الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences vétérinaires

Mémoire de master

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

en

Médecine vétérinaire

THEME

L'IMPACT D'UN SYMBIOTIQUE SUR LA BIOCHIMIE DU SANG ET LA RECUPERATION DU CHEVAL

Présenté par : Mlle. ERROUKRMA Lidya

Soutenu publiquement, le 18 juillet 2023 devant le jury :

Mr BAROUDI Djamel

MCA (ENSV)

Présidente

Mme MIMOUNE Nora

MCA (ENSV)

Examinatrice

Mr KHELLEF Djamel

Professeur (ENSV)

Promoteur

2022-2023

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu, notre créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Mes remerciements les plus sincères à **Pr. KHELEF Djamel** pour l'honneur qui m'a fait en acceptant généreusement la charge de m'encadrer, merci pour votre disponibilité, votre confiance, vos encouragements et votre soutien.

Je tiens également à remercier les membres du jury :

- **Dr. BAROUDI Djamel** de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de soutenance, et merci pour sa disponibilité et ses conseils pertinents et sa contribution efficace pour le bon déroulement de ce travail.
- **Dr. Mimoune Nora** je vous présente mes sincères remerciements d'avoir accepté d'évaluer ce travail en prenant part à ce jury.

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à **Dr Ainouz Lynda**, pour m'avoir aidé à réaliser les analyses biochimiques à l'école nationale supérieure vétérinaire. Merci pour votre soutien et votre disponibilité.*

.....Toute ma reconnaissance et profond respect.

Je tiens à remercier les **responsables du club hippique CHMB** de Blida de m'avoir permis l'accès au club, de travailler dans les meilleures conditions qu'ils soient et pour leur gentillesse.

Je tiens également à remercier **KASDI Nour Rania**, **KHETTAB Lyna** et **SEDDIKI Zakaria** pour m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Pour finir, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont rendu possible l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, pour leurs tendres encouragements et leur grand sacrifice.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mes respect, considération et profonds sentiments envers eux. Je prie le bon Dieu de les bénir, veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fiers de moi.

A mes chers frères Basset, Hamza, Fouzi et à ma sublime sœur Yasmine, pour m'avoir accompagné tout le long de mon cursus, pour leur soutien et leur tendresse...

A toute ma famille

Sans oublier mes très chers collègues de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction..... 1

Partie bibliographique..... 3

Chapitre I : Le symbiotique..... 4

1. Définition..... 5

2. Composition..... 5

Chapitre II : Les analyses biochimiques..... 7

1. Profil biochimique sanguin..... 8

2. Profil métabolique..... 8

Partie expérimentale..... 10

Matériel et méthode..... 11

Objectif..... 12

A. Population des chevaux étudiée..... 12

B. Déroulement de l'étude..... 14

C. Mode opératoire..... 14

1. Méthode de prélèvement et de conservation..... 14

2. <u>Analyses biochimiques.....</u>	16
3. <u>Techniques biochimiques.....</u>	17
3.1. <u>Dosage de la glycémie.....</u>	17
3.2. <u>Dosage de l'Aspartate amino transférase.....</u>	17
3.3. <u>Dosage de l'Alanine amino transférase.....</u>	18
3.4. <u>Dosage des protéines totales.....</u>	19
3.5. <u>Dosage de l'albumine.....</u>	19
3.6. <u>Dosage de l'urée.....</u>	20
3.7. <u>Dosage de la créatinine.....</u>	21
<u>Résultats et interprétation.....</u>	22
1. <u>Résultats de la spectrophotométrie.....</u>	23
2. <u>Résultats après le calcul.....</u>	24
3. <u>Analyse statistique.....</u>	24
<u>Discussion.....</u>	27
<u>Conclusion et recommandations.....</u>	29

Résumé

Notre travail vise l'étude d'un symbiotique sur les performances sportives du cheval (récupération) en impliquant la biochimie sanguine.

Notre étude est effectuée sur sept chevaux du club Mitidja, à Blida (CHMB). Ils ont été divisés en deux lots, un expérimental supplémenté en trois doses du symbiotique et un témoin. Des prélèvements sanguins ont été effectués après la prise de la troisième dose afin d'établir une étude biochimique au laboratoire de biochimie médical de l'école nationale supérieure vétérinaire afin d'évaluer quelques paramètres permettant d'évaluer la performance sportive des chevaux étudiés et comparer entre les performances du lot expérimental par rapport au lot témoin.

Les résultats ont montré quelques modifications bénéfiques comme un taux de glucose dans le plasma plus élevé chez le lot supplémenté. Cependant, l'amélioration marquée n'est pas significative (<0.05).

Mots clés : récupération, performance sportive, biochimie sanguine, symbiotique, cheval

Abstract

Our work aims to study the impact of a symbiotic on the sports performance of horses (recovery) by involving blood biochemistry.

Our study was conducted on seven horses from the Mitidja club in Blida (CHMB). They were divided into two groups: an experimental group supplemented with three doses of the symbiotic, and a control group. Blood samples were taken after the administration of the third dose to conduct a biochemical study at the medical biochemistry laboratory of the National Veterinary School in order to assess some parameters related to the sports performance of the studied horses and to compare the performance between the experimental and control groups.

The results showed some beneficial changes, such as a higher level of glucose in the plasma for the supplemented group. However, the observed improvement was not statistically significant (<0.05)

Keywords: recovery, sports performance, blood biochemistry, symbiotic, horse.

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة تأثير النظام المتبادل على أداء الخيول الرياضي (استعادة) من خلال تشمل الكيمياء الدموية

تم تقسيمها إلى مجموعتين: مجموعة تجريبية (CHMB) تم إجراء الدراسة على سبعة خيول من نادي مينيحة في بلدية مكملة بثلاث جرعات من النظام المتبادل، ومجموعة ضابطة. تم أخذ عينات الدم بعد تناول الجرعة الثالثة لإجراء دراسة كيميائية حيوية في مختبر الكيمياء الطبية بالمدرسة الوطنية البيطرية لتقييم بعض المعايير المتعلقة بأداء الخيول المدروسة ومقارنة الأداء بين المجموعتين التجريبية والضابطة.

أظهرت النتائج بعض التغييرات المفيدة، مثل زيادة مستوى الجلوكوز في البلازما للمجموعة المكملة. ومع ذلك، لم تكن التحسينات الملاحظة ذات دلالة إحصائية (أقل من 0.05).

الكلمات الدالة: استعادة، أداء رياضي، كيمياء الدم، نظام متبادل، خيول

Introduction

Les chevaux sont souvent entraînés et utilisés dans divers sports équestres, tels que le saut d'obstacles, le dressage, le concours complet, les courses de galop, le dressage western, le rodéo, etc.

Les performances sportives d'un cheval dépendent de plusieurs facteurs, notamment :

Entraînement : Un entraînement régulier et spécifique pour le sport choisi permet d'améliorer les performances du cheval.

Condition physique : La santé et la condition physique du cheval sont essentielles pour des performances optimales.

Talent naturel : Certains chevaux peuvent avoir des prédispositions naturelles pour certaines disciplines équestres.

Relation cavalier-cheval : Une bonne connexion entre le cavalier et le cheval peut améliorer les performances globales.

Génétique : Les caractéristiques génétiques du cheval peuvent jouer un rôle dans ses capacités athlétiques.

Il est important de noter que chaque cheval est unique, et ses performances dépendront également des soins, de l'environnement et de l'attention qui lui sont prodigués.

Le système cardiaque et respiratoire joue un rôle essentiel dans les performances sportives du cheval, comme c'est le cas pour tout athlète. Les chevaux athlètes, qu'ils participent à des courses, des sauts d'obstacles, du dressage ou d'autres disciplines équestres, nécessitent un système cardiorespiratoire efficace pour atteindre leur plein potentiel et maintenir des performances de haut niveau.

Appareil cardiaque :

Le cœur du cheval pompe le sang à travers tout son corps, fournissant ainsi l'oxygène et les nutriments nécessaires aux muscles et aux organes pour maintenir une activité physique soutenue. Un cœur fort et efficace permettra une meilleure circulation sanguine et une meilleure oxygénation des muscles, ce qui est crucial pour soutenir l'effort physique lors de compétitions équestres exigeantes.

L'entraînement régulier améliore la santé cardiaque du cheval, ce qui se traduit par une augmentation du débit cardiaque maximal et une meilleure récupération après l'effort. Les

chevaux de sport bien entraînés ont souvent un cœur plus gros et plus puissant, ce qui leur permet de faire face aux demandes élevées imposées par leur discipline sportive.

Appareil respiratoire :

Le système respiratoire du cheval est responsable de l'échange d'oxygène et de dioxyde de carbone lors de la respiration. Lors d'un effort physique intense, les muscles du cheval ont besoin de plus d'oxygène pour produire de l'énergie. Un système respiratoire efficace permettra au cheval de respirer plus rapidement et plus profondément, fournissant ainsi l'oxygène nécessaire pour soutenir son activité physique.

Les voies respiratoires des chevaux athlètes doivent être exemptes d'obstructions, car tout problème respiratoire peut entraîner une diminution des performances. Les chevaux souffrant d'affections respiratoires, comme l'asthme équin ou le syndrome de dysfonctionnement des voies respiratoires, peuvent avoir du mal à soutenir un effort physique intense.

En résumé, un système cardiorespiratoire bien développé et en bonne santé est crucial pour les performances sportives du cheval. Un entraînement régulier, une alimentation appropriée, des soins vétérinaires adéquats et une gestion appropriée du stress contribuent tous à maintenir la santé et les performances optimales du cheval dans sa discipline équestre spécifique.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LE SYMBIOTIQUE

1. Définition

Les symbiotiques résultent de la fusion des bienfaits des probiotiques et des prébiotiques (**GIBSON et ROBERFROID, 1995**). Lorsqu'ils sont combinés, les prébiotiques agissent en synergie pour renforcer la viabilité des souches probiotiques et stimuler l'activité des bactéries naturellement présentes chez l'hôte (**KLEESSON et al., 1997**).

Diverses études ont examiné les effets des symbiotiques sur les paramètres physiologiques et biochimiques de l'organisme hôte. Ces recherches ont révélé que l'utilisation de symbiotiques entraîne une amélioration de la fonction immunitaire, une augmentation du gain de poids quotidien et de la digestibilité, une réduction de l'incidence de la diarrhée et de la mortalité qui y est associée, ainsi qu'une nette amélioration des performances globales des animaux (**GAGGIA et al., 2010**).

2. Composition

a. Les probiotiques

Le terme "probiotique" tire son origine des mots grecs "pro" et "bios", qui signifient littéralement "en faveur de la vie". Selon l'Organisation mondiale de la santé, les probiotiques sont des micro-organismes administrés vivants et en quantités adéquates, ayant des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte.

Le terme a été introduit par **PARKER (1974)** pour désigner les micro-organismes et les substances microbiennes qui contribuent à maintenir l'équilibre de la flore intestinale. Cependant, cette définition englobait à la fois les cultures microbiennes, les métabolites produits par les micro-organismes et les préparations d'antibiotiques, ce qui la rendait trop large pour être utilisée de manière précise. Par conséquent, **FULLER (1989)** a proposé une redéfinition des probiotiques en tant que préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires, ayant des effets bénéfiques sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale. Les micro-organismes vivants qui sont essentiellement incorporés dans les probiotiques sont des bactéries et des levures.

Chez les monogastrique, les bactéries les plus retrouvées dans les probiotiques sont des bactéries lactiques. Ces bactéries ont un fort pouvoir acidifiant, en produisant de l'acide lactique qui lui attribue cette caractéristique (**FULLER, 1997**). Un pH trop bas inhibe la croissance des coliformes dans le tractus gastro-intestinal et c'est ainsi que les probiotiques agissent de manière bénéfique chez les animaux.

Les levures sont généralement définies comme des champignons unicellulaires se reproduisant par bourgeonnement ou par fission. Elles sont réparties en trois classes : les ascomycètes, les basidiomycètes et les deutéromycètes. L'espèce largement prédominante parmi ces levures dans

les productions industrielles est *Saccharomyces cerevisiae*, appartenant à la classe des ascomycètes et au genre *Saccharomyces*.

La levure *Saccharomyces cerevisiae* présente une croissance optimale dans une plage de pH allant de 4,5 à 5,0. De plus, différentes souches de cette levure sont ubiquitaires, ce qui signifie qu'elles peuvent se développer à la fois en présence d'oxygène (aérobie) et en l'absence d'oxygène (anaérobie) (**ROSE, 1987**). Cette adaptabilité lui permet d'augmenter sa biomasse, que ce soit en présence ou en absence d'oxygène.

b. Les prébiotiques

Les prébiotiques sont des composés alimentaires naturels, non digestibles et fermentescibles, qui ont la capacité de stimuler de manière sélective la croissance et/ou l'activité de certains éléments de la flore intestinale, en particulier les bactéries probiotiques. Ils sont reconnus comme bénéfiques pour améliorer la santé de l'organisme hôte (**GIBSON et ROBERFROID, 1995**).

Les prébiotiques englobent une variété de substances, telles que les oligosaccharides (comme les fructooligosaccharides - FOS - et les mannane-oligosaccharides - MOS), les polysaccharides, les extraits de plantes naturelles, les hydrolysats de protéines, les polyols, et d'autres encore. Ces prébiotiques ont la capacité de favoriser la croissance sélective des bactéries intestinales, de stimuler les fonctions immunitaires et de présenter une activité antivirale. Certains d'entre eux peuvent également améliorer l'absorption des minéraux et réguler le métabolisme. L'utilisation des prébiotiques comme additifs alimentaires a commencé à la fin des années 1980. Actuellement, les oligosaccharides multifonctionnels et les acidifiants sont parmi les prébiotiques les plus prometteurs (**GIBSON et al., 2004**).

c. La combinaison de prébiotique et probiotique

La recherche de synergies entre les probiotiques et les prébiotiques constitue une approche prometteuse pour réduire le risque de maladies intestinales et rétablir les déséquilibres microbiens spécifiques (**GAGGIA et al., 2010**). De nombreuses études et recherches ont démontré un effet synergique lorsque les probiotiques et les prébiotiques sont combinés, ce qui permet de réduire la présence de bactéries pathogènes d'origine alimentaire (**BOMBA et al., 2002**).

Bien que nos connaissances sur les effets de ces additifs alimentaires aient augmenté, des lacunes subsistent concernant leur impact global sur l'organisme hôte. À ce jour, les informations essentielles restent incomplètes. Pour l'avenir, la recherche sur les probiotiques et les prébiotiques se concentre principalement sur la démonstration concluante de leur capacité à favoriser la santé, en s'appuyant sur une compréhension approfondie des mécanismes d'action qui les sous-tendent.

CHAPITRE II : LES ANALYSES **BIOCHIMIQUES**

1. Profil biochimique sanguin :

Le profil biochimique sanguin du cheval peut inclure des mesures telles que les enzymes hépatiques (alanine aminotransférase - ALAT, aspartate aminotransférase - ASAT), la créatinine, l'urée, les électrolytes (sodium, potassium, chlorure), les protéines totales, etc. Ces paramètres fournissent des informations sur la santé générale, la fonction hépatique, rénale et électrolytique (**Braun et al., 2017**)

2. Profil métabolique :

Le profil métabolique sanguin peut inclure la mesure de la glycémie, de l'insuline, du lactate, de l'acide lactique et des triglycérides. Ces paramètres permettent d'évaluer le métabolisme énergétique et de détecter d'éventuels troubles métaboliques, tels que l'insulino-résistance et l'hyperlactatémie. (**Treiber et al., 2012**)

Voici quelques paramètres utilisés pour évaluer les performances sportives d'un cheval à partir du profil biochimique :

- Hématologie :

Numération globulaire complète (NGC) : Cela comprend le nombre de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes. Les valeurs normales peuvent varier, mais généralement, on considère qu'un cheval en bonne santé présente environ 6 à 10 millions de globules rouges par microlitre de sang, 6 000 à 12 000 globules blancs par microlitre et 150 000 à 400 000 plaquettes par microlitre.

- Profil métabolique :

Glucose : Les valeurs normales pour le glucose à jeun chez un cheval se situent généralement entre 80 et 140 mg/dL.

Lactate : Les niveaux de lactate peuvent varier en fonction de l'intensité de l'exercice et du niveau de condition physique du cheval. Des valeurs supérieures à 20 mg/dL peuvent indiquer une fatigue ou une surcharge métabolique.

Créatinine kinase (CK) : Les niveaux de CK augmentent après un exercice intense. Les valeurs normales peuvent varier, mais généralement, elles se situent entre 100 et 500 UI/L chez un cheval au repos. Après un exercice intense, les valeurs peuvent atteindre plusieurs milliers d'UI/L.

- Profil électrique :

Sodium (Na⁺), potassium (K⁺), chlorure (Cl⁻) : Les déséquilibres électrolytiques peuvent indiquer une déshydratation ou des perturbations de l'équilibre ionique. Les valeurs normales

pour le sodium se situent généralement entre 135 et 145 mmol/L, pour le potassium entre 3,5 et 5,5 mmol/L, et pour le chlorure entre 95 et 105 mmol/L.

- Profil hépatique :

Aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT) : Ces enzymes hépatiques peuvent indiquer des dommages ou une inflammation du foie. Les valeurs normales pour l'AST sont généralement inférieures à 350 UI/L et pour l'ALT inférieures à 100 UI/L chez un cheval en bonne santé.

Les résultats des analyses sanguines, les antécédents médicaux du cheval, ainsi que d'autres facteurs pour évaluer les performances et la santé globale du cheval.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et méthode

L'objectif :

Le cheval de sport, quel que soit sa discipline, a toujours des objectifs à atteindre à la fin de chaque saison. Pour atteindre ceux-ci, un programme de travail visant à améliorer ses performances depuis le début de sa carrière est réalisé par le cavalier et/ou l'entraîneur. Ce programme inclut le programme de ses entraînements mais aussi toute son hygiène de vie, l'alimentation étant l'élément le plus essentiel. Elle doit être de bonne qualité et à des quantités adaptées aux besoins exacts de chaque cheval, selon son âge, sa race et l'objectif de ses exercices ainsi leur intensité. Une amélioration de performance est, sur le plan clinique, essentiellement traduite par une fréquence cardiaque et respiratoire plus basses à l'effort et une récupération plus rapide après l'effort.

Beaucoup de propriétaires pensent à compléter l'alimentation de leurs chevaux par des additifs alimentaires pour améliorer ce processus de développement des performances. Le symbiotique est un additif alimentaire, composé d'acides et d'agents vivants (bactéries et levures) (mélange de prébiotique et de probiotique) qui renforce le système digestif. Il contribue de cette façon à améliorer les performances des animaux de différentes espèces. Les performances changent d'une espèce à une autre, chez les espèces à production laitière comme la vache laitière par exemple, cela se traduit par une augmentation de cette dernière. Chez le cheval, c'est surtout la récupération qui est à maîtriser.

Plusieurs études visant à évaluer les performances du cheval utilisent des méthodes biochimiques, hématologiques et hormonales. Dans une étude, portant sur l'effet du symbiotique sur la récupération du cheval et réalisée sur une population de huit chevaux auxquels on a ajouté un symbiotique à leur régime alimentaire. Trois doses ont été administrées per os chez certains d'eux (lot expérimental) et un suivi clinique de la récupération de toute cette population était établi du mois d'octobre 2022 au mois de mars 2023.

Dans cette étude, on cherche à évaluer leurs paramètres biochimiques, qui normalement devraient traduire l'état de performance de ces chevaux. Notre objectif est donc de mettre en évidence l'impact de l'utilisation de ce même symbiotique sur la biochimie sanguine et la récupération des chevaux de cette population.

A. Population des chevaux étudiée

L'étude est réalisée au niveau du Club Hippique Mitidja Blida (CHMB), à Blida. On a choisi ce centre hippique afin de pouvoir réaliser une étude à moyen terme.

Huit chevaux de saut d'obstacles, de différents âges, différentes races (barbe et andalous) et de différents sexes (3 males andalous et 5 femelles barbes) ont été suivis du mois d'octobre 2022 jusqu'au mois de mars 2023. Leurs performances étaient évaluées durant cette période. Le but était de mettre en évidence l'effet du symbiotique sur leurs performances sportives en suivant

le développement de ces dernières par des examens cliniques réguliers, avant toute incorporation du symbiotique et 3 doses après.

Les chevaux sont répartis en deux lots :

- Un lot témoin : Impectuosos, Hanane et ILhamra ;
- Un lot expérimental : Nonocha, Princesse, Lkahla, Labrador et Ligerio

Le lot témoin ne doit subir aucune modification dans leur hygiène de vie, tandis que le lot expérimental doit, à des dates précises, ingérer le symbiotique per Os.

Ils appartenaient à une seule écurie, logés dans des boxes individuels, soumis au même régime alimentaire. L'alimentation est distribuée simultanément, deux fois par jours (vers midi et 18h). La ration journalière comporte 1/4 de botte de foin et 4 à 6 kg d'orge. Les conditions d'hygiène sont de faibles à moyennes. Les boiteries, coliques et atteintes respiratoires sont souvent rencontrés dans cette exploitation. Certains (Nonocha, Lhamra et Lkahla) présentaient des dépilations au niveau de la tête, encolure et le corps (voir photo1). Concernant leur vaccination, on n'a pas pu avoir leurs carnets de confirmer s'ils sont vaccination pour confirmer s'ils sont correctement vaccinés.

Photo1 : dépilations cutanées chez certains chevaux

Des examens ont été effectués au laboratoire de parasitologie de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger afin de déterminer, si ces dépilations sont dues à des parasitose (gale, dermodex).

Certains de ces chevaux participent à des concours organisés au niveau régional ou national, notamment Ligerio, Labrador et rarement Nonocha. De temps en temps, le CHMB organise des concours inter-membres, dans lesquels la plupart des chevaux étudiés ont la chance de participer.

B. Déroulement de l'étude

Pour pouvoir être intégrés dans cette étude, les chevaux devaient être soumis à un examen clinique et locomoteur. L'examen clinique comprenait une prise de la température rectale, évaluation de l'état d'hydratation, de temps de remplissage capillaire (TRC), de l'état des muqueuses buccale et oculaire, ainsi qu'une auscultation cardiaque et respiratoire. A ceci est ajouté un examen locomoteur de base qui inclue une inspection de près et de loin, à la mobilisation également (surtout le trot), palpation et palpation pression. Plusieurs examens à différents jours ont été effectués. Ils étaient indemnes de toutes anomalies. L'étude par la suite nécessite de diviser ces huit chevaux en un lot témoin, et un lot expérimental. Ce dernier est soumis à trois doses du symbiotique : le 18.11.2022, 24.12.2022 et enfin le 03.02.2023. Chaque dose est suivie d'un examen clinique 5 à 6 semaines après. Le 04.04.2023, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur les huit chevaux afin d'établir des analyses biochimiques permettant de comparer les résultats de celles-ci entre le lot témoin et le lot expérimental et réaliser une analyse statistique. Ainsi, on pourra mettre en évidence l'effet du symbiotique sur les paramètres biochimiques du cheval.

C. Mode opératoire

L'analyse des paramètres biochimiques nécessite des prélèvements sanguins de l'ensemble des chevaux du lot témoin et du lot expérimental. Des techniques biochimiques adaptées à chaque paramètre étudié sont par la suite utilisées au laboratoire de biochimie médicale de l'école nationale supérieure vétérinaire.

1. Méthode de prélèvements et de de conservation

Les prises de sang permettant le suivie biochimique ont été réalisées sur la veine jugulaire par des seringues avec une aiguille 18G (vacutainer non disponible), par le vétérinaire du CHMB. Pour chaque cheval, un tube sec et un tube hépariné sont utilisés.

Ces prélèvements étaient réalisés le matin, entre 10h et 11h, après au moins une à deux journées de repos. A la fin de chaque prélèvement, le tube rempli est identifié et agité pour éviter la coagulation sanguine. Les prélèvements étaient immédiatement conservés dans une glacière. Ils ont été toute de suite amenés au laboratoire de biochimie médical de l'école

nationale supérieure vétérinaire. Les tubes secs et héparinés ont été centrifugés et le plasma conditionné en aliquotes (identifiées) (micropipette de 1000 μ) avant d'être congelé et conservé ainsi.

**1. Conservation dans
Une glacière**

2. Centrifuger

**3- plasma dans des
Aliquotes**

**4- Aliquotes contenant du
plasma prêt à être conservé au congélateur**

Centrifugation : 3000 tour/minute

L'identification :

Cheval	Tube sec	Tube hépariné
Hamra	S1	H1
Princesse	S2	H2
Nonocha	S3	H3
Labrador	S4	H4
Kahla	S5	H5
Hanane	S6	H6
Impectuosos	S7	H7

2. Les analyses biochimiques

Dans cette étude, les paramètres biochimiques étudiés sont la glycémie, protéines totales, l'aspartate amino transférase (ASAT), l'alanine amino transférase (ASAT), l'albumine, l'urée, la créatinine et l'acide uréique. Ces analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de biochimie médical de l'école supérieure vétérinaire d'Alger. Les analyses étaient effectuées sur les échantillons issus des tubes secs seulement.

Un cas exceptionnel se présentait, il s'agissait du prélèvement d'Impectuosos qui avait un aspect coagulé, non homogène avec une présence d'une masse solide, plus ou moins transparente comme le montre la photo en dessous.

Images du sang prélevé de Impectuosos

3. Techniques biochimiques

Les paramètres biochimiques ont été dosés avec des kit Spinréact.

3.1. Dosage de la Glycémie

Principe

La méthode enzymatique colorimétrique de **TRINDER (1969)** et **KAPLAN (1984)** est utilisée pour mesurer la quantité de glucose présente. Dans cette méthode, la glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique (1). Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit est ensuite détecté en présence d'un accepteur chromogène d'oxygène, tel que le phénol ou la 4-aminophénazone (4-AF), avec l'aide de la peroxydase (POD) (2). L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de glucose dans l'échantillon, exprimée en mg/dl.

Glucose oxydase

Peroxydase

Mode opératoire

Pour la préparation des échantillons, nous avons réalisé trois types. Tout d'abord, un échantillon blanc a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif. Ensuite, un échantillon standard a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 10 µl de solution standard. Enfin, un échantillon à doser a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 10 µl de plasma. Les solutions sont mises en incubation pendant 10 minutes à une température de 37°C, ou elles sont laissées à température ambiante pendant 10 minutes. Ensuite, la lecture de l'absorbance (A) des solutions est effectuée à une longueur d'onde de 505 nm. Le taux de glucose, exprimé en mg/dl, est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Concentration échantillon (mg/dl)} = (\text{A échantillon} / \text{A standard}) \times 100$$

3.2. Dosage de l'Aspartate amino transférase

Principe

Le dosage de l'aspartate amino transférase (AST) est réalisé en utilisant la technique colorimétrique de **MURRAY (A) et KAPLAN et al. (1984)**. L'aspartate amino transférase (AST), également connue sous le nom de transaminase glutamate oxaloacétique (GOT), catalyse le transfert réversible d'un groupe amino de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate, formant ainsi du glutamate et de l'oxaloacétate. L'oxaloacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénase (MDH) et de NADH

La vitesse à laquelle la concentration de NADH est réduite au centre, mesurée par une méthode de détection photo-numérique, est directement proportionnelle à la concentration catalytique d'AST présente dans l'échantillon.

Mode opératoire

Un volume de 1 ml de réactif est mélangé avec 100 µl d'échantillon. Ensuite, les solutions sont incubées à 25°C. On lit l'absorbance (A) initiale, on démarre le chronomètre, et on lit l'absorbance des solutions toutes les minutes pendant 3 minutes, à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux d'AST, exprimé en U/L, est calculé en utilisant l'équation suivante :

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

3.3. Dosage de l'alanine amino transférase

Principe :

Le dosage de l'alanine amino transférase (ALT) est réalisé en utilisant la technique colorimétrique de **MURRAY (B) et KAPLAN et al. (1984)**.

L'alanine amino transférase (ALT), également connue sous le nom de transaminase glutamique pyruvique (GPT), catalyse le transfert réversible d'un groupe amino de l'alanine vers l'alpha-cétoglutarate, formant ainsi du glutamate et du pyruvate. Le pyruvate produit est converti en lactate en présence de la lactate déshydrogénase (LDH) et du NADH, grâce à une réaction de réduction.

La vitesse à laquelle la concentration de NADH est réduite au centre, mesurée par photométrie, est directement proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT présente dans l'échantillon.

Mode opératoire

On ajoute un volume de 1 ml de réactif à 100 µl d'échantillon. Les solutions sont ensuite mélangées et incubées à 25°C. On lit l'absorbance (A) initiale, on démarre le chronomètre, et on lit l'absorbance des solutions toutes les minutes pendant 3 minutes, à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux d'ALT, exprimé en U/L, est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ALT (U/L)} = (\Delta A / \text{min}) \times 1750$$

3.4. Dosage des protéines totales

Principe

Le dosage des protéines totales (PT) est effectué par la technique colorimétrique de **KOLLER (1984) ET BURTIS (1999)**.

En présence de sels de cuivre en milieu alcalin, les protéines développent une coloration violette/bleue. Ces sels de cuivre contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé

Mode opératoire

Pour la préparation des échantillons, nous avons réalisé trois types. Tout d'abord, un échantillon blanc a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif. Ensuite, un échantillon standard a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 25 µl de solution standard. Enfin, un échantillon à tester a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 25 µl de l'échantillon. Les solutions sont incubées pendant 5 minutes à une température de 37°C ou pendant 10 minutes à température ambiante. Ensuite, la lecture est effectuée en utilisant la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540 nm. Le taux de protéines albumine, exprimé en g/l, est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Concentration échantillon (g/l)} = \frac{(\text{A échantillon} - \text{A blanc})}{(\text{A standard} - \text{A blanc})} \times 70$$

3.5. Dosage de l'albumine

Principe

Le dosage de l'albumine est réalisé en utilisant la technique colorimétrique de **RODKEY (1965), DOUMAS (1971), WEBSTER (1974) et GENDLER (1984)**.

En présence d'un pH légèrement acide, l'albumine se lie au vert de bromocrésol, provoquant un changement de couleur de jaune-vert à vert-bleuté. Ce changement de couleur est proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

Mode opératoire

Pour la préparation des échantillons, nous avons réalisé trois types. Tout d'abord, un échantillon blanc a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif. Ensuite, un échantillon standard a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 5 µl de solution standard. Enfin, un échantillon à tester a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 5 µl de l'échantillon.

Les solutions sont incubées pendant 5 minutes à une température de 37°C ou pendant 10 minutes à température ambiante. Ensuite, la lecture est effectuée en utilisant la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 630 nm. Le taux d'albumine est exprimé en g/dl et est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Concentration échantillon (g/l)} = \frac{(\text{A échantillon} - \text{A blanc}) \times 50}{(\text{A standard} - \text{A blanc})}$$

3.6. Dosage de l'urée

Principe :

Le dosage de l'urée est réalisé en utilisant la technique colorimétrique de **KAPLAN (1984)** avec le kit Spinréact.

L'uréase catalyse la décomposition de l'urée (1) présente dans l'échantillon en ammoniacque (NH₄⁺) et en anhydride carbonique (CO₂). Les ions ammoniacques réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium (ClONa) en présence du catalyseur Nitroprussiate, entraînant la formation de l'indophénol vert (2), selon les réactions suivantes :

Uréase

L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration d'urée dans la solution. Dans cette méthode, la concentration de NH₄⁺ est utilisée comme indicateur de la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

Mode opératoire

Pour la préparation des échantillons, nous avons réalisé trois types. Tout d'abord, un échantillon blanc a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif. Ensuite, un échantillon standard a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 10 µl de solution standard. Enfin, un échantillon à tester a été préparé en ajoutant 1,0 ml de réactif et 10 µl de l'échantillon. Les solutions sont incubées

pendant 5 minutes à une température de 37°C ou pendant 10 minutes à température ambiante. Ensuite, 1 ml de la solution de révélation est ajouté. Les solutions sont à nouveau incubées pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante. La lecture est effectuée en utilisant la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 580 nm. Le taux d'urée est exprimé en mg/dl et est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Concentration échantillon (mg/dl)} = \frac{(\text{A échantillon} - \text{A blanc}) \times 50}{(\text{A standard} - \text{A blanc})}$$

3.7. Dosage de la créatinine

Principe :

Le dosage de la créatinine est effectué par la technique colorimétrique de **MARRAY et KAPLAN (1984)**.

Le test de la créatinine repose sur la réaction entre la créatinine et le picrate de sodium, telle que décrite par la méthode de **JAFFE**. La réaction de la créatinine avec le picrate alcalin conduit

à la formation d'un complexe de couleur rouge. Le choix de l'intervalle de temps pour les lectures a été fait de manière à éliminer la plupart des interférences connues associées à la méthode. L'intensité de la couleur formée est directement proportionnelle à la concentration de

créatinine présente dans l'échantillon testé.

Pour la préparation, 1 ml de réactif est ajouté à 100 µl de standard. La solution est ensuite agitée et incubée à une température de 25°C pendant une durée de 30 secondes.

Les solutions sont analysées pour leur absorbance après des intervalles de temps de 30 secondes et 90 secondes, à une longueur d'onde de 492 nm. Les différences sont calculées en soustrayant l'absorbance à 90 secondes (A2) de l'absorbance à 30 secondes (A1), soit $\Delta A = A2 - A1$. Les mêmes étapes sont ensuite répétées avec les échantillons à doser. Le taux de créatinine exprimé en mg/dl est donné par l'équation suivante:

$$\text{Concentration échantillon (mg/dl)} = \frac{(\Delta A \text{ échantillon} - \Delta A \text{ blanc}) \times 2}{(\Delta A \text{ standard} - \Delta A \text{ blanc})}$$

RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Résultats de la spectrophotométrie :

Les résultats de l'évaluation du taux d'absorbance, réalisé par le spectrophotomètre sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

St : standard ; **T** : témoin ; **PT** : protéines totales ;

ALAT et ASAT : DO1 ; DO2 ; DO3= la densité optique à 1, 2, 3 minutes, respectivement ;

Créatinine : DO1, DO2= la densité optique à 30 et 90 secondes, respectivement.

	Glucose	PT	albumine	urée
ST	0,267	0,563	1,03	0,286
1	0,244	0,508	0,859	0,304
2	0,251	0,237	0,88	0,36
3	0,358	0,338	0,967	0,312
4	0,136	0,566	0,938	0,36
5	0,22	0,578	1,057	0,27
6	0,177	0,549	0,936	0,359
7	0,211	0,454	0,924	0,285

ALAT	DO1	DO2	DO3
1	1,53	1,478	1,476
2	1,41	1,431	1,386
3	1,39	1,412	1,394
4	1,271	1,3	1,307
5	1,319	1,332	1,314
6	1,41	1,39	1,419
7	1,389	1,377	1,375

ASAT	DO1	DO2	DO3
1	1,318	1,284	1,261
2	0,826	0,74	0,608
3	1,524	1,454	1,363
4	0,87	0,826	0,778
5	1,75	1,603	1,663
6	1,219	1,195	1,046
7	0,442	1,426	1,298

Créatinine	DO1	DO2
1	0,492	0,562
2	0,455	0,424
3	0,494	0,508
4	0,438	0,526
5	0,396	0,166
6	0,445	0,442
7	0,345	0,38

Acide uréique	
St	0.226
1	0,247
2	0,234
3	0,275
4	0,276
5	0,362
6	0,187
7	0,276

2. Résultats après le calcul :

Lot témoin :

Numéro	Glucose	PT	albumine	urée	Créat (mg/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	Ac. urique (g/l)
1	0,91	63,16	41,70	41,70	1,4	94,5	99,75	65,58
6	0,66	68,26	45,44	45,44	0,06	35	302,75	30,99
7	0,79	56,45	44,85	44,85	0,7	24,5	224	88,56

Lot expérimental :

Numéro	Glucose	PT	albumine	urée	Créat (mg/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	Ac. urique (g/l)
2	0,94	29,47	42,72	42,72	0,62	78,75	381,5	56,84
3	1,34	42,02	46,94	46,94	0,28	31,5	281,75	70,51
4	0,51	70,37	45,53	45,53	1,76	50,75	161	60,22
5	0,82	71,87	51,31	51,31	4,6	8,75	152,25	78,70

3. Analyse statistique :

Lot témoin :

	Glucose	PT	albumine	urée	Créat (mg/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	Ac. urique (g/l)
Moyenne	0.79	62.62	44.00	44.00	0.72	51.33	208.83	61.71
Ecart type	0.08	4.12	1.53	1.53	0.45	28.78	72.72	20.48

Lot expérimental :

	Glucose	PT	albumine	urée	Créat (mg/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	Ac. urique (g/l)
Moyenne	0.93	47.29	45.06	45.06	0.89	53.67	274.75	62.52
Ecart type	0.28	15.39	1.56	1.56	0.58	16.72	75.83	5.33

Selon les normes décrites par Kaeffer 2014, on note comme suivant :

La glycémie est physiologique (0.74-1.15 g/l), sauf pour Hanane (lot témoin : 6) et Labrador (lot expérimental : 4) ;

Les protéines totales dans les normes physiologiques (60-85g/l) sauf pour Impectuosos (lot témoin : 7) et Princesse et Nonocha (2 et 3 du lot expérimental) chez qui on note une hypoprotéïnémie ;

Une hyperalbuminémie associée à une hyperurémie est marquée chez tous les chevaux du lot témoin et expérimental avec un taux supérieur à 36 g/l (28-36g/l) et à 0.40 g/l (0.28-0.40g/l);

La créatinine a marqué une un taux trop faible avec un intervalle de 0.06-4.1 mg/l, par rapport aux normes comprises entre 8-17mg/l ;

L'ALAT est par contre, trop élevée avec des valeurs situées entre 24.5 et 94.5 (2.7-21ù/l) à l'exception de Lkahla (lot expérimental :5) avec 8.75 ;

L'ASAT est dans les normes physiologiques (170-370ù/l) à l'exception de Hamra (témoin : 1), Labrador (expérimental :4) et Lkahla (expérimental : 5) qui ont marqué des valeurs inférieures à 170ù/l ;

Les tableaux ci-dessus indiquent les résultats suivants chez le lot expérimental par rapport au lot témoin :

- Augmentation de la glycémie ;
- Diminution du taux de protéines totales dans le sang ;
- Légère augmentation de l'albuminémie et de l'urémie,
- Augmentation de la créatinémie ;
- Augmentation de l'ALAT et l'ASAT ;
- Augmentation de l'acide urique.

Test de student	0.31	0.25	0.16	0.16	0.20	0.37	0.34	0.38
-----------------	------	------	------	------	------	------	------	------

Les résultats du test de student (test statistique) indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les résultats du lot expérimental obtenus par rapport au lot témoin.

Le test student (t.test) indiquent des valeurs supérieures à 0.05.

La moyenne arithmétique $\bar{X}$ des valeurs individuelles est calculée pour chaque série et pour chaque paramètre, elle est suivie par l'erreur standard à la moyenne « ESM » qui constitue l'intervalle de confiance de celui-ci. La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test « t » de Fischer Student est la valeur de la probabilité « p » avec un risque de 5%.

La différence entre deux moyennes est :

- ✚ Pas significative si « p » > 0,05
- ✚ Peu significative si « p » ≤ 0,05 (*)
- ✚ Significative si « p » ≤ 0,02 (**)
- ✚ Très significative si « p » ≤ 0,01 (***)
- ✚ Hautement significative si « p » ≤ 0,001 (****)

Discussion

Le lactate sanguin (paramètre non mesuré) est normalement un bon paramètre à apprécier pour évaluer la réponse du cheval à l'exercice (**Daskalaki et al, 2015**)

L'accumulation du lactate dans le muscle conduit à la déficience de la glycolyse et de la capacité de la mitochondrie à la respiration (source principale de AST), diminution de la concentration et de disponibilité en ATP et à une tuméfaction du réticulum sarcoplasmique. (**Hodgson, 2014**), (**Valberg, 2014**)

Ces mécanismes ont la base du début de fatigue chez le cheval, c'est pour cette raison que le lactate dans le sang reflétant celui dans le muscle est utilisé comme un marqueur de l'index de performances, il est considéré meilleur marqueur que la consommation en oxygène reflétée par la saturation et la fréquence cardiaque. (**Goodwin et al, 2017**)

Dans le cas de notre étude, la concentration en glucose a été mesurée. Les chevaux utilisent les glucides comme source d'énergie, dont la consommation chez les animaux à l'effort intense produit de l'acide lactique. L'accumulation de ce dernier est à l'origine de la fatigue et de lenteur de la récupération, les chevaux qui consomment des symbiotiques produisent des acides gras à courtes chaînes qui peuvent être utilisées comme source d'énergie (**Glade et Campbell, 1990**), diminuant par ainsi l'utilisation des glucides et se répercutant sur la production du lactate qui diminue (meilleure récupération du cheval) et sur le glucose qui est moins utilisé donc présente de hautes valeurs.

Ces résultats sont appuyés par ceux de Garcia et al, en 2015 qui trouvent que les chevaux recevant des probiotiques digèrent mieux l'hémicellulose

Bull-Otterson et al 2013, Chen et al 2018, De Filippis et al 2016 expliquent la faible détection de l'aspartate amino transférase chez le lot supplémenté après l'exercice comme effet bénéfique du symbiotique sur la préservation des cellules musculaires par le contrôle de la production d'acide lactique et donc de ses conséquences sur la cellule musculaire, (**Bull-Otterson et al, 2013**), (**Chen et al ,2017**), (**De Filippis et al, 2018**). Ceci ne convient pas aux résultats de cette étude. L'aspartate amino transférase est plus faible chez le lot supplémenté.

Les chevaux supplémentés étaient plus actifs. Les dommages musculaires entraînés augmentent normalement la perméabilité membranaire des fibres musculaires. (**Anderson, M.G, 1975**). Ceci ne convient pas aux résultats de notre étude.

L'alanine aminotransférase (ALAT) est une enzyme présente principalement dans le foie, mais également dans d'autres tissus. Elle joue un rôle important dans le métabolisme des protéines et dans la régulation du métabolisme énergétique. Lorsqu'il s'agit d'une analyse d'ALAT chez

le cheval, il est généralement utilisé pour évaluer la fonction hépatique et détecter d'éventuelles lésions ou maladies du foie. En général, si le résultat de l'ALAT est supérieur à la limite supérieure de la valeur de référence, cela peut indiquer une altération de la fonction hépatique. Elle est même plus élevée que la norme chez les chevaux du lot témoin et du lot expérimental avant l'utilisation du produit ; et plus élevée chez le lot supplémenté après son utilisation.

Les performances du cheval, l'intensité et la durée de l'exercice peuvent également affecter l'activité des enzymes. **(Bogdanis, G.C, 2012)**

La créatinine est un métabolite produit naturellement lors du renouvellement des muscles et excrété par les reins. Une élévation du taux de créatinine indique un problème au niveau rénal **(Anael, 2018)**. Dans cette étude, le lot supplémenté présente un taux plus élevé de créatinine. Cependant, cette élévation peut être expliquée par une élévation de l'activité de ces chevaux. En fait, le taux de la créatinine dépend de la synthèse de son précurseur, la créatine, de la masse musculaire et de l'exercice. **(Nogueira et al, 2002)**.

Le taux de protéines totales est plus faible chez le lot supplémenté, tandis que celui de l'albumine est plus élevé. Les principales protéines totales étant l'albumine (responsable du transport des nutriments) et les immunoglobulines (immunité). Ces résultats indiquent ainsi la diminution du taux des immunoglobulines. On peut conclure donc que l'état général du lot supplémenté est meilleur et que le taux des immunoglobulines nécessaire pour leurs organismes est plus faible. Le symbiotique améliore l'immunité de l'animal. **(Meade et al, 2018)**

L'urée est réabsorbée au niveau du tubule rénal. Un taux d'urée plus élevé chez le lot supplémenté peut être dû à une élimination moins accrue de l'urée dans les urines. Cela est dû à une réabsorption tubulaire plus accrue et donc le taux éliminé dans les urines est plus faible.

Cette meilleure utilisation des nutriments au niveau digestif se répercute au niveau général par une diversification des sources d'énergie directement disponible pour le cheval ce qui a pour effet de moins surmener des organes tels le foie et le rein ce qui est reflété par les marqueurs de surmenage ou d'atteintes de ces organes.

Conclusion et recommandations

Dans notre étude, nous avons mis en place une approche pour évaluer l'effet du symbiotique sur la récupération du cheval en impliquant la biochimie sanguine.

A l'issu de cette étude, nous constatons que le symbiotique n'améliore pas la récupération du cheval. D'ailleurs, le lot supplémenté présente des taux moins performants que ceux du lot témoin sauf pour le glucose. Cette dernière ne peut être prise en considération vu que la différence du taux du glucose entre le lot témoin et le lot expérimental reste non significative selon le test de Student.

Par ailleurs, des valeurs non physiologiques sont marquées pour chaque paramètre analysé pour le lot témoin et le lot supplémenté.

De ce fait, la biochimie sanguine n'indique pas d'effet améliorant du symbiotique sur les performances des chevaux de sport.

Pour cela, quelques perspectives sont recommandées pour confirmer son effet sur la biochimie du sang et la récupération du cheval :

- Réaliser l'étude sur un plus grand nombre de chevaux ;
- Etudier d'autres paramètres en plus de ceux déjà évalués dans cette étude comme le lactate qui reflète le mieux l'évolution de la récupération ;
- Analyser les différents paramètres biochimiques reflétant les performances sportives du cheval avant et après l'utilisation du symbiotique afin de pouvoir observer l'évolution de chaque cheval individuellement puis réaliser une analyse comparative entre les deux lots (témoin et expérimental) ;
- Mieux gérer les conditions sanitaires ;

Références bibliographiques

-) **Bull-Otterson L, Feng W, Kirpich I, Wang Y, Qin X, Liu Y, Gobe-jishvili L, Joshi-Barve S, Ayyaz T, Petrosino J, Kong M, Barker D, McClain C, Barve S.** Metagenomic analyses of alcohol induced pathogenic alterations in the intestinal microbiome and the effect of Lactobacillus rhamnosus GG treatment. *PLoS One* 8: e53028, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0053028.
- **Anaël MARZ, 2018** <https://www.equideos.com/blog/bilan-sanguin-chevaux>
- **Anderson, M.G.** (1975) The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. *Equine Vet. J.*, 7: 160-165
- **BOMBA, A., NEMCOVA, R., MUDRONOVA, D., GUBA, P., 2002.** *The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. Trends in Food Science and Technology* 13, 121–126.
- **Braun et al 2017**
- **Burts 1999**
- **Chen CJ, Liao YH, Lin SY, Yu JX, Li ZJ, Lin YC, Chang GJ, Lin CH, Wong AM.** Diet-induced obesity accelerates blood lactate accumulation of rats in response to incremental exercise to maximum. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 313: R601–R607, 2017. doi:10.1152/ajpregu.00337.2016.
- **Daskalaki E, Blackburn G, Kalna G, Zhang T, Anthony N, Watson DG.** A study of the effects of exercise on the urinary metabolome using normalisation to individual metabolic output. *Metabolites* 5: 119–139, 2015. doi:[10.3390/metabo5010119](https://doi.org/10.3390/metabo5010119)
- **De Filippis F, Pellegrini N, Laghi L, Gobbetti M, Ercolini D.** Unusual sub-genus associations of faecal Prevotella and Bacteroides with specific dietary patterns. *Microbiome* 4: 57, 2016. doi:10.1186/s40168-016-0202-1
- **de Rezende AS, Trigo P, Lana ÂM, Santiago JM, Silva VP, Montijano FC.** Yeast as a feed additive for training horses. *Cienc e Agrotecnologia* 36: 2012
- **de Rezende AS, Trigo P, Lana ÂM, Santiago JM, Silva VP, Montijano FC.** Yeast as a feed additive for training horses. *Cienc e Agrotecnologia* 36: 2012.
- **Doumas 1971**
- **FULLER R (1989).** *Probiotics in man and animals. A review. J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378.
- **FULLER R, 1977.** *The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. Br.Poult.Sci.* 18 :85-94.

- **GAGGIA F, MATTARELLIP, BIAVATI B., 2010.** *Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. International journal of food microbiology, 141- S15–S28*
- **Garcia TR, de Rezende AS, Trigo P, Santiago JM, de Almeida FQ, Terra RA, Fonseca MG, Castejón F.** Effects of supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* and aerobic training on physical performance of Mangalarga Marchador mares. *Rev Bras Zootec* 44: 22–26, 2015. doi:10.1590/S1806-92902015000100004
- **Gendler 1984**
- **GIBSON G, PROBERT H.M, LOO J.V, RASTALL R.A, ROBERFROID M.B, 2004.** *Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutrition Research Reviews, 17, 259–275.*
- **GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B., 1995.** *Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition 125, 1401–1412*
- **Glade MJ, Campbell-Taylor M.** Effects of dietary yeast culture supplementation during the conditioning period on equine exercise physiology. *J Equine Vet Sci* 10: 434 –443, 1990. doi:10.1016/S0737-0806(06)80140-1
- **Goodwin ML, Harris JE, Hernández A, Gladden LB.** Blood lactate measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol* 1: 558–569, 2007. doi:[10.1177/193229680700100414](https://doi.org/10.1177/193229680700100414).
- **Goodwin ML, Harris JE, Hernández A, Gladden LB.** *Blood lactate* measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians. *J Diabetes Sci Technol* 1: 558 –569, 2007. doi:10.1177/193229680700100414
- **Hodgson DR.** Evaluation of performance potential. In: *The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine*, edited by **McKeever K, Hodgson DR, McGowan C.** Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2014, p. 361–365. doi:10.1016/B978-0-7216-0075-8.00037-X
- **KLEESON B , SYKURA B, ZUNFT HJ, BLAUT M., 1997.** *Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons . Am J Clin Nutr ; 65 : 1397 -402.*
- **Koller 1984**
- **Meade KG, O’Farrelly C.** *Béta* défensine : farming the microbiome for homeostasis and health. *Front IMMUNOL* 2018; 9 : 3072
- **Murray et Kaplan et al 1984**
- **PARKER R. B (1974).** *Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim. Nutr. Health. 29: 4-8.*
- **Rodker 1965**
- **ROSE A. H. (1987).** *Yeast culture, a microorganism for all species: A theoretical look at its mode of action. In: Biotechnology in the Feed Industry. Edited by LYONS T. P. Alltech Technical Publications: Nicholasville, Kentucky, U.S.A. p 113-118.*

- *Treiber et al 2012*
- *Trinder 1969*
- *Valberg SJ*. Muscle anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: *The Athletic Horse. Principles and Practice of Equine Sports Medicine* (2nd ed.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 2014, p. 174 –201. doi:10.1016/B978-0-7216-0075-8.00021-6
- *Webster 1974*