water.
3. Pipette into a cuvette (Note 3):

	Blank	Standard (Note 1,2)	Sample
R1 (µL)	450	450	450
Sample (µL)	10	10	10

4. Mix and incubate 5 minutes.
5. Read the absorbance (A₁) of the standard and the samples, at 545nm against the blank.
6. Add:

	Blank	Standard	Sample
R2 (µL)	150	150	150

7. Mix and incubate 5 minutes.

8. Read the absorbance (A₂) of the standard and the samples, at 545nm against the blank.

CALCULATIONS

$$\text{Creatinine} = \frac{\Delta A_{\text{Sample}} \times k - \Delta A_{\text{Blank}} \times k}{\Delta A_{\text{Standard}} \times k - \Delta A_{\text{Blank}} \times k} \times C = \text{mg/dL of Creatinine in the sample}$$

$$K = 0,754 = 460 \mu\text{L}/610 \mu\text{L}$$

C= Concentration of the standard

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTROL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 y 1002210). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and calibrator for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

Serum or plasma:

Men 0,9 - 1,3 mg/dL
Women 0,6 - 1,1 mg/dL

Urine:

Men 14 - 26 mg/Kg/24 h
Women 11 -20 mg/Kg/24 h

These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From *detection limit* of 0,00 mg/dL to *linearity limit* of 180 mg/dL.

If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/2 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 2.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (mg/dL)	SD	Mean (mg/dL)	SD
Mean (mg/dL)	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensitivity: 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

Accuracy: Results obtained using SPINREACT these reagents did not show systematic differences when compared with other commercial reagents or with HPLC method.

The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0,9730

Regression equation: y= 1,066x - 0,020.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

No interferences were observed with haemoglobin until 5 g/dL, bilirubin 40 mg/dL. Other drugs and substances may interfere^{3,4}.

NOTES

1. CREATININE CAL: Proceed carefully with this product because due its nature it can get contaminated easily.
2. Calibration with the aqueous Standard may cause a systematic error in automatic procedures. In these cases, it is recommended to use a serum Calibrator.
3. Use clean disposable pipette tips for its dispensation.
4. **SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers.**

BIBLIOGRAPHY

1. Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co.,1999.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PACKAGING

Ref.: 1001115 Cont. R1: 1 x 30 mL, R2:1 x 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref.: 1001117 R1: 1 x 240 mL, R2:1 x 80 mL, CAL: 1 x 5 mL

Determinación cuantitativa de creatinina IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

En la primera reacción, se usa creatinasa y sarcosina oxidasa en la hidrólisis enzimática de la creatina endógena para producir peróxido de hidrógeno, el cual es eliminado por catalasa. En la segunda reacción, la catalasa es inhibida por la azida sódica, se añaden creatinasa y 4-aminoantipirina (4-AA), y únicamente la creatina generada a partir de la creatinina por la creatinasa se hidroliza secuencialmente por la creatinasa y sarcosina oxidasa, para producir peróxido de hidrógeno. Este nuevo peróxido de hidrógeno formado se mide en una reacción acoplada catalizada por la peroxidasa, con N-etil-n-sulfopropil-mtoluidina (TOPS)/4-AA como cromógeno.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La creatinina es el resultado de la degradación de la creatina, componente de los músculos y puede ser transformada en ATP, fuente de energía para las células.

La producción de creatinina depende de la modificación de la masa muscular. Varía poco y los niveles suelen ser muy estables.

Se elimina a través del riñón. En una insuficiencia renal progresiva hay una retención en sangre de urea, creatinina y ácido úrico.

Niveles altos de creatinina son indicativos de patología renal².

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R 1	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0,5 mmol/L, Creatinasa 10 KU/L, Sarcosina Oxidasa 5 KU/L, Catalasa 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH 7,5.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Creatinasa 30 KU/L, peroxidasa KU/L, pH 7,5. Azida sódica 0,5 g/L.
CREATININE CAL	Patrón primario acuoso de Creatinina 2 mg/dL.

PRECAUCIONES

CAL: H290-Puede ser corrosivo para los metales.

Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.

PREPARACIÓN

R1 y R2 están listos para su uso.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

R1 y R2 son estables durante 8 semanas después de la apertura del bote.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o fotómetro para lecturas a 545±20 nm
- Cubeta termostaticada a 37°C
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

- Suero o plasma heparinizado¹.
 - Orina (24 h)¹: Diluir la muestra al 1/50 con agua destilada. Multiplicar el resultado por 50 (factor de dilución de la muestra).
- Estabilidad de la creatinina: al menos 24 horas a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 Longitud de onda: 545 nm (525-565)
 Cubeta: 1 cm paso de luz
 Temperatura: 37°C (±0,1°C)
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta (Nota 3):

	Blanco	Patrón (Nota 1,2)	Muestra
R1 (µL)	450	450	450
Muestra (µL)	10	10	10

- Mezclar e incubar durante 5 minutos.
- Leer la absorbancia (A₁) a 545nm, del patrón y de las muestras frente al blanco.
- Añadir:

	Blanco	Patrón	Muestra
R2 (µL)	150	150	150

- Mezclar e incubar durante 5 minutos.

- Leer la absorbancia (A₂) a 545nm, del patrón y de las muestras frente al blanco.

CÁLCULOS

$$\text{Creatinina} = \frac{\Delta A_{\text{Muestra}} \times k - \Delta A_{\text{Blanco}} \times k}{\Delta A_{\text{Patrón}} \times k - \Delta A_{\text{Blanco}} \times k} \times C = \text{mg/dL de Creatinina en la muestra}$$

$$K = 0,754 = 460 \mu\text{L}/610 \mu\text{L}$$

C = Concentración del patrón

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

Suero o plasma:

Hombres 0,9 - 1,3 mg/dL

Mujeres 0,6 - 1,1 mg/dL

Orina:

Hombres 14 - 26 mg/Kg/24 h

Mujeres 11 - 20 mg/Kg/24 h

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Rango de medida: Desde el *límite de detección* de 0,00 mg/dL hasta el *límite de linealidad* de 180 mg/dL.

Si la concentración es superior al límite de linealidad, diluir la muestra 1/2 con CIna 9 g/L y multiplicar el resultado final por 2.

Precisión:

Media (mg/dL)	Intraserie (n=20)		Interserie (n=20)	
	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensibilidad analítica: 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

Exactitud: Los reactivos de SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x) o con el método HPLC.

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coefficiente de correlación (r)²: 0,9730.

Ecuación de la recta de regresión: y= 1,066x - 0,020.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

No se observan interferencias con Hemoglobina hasta 5g/L, bilirrubina 40 mg/dL.

Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la creatinina^{3,4}.

NOTAS

- CREATININE CAL: Debido a la naturaleza del producto, es aconsejable tratarlo con sumo cuidado ya que se puede contaminar con facilidad.
- La calibración con el Patrón acuoso puede dar lugar a errores sistemáticos en métodos automáticos. En este caso, se recomienda utilizar calibradores séricos.
- Usar puntas de pipeta desechables limpias para su dispensación.
- SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

BIBLIOGRAFÍA

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRESENTACIÓN

Ref.: 1001115	Cont.	R1: 1 x 30 mL, R2: 1 x 10 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref.: 1001117		R1: 1 x 240 mL, R2: 1 x 80 mL, CAL: 1 x 5 mL

Détermination quantitative de créatinine IVD

Conserver à 2 - 8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Dans la première réaction, nous utilisons de la créatinase oxydase dans l'hydrolyse enzymatique de la créatine endogène pour produire du peroxyde d'hydrogène, qui est éliminé par catalase. Dans la seconde réaction, la catalase est inhibée par l'azoture de sodium, on ajoute de la créatinase et 4-aminoantipyrine (4-AA), et seulement la créatine générée à partir de la créatinine par la créatinase on hydrolyse séquentiellement par la créatinase y sarcosine oxydase, pour produire du peroxyde d'hydrogène. Ce nouveau peroxyde d'hydrogène formé est mesuré dans une réaction accouplée catalysée par la peroxydase, avec N-éthyle-n-sulfopropyle-m-toluidine (TOPS)/4-AA comme chromogène.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatine, composant des muscles et elle peut être transformée en ATP source d'énergie pour les cellules.

La production de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle varie peu et les niveaux sont généralement très stables.

Elle s'élimine par les reins. Dans une insuffisance rénale progressive il y a une rétention d'urée, de créatinine et d'acide urique dans le sang.

Des niveaux élevés de créatinine sont indicatifs de pathologie rénale².

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R 1	MOPS 25 mmol/L, TOPS 0,5 mmol/L, Créatinase 10 KU/L, Sarcosine Oxydase 5 KU/L, Catalase 3 KU/L, EDTA 1mmol/L, pH7,5.
R 2	MOPS 90 mmol/L, Créatinase 30 KU/L, Peroxydase KU/L, pH 7,5. Azoture de sodium 0,5 g/L.
CRÉATININE CAL	Patron primaire aqueux de Créatinine 2 mg/dL.

PRÉCAUTIONS

CAL : H290-Peut être corrosif pour les métaux.

Suivre les conseils de prudence indiqués sur la FDS et sur l'étiquette du produit.

PRÉPARATION

R1 et R2 sont prêts à être utilisés.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette, quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et que leur contamination est évitée. Ne pas utiliser des réactifs au-delà de la date indiquée.

R1 et R2 sont stables pendant 8 semaines après l'ouverture du flacon.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou photomètre pour lectures à 545±20 nm
- Cuve thermostatée à 37°C
- Équipement habituel de laboratoire.

ÉCHANTILLONS

- Sérum ou plasma hépariné¹.
- Urine (24 h) ¹: Diluer l'échantillon à 1/50 avec de l'eau distillée. Multiplier le résultat par 50 (facteur de dilution de l'échantillon).
- Stabilité de la créatinine : au moins 24 heures à 2-8°C

PROCÉDURE

- Conditions de l'essai :
 Longueur d'onde : 545nm (525-565)
 Cuve : 1 cm passage de lumière
 Température : 37°C(±0,1°C)
- Régler le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.
- Introduire la pipette dans une cuve^(Note 3):

	Blanc	Patron ^(Note 1,2)	Échantillon
R1 (µL)	450	450	450
Échantillon (µL)	10	10	10

- Mélanger et incuber pendant 5 minutes.
- Lire l'absorption (A₁) à 545nm, du patron et des échantillons par rapport au blanc.
- Ajouter :

	Blanc	Patron	Échantillon
R2 (µL)	150	150	150

- Mélanger et incuber pendant 5 minutes.

- Lire l'absorption (A₂) à 545nm, du patron et des échantillons par rapport au blanc.

CALCULS

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta A \text{ Muestra } x k - \Delta A \text{ Blanco } x k}{\Delta A \text{ Patrón } x k - \Delta A \text{ Blanco } x k} \times C = \text{mg/dL de Créatinine dans l'échantillon}$$

$$K = 0,754 = 460\mu\text{L}/610\mu\text{L}$$

C = Concentration du patron

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser avec les échantillons de sérums de contrôle évalués :

SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs trouvées sont en dehors de la gamme de tolérance, il faut vérifier l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre Contrôle de qualité et établir des corrections dans le cas où les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE¹

Sérum ou plasma :

Hommes 0,9 - 1,3 mg/dL

Femmes 0,6 - 1,1 mg/dL

Urine :

Hommes 14 - 26 mg/Kg/24 h

Femmes 11 - 20 mg/Kg/24 h

Ces valeurs sont indicatives. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure : depuis la limite de détection de 0,00mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 180 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer l'échantillon 1/2 avec CINA 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision :

Moyenne (mg/L)	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensibilité analytique : 1 mg/dL = 0,0226 (ΔA)

Précision : Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives quand ils sont comparés à d'autres réactifs commerciaux (x) ou avec la méthode HPLC.

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de corrélation (r)² : 0,9730.

Equation de la droite de régression : y = 1,066x - 0,020

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Aucune interférence n'est observée avec l'hémoglobine jusqu'à 5g/L, bilirubine 40 mg/dL.

Plusieurs médicaments ont été décrits ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la créatinine^{3,4}.

REMARQUES

- CRÉATININE CAL : En raison de la nature du produit, il est conseillé de le traiter avec beaucoup de précaution car il peut être facilement contaminé.
- L'étalonnage avec le patron aqueux peut entraîner des erreurs systématiques dans des méthodes automatiques. Dans ce cas, il est conseillé d'utiliser des calibreurs sériques.
- Utiliser des embouts de pipette jetables propres pour leur diffusion.
- SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Text book of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

PRÉSENTATION

Réf : 1001115

Cont.

R1 : 1 x30 mL, R2:1 x 10 mL, CAL : 1 x 5 mL

Réf : 1001117

R1 : 1 x240 mL, R2:1 x 80 mL, CAL : 1 x 5 mL

Determinação quantitativa de creatinina
IVD

Conservar entre 2-8 °C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Na reação inicial, utiliza-se creatina quinase e sarcosina oxidase na hidrólise enzimática da creatina endógena para produzir peróxido de hidrogénio, o qual é eliminado pela catalase. Na segunda reação, a catalase é inibida pela azida de sódio, adiciona-se creatina quinase e 4-aminoantipirina (4-AA), e apenas a creatina produzida a partir da creatinina pela ação da creatinina quinase é hidrolisada sequencialmente pela creatina quinase e sarcosina oxidase, para produzir peróxido de hidrogénio. Este peróxido de hidrogénio formado de novo é medido numa reação acoplada catalisada pela peroxidase, com n-etil-n-sulfopropil-m-toluidina (TOPS)/ 4-AA como cromogénio.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A creatinina resulta da degradação da creatina, componente dos músculos e pode ser transformada em ATP, a fonte de energia para as células.

A produção de creatinina depende da modificação da massa muscular. Varia pouco e os níveis costumam ser muito estáveis.

É eliminada através dos rins. Numa insuficiência renal progressiva existe uma retenção de ureia, creatinina e ácido úrico no sangue.

Níveis elevados de creatinina são indicativos de patologia renal².

O diagnóstico clínico deve realizar-se tendo em consideração todos os dados clínicos e laboratoriais.

REAGENTES

R 1	MOPS 25 mmol/l, TOPS 0,5 mmol/l, Creatina quinase 10 kU/l, Sarcosina oxidase 5 KU/l Catalase 3 kU/l, EDTA 1mmol/l, pH 7,5.
R 2	MOPS 90 mmol/l, Creatina quinase 30 kU/l, peroxidase kU/L, pH 7,5. Azida de sódio 0,5 g/l.
CREATININA CAL	Padrão primário aquoso de Creatinina 2 mg/ dl.

PRECAUÇÕES

CAL: H290 - Pode ser corrosivo para os metais.

Seguir os conselhos de prudência indicados na FDS e na etiqueta do produto.

PREPARAÇÃO

R1 e R2 estão prontos a ser utilizados.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até ao prazo de validade indicado na etiqueta, quando os frascos são mantidos bem fechados, a uma temperatura entre 2-8 °C, protegidos da luz e se evita a sua contaminação. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo indicado.

R1 e R2 são estáveis durante 8 semanas pós a abertura dos frascos.

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Espectrofotómetro ou fotómetro para leituras a 545 ± 20 nm.
- Banho termostaticável a 37 °C
- Equipamento habitual de laboratório.

AMOSTRAS

- Soro ou plasma heparinizado¹.
- Urina (24 h)¹: Diluir a amostra na proporção 1/50 com água destilada. Multiplicar o resultado obtido por 50 (fator de diluição da amostra). Estabilidade da creatinina: Pelo menos 24 horas a uma temperatura entre 2-8 °C.

PROCEDIMENTO

- Condições do ensaio:
Comprimento de onda: 545 nm (525-565)
Cuvete: 1 cm de passo de luz
Temperatura: 37 °C (± 0,1 °C)
- Ajustar o espectrofotómetro a zero com água destilada.
- Pipetar numa cuvete^(Nota 3):

	Branco	Padrão ^(Nota 1,2)	Amostra
R1 (µl)	450	450	450
Amostra (µl)	10	10	10

- Misturar e incubar durante 5 minutos.
- Ler a absorvância (A₁) do padrão e das amostras, frente ao branco a 545 nm.
- Adicionar:

	Branco	Padrão	Amostra
R2 (µl)	150	150	150

- Misturar e incubar durante 5 minutos.
- Ler a absorvância (A₂) do padrão e das amostras, frente ao branco a 545 nm.

CÁLCULOS

$$\text{Creatinina} = \frac{\Delta A \text{ Amostra} \times k - \Delta A \text{ Branco} \times k}{\Delta A \text{ Padrão} \times k - \Delta A \text{ Branco} \times k} \times C = \text{mg/ dl de Creatinina na amostra}$$

$$K = 0,754 = 460 \mu\text{l} / 610 \mu\text{l}$$

$$C = \text{Concentração do padrão}$$

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

CONTROLO DE QUALIDADE

É conveniente analisar juntamente com as amostras de soro de controlo avaliados:

SPINTROL H Normal e Patológico (Ref. 1002120 e 1002210).

Se os valores determinados se encontrarem fora do intervalo de tolerância, deve-se verificar o aparelho, os reagentes e a calibração.

Cada laboratório deve dispor do seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer procedimentos de correção no caso de os controlos não cumprirem as tolerâncias.

VALORES DE REFERÊNCIA¹

Soro ou plasma:

Homens 0,9 - 1,3 mg/dl

Mulheres 0,6 - 1,1 mg/dl

Urina:

Homens 14 - 26 mg/kg/24 h

Mulheres 11 - 20 mg/kg/24 h

Estes valores são orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

Intervalo de medição: Desde o limite de deteção de 0,00 mg/dl até ao *limite de linearidade* de 180 mg/dl.

Se a concentração for superior ao limite de linearidade, diluir 1/2 da amostra com NaCl 9 g/l e multiplicar o resultado final por 2.

Precisão:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Média (mg/dl)	0,87	3,82	0,87	3,75
SD	0,01	0,06	0,02	0,06
CV (%)	1,63	1,44	2,31	1,72

Sensibilidade analítica: 1 mg/dl = 0,0226 (ΔA)

Exatidão: Os reagentes SPINREACT (y) não apresentam diferenças sistemáticas significativas quando comparados com outros reagentes comerciais (x) ou com o método por HPLC.

Os resultados obtidos com 50 amostras foram os seguintes:

Coefficiente de correlação (r)²: 0,9730.

Equação da reta de regressão: y = 1,066x - 0,020.

As características do método podem variar em função do analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Não se observaram interferências com hemoglobina até 5 g/l e bilirrubina 40 mg/dl.

Foram descritos vários fármacos e outras substâncias que interferem na determinação da creatinina^{3,4}.

NOTAS

- CREATININA CAL: Devido à natureza do produto, é aconselhável manuseá-lo com extremo cuidado uma vez que se pode contaminar com facilidade.
- A calibração com o Padrão aquoso pode originar erros sistemáticos em métodos automáticos. Neste caso, recomenda-se a utilização de calibradores séricos.
- Utilizar pontas de pipeta descartáveis limpas para a sua dispensação.
- A SPINREACT dispõe de instruções detalhadas para a aplicação deste reagente em diferentes analisadores.**

BIBLIOGRAFIA

- Fossati et al. Clin Chem 1983;29:1494-1496.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1999.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1001115	Cont.	R1: 1 x30 ml, R2: 1 x 10 ml, CAL: 1 x 5 ml
Ref.: 1001117		R1: 1 x 240 ml, R2: 1 x 80 ml, CAL: 1 x 5 ml