

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement
Filière : Biologie et Physiologie Animale Comparé
Option : Bio-ressource Animale et Biologie Intégrative



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Paramètre Hématologiques et Biochimiques
durant premier trimestre de la gestation
chez la vache**

Présenté par :

OUAHRANI A/Rahim et BORDJAH Samir

Soutenu le : **13 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M^r. BALLA EH.
M^r. AYAD H.
M^m SAD-EDDINE O.

Président
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciement

Nous tenant a remercie :

Tout d'abord le Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la foi, la force et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Et exprimer nous sincère considérations et remerciements a notre promoteur M^r AYAD H à ses conseil, son aide et son orientation et sa générosité qu'il veille bien agrée no profond et éternelle gratitude ;

Egalement les membres de jury d'accepter M^r BALLA de présider notre travail et M^m SAADDEDINE pour le temps consacre pour l'évaluation de notre mémoire ;

Les vétérinaires d'Amizour M^r Arezki, Samir, Walid, Nordine et Yacine et les Eleveurs qui ont accepté de prélever le sang à leurs vaches de cœur ouverte ;

Zootechnicien et la Vétérinaire de Cheptel de CAZEL et les autres membres de l'Administration et les Travailleurs ;

Chef de service d'hématologie M^{lle} Zineb et M^{lle} Souhila et les autres Dames et demoiselles de Polyclinique Ihaddaden qui nous a accueillir et aider pendant les analyses hématologies ;

M^{lle} KHALED et M^r Alladin et personnelles du Laboratoire Biologie Animale ;

Cher enseignants M^r IGERWADA, M^r AIT MOULOUD et les autres enseignants sans exception du tronc commun et la spécialité ;

Nous cher amis de section Amine, Djamel, Belkacem, et toutes les autres.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail ici présent :

A ma famille, mes parents, mes frères a mes Sœurs et le mariée de ma sœur et sa petite coco Meriem, mes ancles, mon grand père et mère, mes cousin, mes cousines et leur famille ;

A tous mes amis sans exception et les autres dont j'ai le regret de ne pas pouvoir citer les noms ;

A mon binôme et sa famille ; .

*A tous mes collègues de l'université, UFC Bejaia et CFPA
« L.Y. » ;*

Particulièrement ma section de BRBI sans site les noms et sans exception ;

Et à tous ceux de prés ou de loin qui m'accompagné durant toute ma vie.

A/Rahim

DEDICACE

Je dédie mon travail à ;

**La mémoire de ma très chère mère pour ces précieux conseils, et
qui a sacrifié sa jeunesse pour la réussite de nos études et assurer les
bonnes conditions de vie, pour sa patience et son courage.**

Tu seras toujours présent dans nos cœur et Dieu te bénis dans

Son vaste paradis ;

**Mon cher père à qui je dois tout, qui a sacrifié tout pour nous, sa
santé, son temps et sa vie, pour notre réussite,**

Que Dieu vous bénisse, vous apporte santé et vous garde pour

nous ;

Mes frères et mes sœurs, qui ont été toujours à mes cotés

Tous mes amis sans exception

Mon binôme et sa famille

Tous mes amis de la promotion BRBI.

SAMIR.

SOMMAIRE

Sommaire

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE D'ABREVIATIONS

Introduction générale.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

ChapitreI: Physiologie de la gestation2

1-Le développement embryonnaire : 2

1.1 La vie libre de l'œuf : 2

1.2 Implantation : 3

2. Le placenta : 3

2.1 Formation du placenta : 3

3. Contrôle hormonal de la gestation : 5

4. Modifications fonctionnelles : 5

5. Modifications métaboliques : 5

ChapitreII: paramètres hématologiques6

1. La lignée rouge : 6

1.1. Numération globulaire (NG) : 7

1.2. Hématocrite (Ht) : 7

1.3. Taux d'hémoglobine (Hb) : 8

1.4. Indices de Wintrobe (VGM, CCMH, TGMH) 9

2. Thrombocytes ou plaquettes(PLT) : 10

3. La lignée blanche (leucocytes) : 10

SOMMAIRE

3.1. Granulocytes :.....	12
3.2. Monocytes :	14
3.3 Lymphocytes :.....	14
Chapitre III : paramètre biochimiques (stress oxydatif).....	16
1. Les radicaux libres :	16
1.1. Principaux radicaux libres :	16
1.2 Mécanismes et sources de production des radicaux libres :.....	18
1.3 Cibles moléculaires des radicaux libres :	19
2 Les antioxydants :	20
2.1 Définition:.....	20
2.2 Classement des antioxydants :	21

PARTIE EXPERIMENTAL

Chapitre I. Matériels et méthodes	24
1. Animaux :.....	24
2. Echantillon du sang:.....	24
3. Analyse Hématologique :	24
4. Analyse Biochimique :	25
5. Analyse statistique :	26
Chapitre II: Résultat et Discussion	28
1. Hématologie :	28
1.1. Description et comparaison entre les paramètres hématologiques des femelles gestantes au 1er trimestre et non gestantes :	28
1.2 Comparaison entre les paramètres hématologiques des non gestantes et des gestantes durant les trois premiers mois de gestation :	31
2. Biochimique.....	32

SOMMAIRE

2.1. Dosage des Thiobarbituric acide reactive substance (TBARS) 32

2.2. Evaluation du statut antioxydant total.....34

Conclusion

Références bibliographiques

Résumé

LISTE DES FIGURES

Liste des figures :

Figure 1 : Placentation épithélio-choriale de la vache

Figure 2 : représente le compartiment hématopoïèse de cellules sanguines.

Figure 3 : Les globules rouge sanguins

Figure 4 : les cellules de la lignée blanche.

Figure 5 : Productions des radicaux libres oxygénés (ROS) et azotés (RNS) et autres espèces réactives dans les cellules de mammifères (**Fang et al, 2002**).

Figure 6 : Les trois types de la SOD

Figure 7 : appareille d'analyse Hématologique (Hémogramme : SWELAB alfa)

Figure 8 : Spectrophotomètre (BIOTECH ENGINEERING)

Figure 9 : Histogramme représentation des taux de : GR, Hb, TGMH, CCMH durant les trois premiers mois de gestation.

Figure 10: Histogramme représentation des taux de GB, LYM, MID, GRA, pendant les trois premiers mois de gestation.

Figure 11 : Histogramme représente les moyennes d'absorptions de teste TBARS de sérum des vaches non gestantes (vide) et les vache des trois premiers trimestres de la gestation.

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau 1: les types et le milieu de l'enzyme SOD (**Vives-B. et al. 2007**).

Tableau 2: des moyennes et les déviations standards des paramètres hématologiques des femelles gestantes et non gestantes. (Moyenne \pm SD).

Tableau 3 : Classification quantitative des femelles selon : l'âge, le score corporel, le nombre de portés et la race

Le tableau 4 : représentation de la corrélation entre les paramètres hématologiques et les facteurs liés aux vaches gestantes.

LISTE D'ABREVIATION

Liste d'abréviations:

ABTS: 2, 2'- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid diamonium salt

CAT: Catalase

GSH: Glutathione

H₂O₂: Hydrogene peroxide

MDA: Malondialdehyde

NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

ROS: Reactive oxygen species

SOD: Superoxide dismutase

TBA: Thiobarbituric acid

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

TCA: Trichloroacetic acid

O₂^{-*}:super-oxyde

H₂O₂: peroxyde d'hydrogène

***OH :** radical hydroxyle

µl : microlitre

µm : micromètre

µm³ : micromètre cube

ADN : acide désoxyribonucléique

ADP : adénosine diphosphate

ATP : adénosine triphosphate

CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

cm : centimètre

CO₂ : dioxyde de carbone

dl : décilitre

EDTA : acide éthylènediamine tétra-acétique

EPO : érythropoïétine

g : gramme

g/dl : gramme par décilitre

g/l : gramme par litre

h : heure

Hb : hémoglobine

LISTE D'ABREVIATION

Ht : hématocrite

mg : milligramme

ml : millilitre

mm³ : millimètre cube

NFS : numération formule sanguine

NG : numération globulaire

pg : picogramme

TGMH : taux globulaire moyen en hémoglobine

VGM : volume globulaire moyen

CCMH : Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

GR : globule rouge

GB : globule blanc

LYM : lymphocyte

PLT : plaquette

MID : monocyte

AA: aminoacide,

Arg: L-arginine,

BH₄: (6R)-5,6,7,8,-tetrahydro-L-biopterin,

CH₂O: formaldéhyde,

Cit: L-citrulline,

DQ: diquat,

ETS: électron transport system,

FAD: flavinadeninedinucleotide (oxidized),

FADH₂: flavinadeninedinucleotide (reduced),

Gly: glycine, **H₂O₂**: hydrogen peroxide,

HOCl: hypochlorous acid,

H•LOH: hydroxy lipid radical,

IR: ionizing radiation,

L• : lipid radical,

LH : lipid (unsaturated fatty acid),

LO•: lipidalkoxyl radical,

LISTE D'ABREVIATION

LOO•: lipidperoxyl radical,

LOOH: lipidhydroperoxide,

MPO: myeloperoxidase,

NAD⁺ : nicotinamide adeninedinucleotide (oxidized),

NADH: nicotinamide adeninedinucleotide (reduced),

NADP⁺, nicotinamideadeninedinucleotide phosphate (oxidized),

NADPH: nicotinamide adeninedinucleotide phosphate (reduced),

•NO: nitricoxide,

O₂⁻: superoxide anion radical,

•OH: hydroxyl radical, **ONOO⁻**, peroxyxynitrite,

P-450: cytochrome P-45,

PDG: phosphate-dependentglutaminase,

Sar: Sarcosine,

SOD: superoxidedismutase,

Vit C: vitamin C,

Vit E: vitamin E (α -tocopherol).

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

Une série de modification physiologique, après la fusion des deux gamètes, se déclenche chez la vache gestante afin d'assurance le maintien du zygote et son développement. Les trois premier mois de gestation représente une période cruciale et délicate dans le développement embryonnaire chez la vache un nombre importante de réactions lors du développement embryonnaire tel que le facteur d'activation plaquettaire avec une action vasodilatatrice locale sont observés durant cette période (**Derivaux, 1980**). Ces modifications au cours de la gestation sont sous la dépendance des espèces réactives oxygénées, cependant l'excès de ce dernières pourrait être à l'origine du stress oxydatif qui peut altérer le bon développement embryonnaire (**Mercan, 2010**).

Des paramètres hématologiques et biochimiques sont pris comme étant des indicateurs afin de ce prononcé sur le bon déroulement de la gestation. L'indice sanguin devient de plus en plus important en médecine vétérinaire comme un indicateurs du stress oxydatif, de l'état physiologique, nutritionnel, métabolique, et l'état clinique des animaux de ferme (**Mirzadeh et al., 2010**). Par conséquent, les valeurs de référence hématologique tels que globule rouge, hémoglobine, leucocyte deviennent impératif pour le diagnostic de certaines maladies, programme de prévention et de contrôle (**Zvorc et al., 2006; Iriadam, 2007**).

Le présent travail a pour objectif d'établir des valeurs référentielles hématologiques et biochimiques pendant le premier trimestre de la gestation chez la vache et la corrélation entre les paramètres hématologiques et certains facteurs tels que l'âge de la femelle, le score corporel et le nombre de porté de l'animal.

Introduction :

La gestation est un phénomène physiologique lié à la reproduction chez les femelles des animaux vivipares. C'est une période pendant laquelle la progéniture se développe à l'intérieur au niveau de l'utérus de la mère, débutant avec la nidation de l'œuf et elle se termine par la parturition. (**Lanarres. 1870**).

1-Le développement embryonnaire

1.1.1. La vie libre de l'œuf

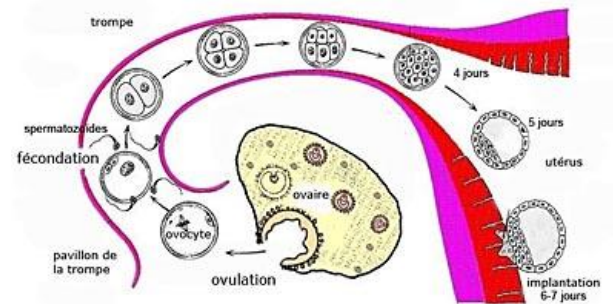
La fécondation a lieu dans l'ampoule de l'oviducte environ 20h après l'ovulation et se caractérise par la fusion des gamètes mâle (spermatozoïde) et femelle (ovocyte). L'ovocyte bloqué en métaphase II lors de l'ovulation, reprend sa division cellulaire. (**Jean-Baptiste B. 2012**)

Une fois la fécondation réalisée, l'œuf formé entreprend ses divisions. La première division a lieu vers la 8^{ème} heure après la fécondation (**Bencharif et al. 2003**). Vingt-quatre heures après la fécondation, l'œuf se divise quatre fois, sans modification de taille, aboutissant à la formation d'une morula (32 cellules).

Sept à huit jours après la fécondation, la taille de la morula n'a pas augmenté, elle migre le long de

l'oviducte et atteint l'utérus. La morula se creuse d'une cavité blastocoelique. C'est la formation du blastocyste. Celui-ci est sphérique avec une cavité centrale, le blastocœle, complètement entouré par une assise cellulaire appelée trophoctoderme ou trophoblaste et par un petit groupe de cellules situé sous le trophoctoderme, le disque embryonnaire.

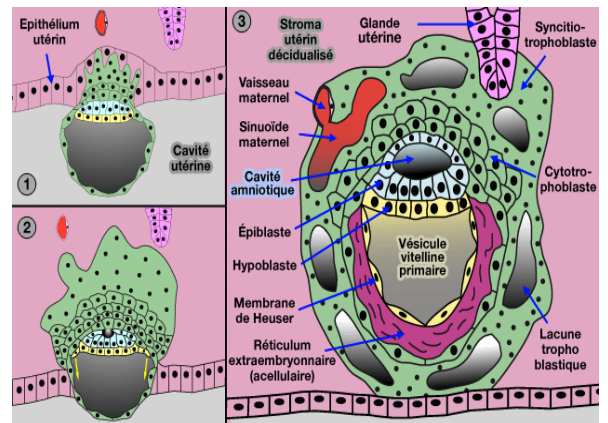
Neuf à dix jours après la fécondation, la zone pellucide s'amincit jusqu'à provoquer sa rupture, c'est l'éclosion. Le blastocyste entre dans une période de croissance considérable. Cette élongation favorise l'établissement des premiers contacts cellulaires entre le trophoblaste et l'épithélium utérin, ce qui empêche la sécrétion du facteur lutéolytique. De 150µm avant éclosion, le conceptus bovin mesure 15 à 20 mm au terme de cette phase d'élongation (**Constant, et al. 2006**). La longueur de la vésicule embryonnaire présente toutefois des variations interindividuelles importantes, elle mesure entre 7 et 24 mm au 16^e jour de gestation, alors que son diamètre est constant. (**Jean-Baptiste B. 2012**).



1.2. Implantation

Après la phase de vie libre dans la corne utérine, le blastocyste se fixe sur l'endomètre et s'y implante plus ou moins profondément selon les espèces animales. En général, l'implantation se déroule selon une succession d'étapes caractérisées par des degrés divers de contact entre le tissu maternel et fœtal, soit : l'orientation du blastocyste et l'accolement, l'apposition du blastocyste éclos à la muqueuse utérine, l'adhérence des cellules du trophoblaste aux cellules de la muqueuse utérine et l'invasion de l'endomètre (**Guillomot, 2001**).

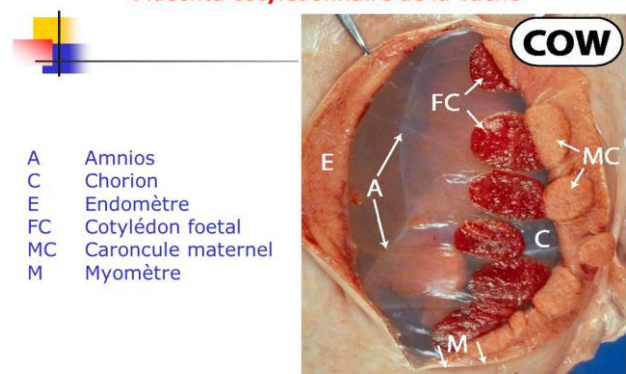
Au début du processus d'implantation, en fonction de l'espèce, les microvillosités cellulaires vont établir les premiers contacts avec l'épithélium maternel, soit à partir des 19^e - 20^e jours de gestation chez la vache. L'étape d'adhérence des membranes représente la phase ultime du processus implantatoire conduisant à déférente type de placenta en fonction du degré de pénétration dans l'épaisseur de la paroi utérine. (**Guillomot, 2001**).



2. Le placenta :

Le placenta (cette figure) est un organe d'échange entre la mère et le fœtus qui assure la respiration, la nutrition du fœtus, ainsi que sa protection contre les bactéries et les substances toxiques. Il présente également une activité endocrine indispensable à l'initiation et au maintien de la gestation ainsi qu'à la croissance fœtale.

Placenta cotylédonnaire de la vache



2.1. Formation du placenta

La placentation épithélio-choriale, de type cotylédonnaire, avec 6 couches cellulaires séparant le sang maternel du sang fœtal se met en place progressivement par apposition et /ou fusion de cellules épithéliales de l'endomètre et du trophoblaste figure 1. Chez la vache, le trophoblaste n'envahit pas la muqueuse utérine. (**Jean-Baptiste B. 2012**)

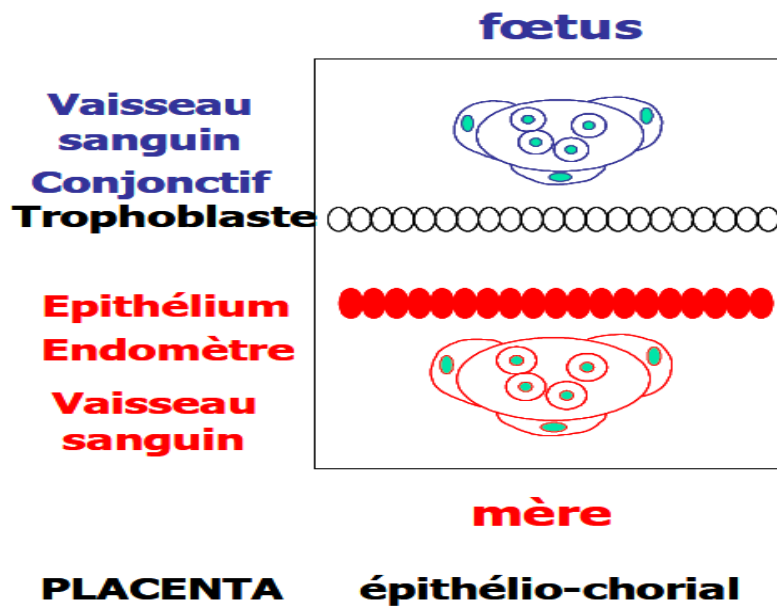


Figure 1 : Placentation épithélio-choriale de la vache

Vers le 19^e jour, les premiers contacts cellulaires sont d'abord observés dans la zone proche de l'embryon, puis ils s'étendent le long du sac chorionique et vers l'extrémité des cornes utérines.

Au cours de l'apposition, la membrane plasmique du trophoblaste est encore apposée de manière lâche sur les cellules utérines. Pendant cette phase, des proliférations villosités du chorion s'enfoncent dans les orifices des glandes utérines. C'est la formation d'un premier placenta, diffus, absorbant le contenu des sécrétions glandulaires qui vise à disparaître à la fin du processus implantatoire à J25.

L'apposition laisse place à l'adhésion qui est assurée par l'interdigitation des microvillosités des cellules épithéliales utérines et de la membrane plasmique des cellules trophoblastiques (**Constant, et al.2006**).

Puis à partir de J30, l'enveloppe la plus externe du conceptus, le chorion, présente sur sa surface externe des microvillosités cotylédonaire qui s'engrènent dans les formations spécialisées de la muqueuse utérine : les caroncules utérines. L'association d'un cotylédon et d'une caroncule forme un placentome, véritable surface d'attache utéroplacentaire. Chez la vache, ils sont en nombre important, de 60 à 120 lors de gestation simple. Les espaces intercotylédonaire lisses forment le paraplacenta. L'ensemble des éléments, placentome et paraplacenta, concourent à former le placenta dans son entièreté.

3. Contrôle hormonal de la gestation :

Pendant la gestation, l'unité foeto-placentaire produisent diverses hormones et protéines : progestérone, œstrogènes, cortisol, prostaglandines, prolactine, gonadotropine chorionique, hormone lactogène placentaire et une série d'autres hormones et facteurs de croissance. Parmi ces molécules, se retrouvent les protéines et glycoprotéines impliquées dans l'établissement de la gestation, le maintien du corps jaune, le métabolisme intermédiaire maternel, la croissance fœtale et mammaire et enfin l'immunotolérance du *conceptus*.

4. Modifications fonctionnelles :

L'état de gestation entraîne d'importantes modifications fonctionnelles au niveau de l'organisme maternel :

Les fonctions les plus concernées sont la respiration, la consommation d'oxygène par le fœtus entraîne une hypoxie avec comme résultat une hyperventilation due essentiellement à une augmentation de la fréquence respiratoire et une irrigation plus importante au niveau de l'utérus et des mamelles et par conséquent le rythme cardiaque est en hausse.

Les modifications pair rénales sont le résultat d'une hyperactivité de la glande surrénale par une augmentation de la diurèse, une tendance à rétention hydrique, sodée et glycosurie, et également une hyperactivité des glandes thyroïdes, surrénales et adénohypophyses. (**Lanarres et al. 1870**)

5. Modifications métaboliques

L'état de gestation entraîne des modifications au niveau du métabolisme qui se traduisent surtout par une augmentation de l'anabolisme.

La stimulation de l'anabolisme protidique entraîne un bilan azoté positif; l'anabolisme des lipides et des glucides est aussi augmenté.

Cet anabolisme sert à la croissance du fœtus au dernier tiers (7^e mois) de gestation vu que 75% du poids à la naissance est acquis au dernier tiers de gestation (**Lanarres et al, 1870**).

Introduction :

Le sang est une suspension de cellules contenues dans un liquide : le plasma. Celui-ci est constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum. La réalisation d'un hémogramme est un examen simple, peu coûteux, standardisé et automatique.

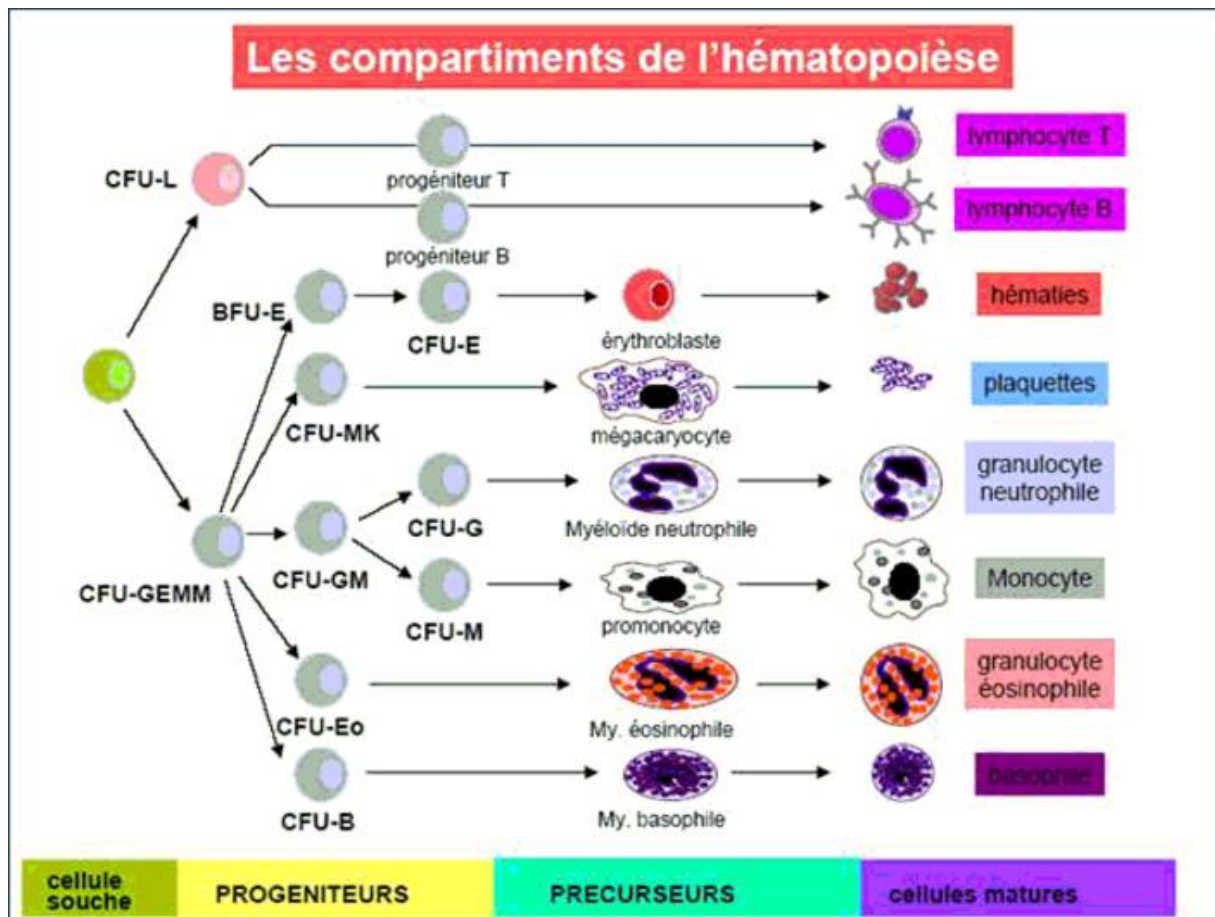


Figure 2 : représente le compartiment hématopoïèse de cellules sanguines.

1. La lignée rouge :

Les érythrocytes de bovins sont des cellules discoïdes anucléées biconcaves de 5 à 6 μm de diamètre, et ont une durée de vie longue par rapport aux autres mammifères de 130 jours (**Kramer, 2000**). La première fonction de l'érythrocyte est le transport de l'hémoglobine ; qui apporte l'oxygène aux tissus (**Thrall, 2004**).

L'érythropoïèse est l'ensemble des processus qui aboutissent à la libération des globules rouges dans la circulation. Elle débute très tôt chez l'embryon puisque les premières cellules sanguines apparaissent déjà dans les îlots des parois de la vésicule ombilicale. Ce sont des cellules d'origine mésenchymateuses, dont l'activité débute chez les bovins vers le 28ème

jour jusqu'à la 10^{ème} semaine. Le relais est pris par le foie entre le 60^{ème} et le 140^{ème} jour. A partir du milieu de la gestation, l'érythropoïèse devient progressivement splénique. Cependant, dès le 100^{ème} jour de gestation commence la localisation médullaire, qui deviendra le site exclusif de la production d'hématies après la naissance, sauf dans des conditions pathologiques par exemple d'aplasie ou d'hypoplasie médullaire, où la rate et le foie retrouvent leur potentiel hématopoïétique. La moelle osseuse hématopoïétique est localisée dans le tissu spongieux des os plats, des vertèbres et l'épiphyse des os longs. (Issenman 2003 ; Fontaine 1996).

L'érythrocyte normal de bovin est caractérisé par une anisocytose physiologique (diversité de taille des érythrocytes), surtout lors de premières semaines de la vie (kramer, 2000). On peut retrouver normal des érythrocytes immatures, en circulation dès les premiers jours de la vie du veau. En revanche, un bovin adulte ne présente pas de réticulocytes en circulation (Francoz *et al.* 2003).



Figure 3 : Les globules rouge sanguins

1.1. Numération globulaire (NG) :

Le nombre moyen d'hématies chez le veau est de 6 à 10 millions par mm³, mais les données sont très variables d'un auteur à l'autre car il existe de grandes variations entre individus.

Au cours des 2 à 3 premières semaines qui suivent la naissance, on assiste à une activité croissante de l'érythropoïèse de la moelle osseuse, alors que les globules rouges sont détruits en masse. Au cours des semaines et des mois suivants, la nouvelle formation des érythrocytes est limitée par un approvisionnement insuffisant en fer surtout lors

d'alimentation uniquement lactée (anémie ferriprive fréquente). Malgré cela, le nombre de globules rouges par mm³ de sang est souvent un peu plus élevé chez les veaux et les jeunes bovins que chez les adultes (**Issenmann 2003**).

La numération globulaire est le nombre d'hématies présentes dans le sang par unité de volume. Elle diminue pendant les 24 premières heures après la naissance : cette diminution initiale du nombre d'hématies est attribuée à une hémodilution après la prise de colostrum (**Tennant et al., 1974**). De plus, (**Adams et al. 1992**) remarquent que le nombre d'hématies, le taux d'hémoglobine et l'hématocrite sont plus bas à la naissance, à 24 et 48 heures pour les veaux nés avec assistance que pour les veaux nés sans assistance (**Issenmann, 2003**).

Chez l'adulte la valeur moyenne est de 7 millions par mm³. La numération globulaire diminue jusqu'à l'âge de 5-6 ans puis reste constante. De façon physiologique, la numération érythrocytaire est un peu plus élevée chez la femelle gestante ou chez les individus séjournant de façon prolongée en altitude (adaptation à l'hypoxie).

1.2.Hématocrite (Ht) :

L'hématocrite est le pourcentage en volume occupé par la population érythrocytaire dans le sang. Il varie selon le degré de dilution du sang et la numération érythrocytaire. Il est de 25-50 % chez les bovins.

A la naissance, il suit les mêmes variations que la numération globulaire. En général, l'hématocrite est très élevé à la naissance, chute ensuite brutalement pour remonter vers les valeurs adultes et rediminuer ensuite lentement avec l'âge.

La détermination de l'hématocrite est une épreuve de détection par excellence. L'hématocrite, associé au dosage des protéines totales, est la seule épreuve capable de différencier et de détecter une anémie, une polycythémie, une hémococoncentration et une hémodilution, L'hématocrite diminue lors d'anémie ou d'hémodilution et augmente par contre dans le cas de déshydratation. (**Francoz et al. 2003**).

1.3.Taux d'hémoglobine (Hb) :

C'est la masse d'hémoglobine présente dans le sang par unité de volume exprimé en g/100ml.

Les veaux ont une teneur en hémoglobine sanguine plus élevée que les bovins adultes (jusqu'à 14 ou 15 g/100mL parfois).

Le taux d'hémoglobine est directement lié à la quantité d'oxygène transporté dans l'organisme. L'anémie se définit comme une diminution de la quantité d'hémoglobine contenue dans le volume sanguin, le volume plasmatique n'ayant pas changé. L'anémie par carence en fer est fréquente chez les jeunes dont l'alimentation est strictement lactée. Plusieurs situations sont à considérer selon le type d'alimentation (allaitement naturel ou lactoremplacé) et de production (veau de boucherie ou d'élevage). Lors d'allaitement naturel, les apports en fer sont faibles et très variables 200 à 1000 µg/kg de lait, soit 1,5 à 7,6 ppm/MS chez les bovins. Il n'exister pas de relation entre le fer alimentaire de la mère et les teneurs en fer du lait.

A la naissance, le jeune dispose de réserves hépatiques constituées pendant la gestation, sûrement par phagocytose des globules rouges maternels, permettant ainsi un transfert placentaire. Les quantités de fer ainsi stockées sont très variables d'un individu à l'autre et moins importantes que chez l'adulte. L'anémie se développe quand les stocks hépatiques sont épuisés et lors de croissance rapide, les apports ne permettant pas alors de couvrir les besoins.

Compte tenu de ces éléments, on conçoit que l'âge d'apparition de l'anémie est variable, mais se situe fréquemment aux alentours d'un mois après la naissance (**Issenmann, 2003**). Des défauts de transfert materno-fœtal pourraient être à l'origine d'anémie congénitale (**Tennant et al. 1975**).

La numération des globules rouges et le dosage de l'hémoglobine n'ont d'utilité qu'au travers des indices de Wintrobe (VGM, CCMH, TGMH). Puisque dans une même espèce, pour diverses raisons, le volume moyen du globule rouge peut varier, la numération de ceux-ci ne convient pas pour la détection d'une anémie comme l'hématocrite.

1.4.Indices de Wintrobe (VGM, CCMH, TGMH)

➤ *Volume Globulaire Moyen (VGM)*

Le VGM est un index qui exprime le volume moyen d'une hématie.

Il se mesure en µm³ et se calcule en effectuant le rapport de l'hématocrite (= Ht exprimé en Pourcentage et multiplié par 10) à la numération globulaire (= NG exprimée en millions par mm³). $VGM = (Ht \times 10) / NG$

La valeur moyenne chez l'adulte est comprise entre 40 à 60 µm³ (**Jain, 1993**). Le VGM est de 48,5 (± 4,5) µm³ à la naissance, il diminue progressivement pendant les deux premiers mois, puis, après 6 mois, il augmente progressivement jusqu'à 2 ans pour atteindre la

valeur adulte. (Tennant *et al.* 1974). Le VGM diffère de manière importante selon la durée de gestation de l'animal. En effet, les veaux prématurés ont un VGM augmenté.

➤ **Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH) :**

La CCMH exprime la concentration moyenne de l'hémoglobine dans les globules rouges. Elle est obtenue en g/100mL en effectuant le rapport du taux d'hémoglobine (= Hb exprimé en g/100 ml et multiplié par 100) à l'hématocrite (exprimé en pourcentage). $CCMH = (Hb \times 100) / Ht$

La valeur moyenne chez l'adulte bovin est comprise entre 30 à 36 g/100mL (Jain, 1993). L'hémoglobine étant présente à l'état normal en solution pratiquement saturée dans le globule rouge, il ne peut y avoir d'élévation significative de la CCMH au dessus de la valeur normale.

La CCMH est très constante (Fontaine, 1996).

➤ **Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine (TGMH) :**

C'est la quantité d'hémoglobine présente en moyenne dans un globule rouge. Elle est obtenue en picogrammes en effectuant le rapport du taux d'hémoglobine (exprimé en grammes pour 100 ml et multiplié par 10) à la numération globulaire (exprimée en millions par mm³). $TGMH = (Hb \times 10) / NG$

La valeur moyenne chez l'adulte bovin est comprise entre 11 et 17 pg (Jain, 1993). La TGMH présente des variations corrélées à celles du VGM.

2. Thrombocytes ou plaquettes (PLT) :

Les plaquettes sanguines sont les plus petits éléments figurés du sang. Ce sont des fragments cellulaires anucléés qui ont un rôle essentiel dans l'hémostase et dans certains phénomènes inflammatoires. La numération plaquettaire chez les bovins est comprise entre 100 000 et 800 000 / mm³ (500 000/ mm³ en moyenne), (Jain, 1993).

3. La lignée blanche (leucocytes) :

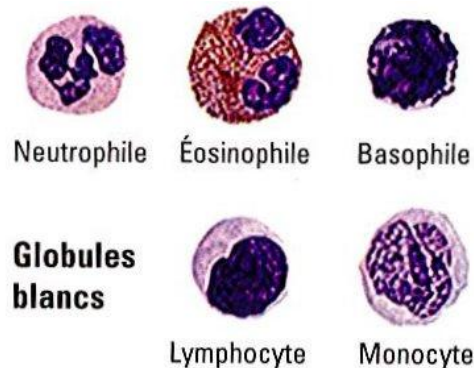


Figure 4 : les cellules de la lignée blanche.

Les cellules du système immunitaire peuvent être divisées en deux groupes : un groupe à action spécifique et un autre à action non spécifique, bien que ceux-ci soient complètement associés *in vivo*. La partie non spécifique comprend les cellules phagocytaires dont les granulocytes neutrophiles, les granulocytes basophiles et les granulocytes éosinophiles. La partie spécifique fait appel à l'activité des lymphocytes B et T dépendants de l'antigène (Issenmann, 2003).

La numération leucocytaire est effectuée à partir d'un échantillon de sang recueilli sur anticoagulant, dilué et hémolysé. Elle peut être réalisée manuellement, au microscope, à l'aide d'une cellule de Malasez, ou automatiquement à l'aide d'un compte globule. Elle fournit un nombre total de leucocytes par unité de volume. Elle s'exprime généralement en nombre de cellules par mm^3 (ou μl).

La formule leucocytaire est la répartition en pourcentage des différents types de leucocytes : granulocytes (neutrophiles, éosinophiles, basophiles), monocytes et lymphocytes. Elle est obtenue par comptage au microscope, sur un frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grünwald et Giemsa, à partir de 100 ou 200 cellules. Certains appareils en hématologie humaine effectuent automatiquement la formule leucocytaire, ces appareils nécessitent un paramétrage pour les analyses vétérinaires (Fontaine, 1996).

On en déduit la numération de chaque type leucocytaire en multipliant la numération leucocytaire totale par le pourcentage correspondant obtenu dans la formule et en divisant le résultat par 100.

3.1. Granulocytes :

➤ *Granulocytes neutrophiles (ou polynucléaires neutrophiles) :*

Les granulocytes neutrophiles sont des leucocytes caractérisés par de nombreuses granulations cytoplasmiques riches en substances antimicrobiennes, notamment antibactériennes, et par un noyau plurilobé.

Leur rôle principal est la phagocytose et la digestion de particules étrangères, surtout bactériennes. Ils apparaissent dans toute zone d'inflammation d'origine infectieuse ou non.

Ils sont attirés par des facteurs chimiotactiques provenant du système complément (un groupe de 35 protéines connues du sérum, faisant partie de l'immunité innée. 12 de ces protéines sont directement impliquées dans les mécanismes d'élimination des pathogènes, les autres régulent finement l'activité des premières afin d'éviter une réaction auto-immune. (**Gundélie et al.** 1998.). Ils ont donc un rôle essentiel dans la réponse immunitaire locale non-spécifique.

Le sang constitue pour les granulocytes un milieu de transit entre le lieu de production (la moelle osseuse) et le lieu d'action (les tissus). La population granulocytaire est rapidement renouvelée dans les tissus et le temps pendant lequel les granulocytes restent dans la circulation est très faible. En effet, la demi-vie d'un granulocyte neutrophile est de 10 à 12 heures.

Les granulocytes sanguins se distribuent au secteur circulant, où ils peuvent être dénombrés, et en un secteur marginal c'est-à-dire fixés à la paroi des vaisseaux, avant la migration tissulaire par diapédèse. La valeur normale est comprise entre 600 et 4000 / μl est de 2000 / μl chez un bovin adulte. (**Jain 1993**)

A l'état normal, les granulocytes neutrophiles présents dans l'appareil circulatoire se répartissent en deux groupes quantitativement comparables et en échanges permanents : les cellules libres circulantes et les cellules marginées, accolées à l'endothélium vasculaire. Seules les premières sont prélevées lors d'une prise de sang effectuée dans de bonnes conditions.

Un stress (cas de contention brutale), ou un effort physique intense remettent en circulation les cellules marginales ; on peut ainsi observer sur l'héмограмme un doublement apparent de la population granulocytaire neutrophile.

Une augmentation du nombre de granulocytes neutrophiles est qualifiée de neutrophilie. Elle est observée dans le cas de maladies infectieuses notamment bactériennes. Une forte

Neutrophilie est observée lors d'infection suppurée. Une diminution du nombre de granulocytes neutrophiles est qualifiée de neutropénie. Elle est observée dans le cas de lésions médullaires graves d'origine virale, tumorale ou toxique.

➤ ***Granulocytes éosinophiles :***

Les granulocytes éosinophiles sont identifiables par de grosses granulations éosinophiles orangées, riches en peroxydase, en enzymes lytiques diverses et en protéine basique majeure.

Après leur formation dans la moelle osseuse, ils ne séjournent dans le sang que quelques heures (6 à 8 heures). Leur durée de vie est de quelques jours seulement. Leur bref passage dans le sang explique les valeurs extrêmement variables de leur numération. Les éosinophiles peuvent phagocyter. Ils sont attirés dans les tissus par les substances éosinotactiles.

Le granulocyte éosinophile est particulièrement impliqué dans la destruction des parasites, la destruction des complexes immuns, notamment ceux mettant en jeu des IgE, et la modulation des réactions inflammatoires qui pourraient s'avérer nocives pour l'organisme. La valeur moyenne est de 700 / μl (entre 0 et 2400 / μl) (**Jain, 1993**).

Une augmentation du nombre de granulocytes éosinophiles est qualifiée d'éosinophilie. Elle est observée dans le cas d'une hypersensibilité de type I et d'infestations parasitaires tissulaires. Une diminution est qualifiée d'éosinopénie et est observée en cas d'hypercorticisme surrénalien ou de traitement par les glucocorticoïdes.

➤ ***Granulocytes basophiles :***

Les granulocytes basophiles contiennent également de nombreuses granulations, dont la composition est voisine de celle du mastocyte : histamine, leucotriène. Ils sont très peu nombreux dans le sang. Plusieurs processus immunitaires peuvent intervenir dans la libération de l'histamine et des substances vaso-actives :

- Réaction allergique de type I réaction d'un anticorps cytophile IgE fixé sur la cellule basophile avec un antigène.
- Réaction allergique de type III : réactions antigène-anticorps capables de fixer le complément et ainsi de libérer des anaphylotoxines qui dégranulent les basophiles. La valeur moyenne est de 50 / μl (entre 0 et 200 / μl) (**Jain, 1993**).

Il n'y a pas de variation du nombre de granulocytes basophiles en dehors de quelques affections tumorales.

3.2. Monocytes :

Les monocytes ne représentent que 2 à 3 % des leucocytes circulants. Ils sont inclus dans le grand ensemble des phagocytes mononucléés et admettent une cellule souche médullaire commune avec les polynucléaires neutrophiles. Après un court séjour dans la moelle osseuse (absence de maturation et faibles réserves), leur distribution sanguine se répartit en un secteur marginal et un secteur circulant à demi-vie brève de quelques heures. Après leur passage irréversible dans les tissus, ils se transforment en macrophages. L'essentiel de leurs fonctions s'exprime alors et ils sont capables de survivre plusieurs mois. Parmi leurs nombreuses fonctions, les plus importantes sont la défense contre certains micro-organismes (bactéries, virus), la phagocytose de cellules ou de débris cellulaires, la participation au processus de cicatrisation et la sécrétion de nombreuses molécules biologiquement actives (enzymes protéolytiques, interférons, interleukine I, prostaglandines...). (**Jongh, 1993**).

3.3 Lymphocytes :

Les lymphocytes sont des cellules qui réagissent de manière spécifique face à l'antigène. Les cellules lymphoïdes appartiennent à une même lignée cellulaire originaire des tissus hématopoïétiques. Elles effectuent des migrations dans l'organisme en empruntant les voies sanguines et lymphatiques et disséminent dans les tissus conjonctifs et dans de nombreux tissus spécialisés tel que les organes lymphoïdes. Au cours de ces étapes, les cellules se multiplient et acquièrent progressivement une différenciation morphologique et fonctionnelle.

On définit deux types de lymphocytes : les lymphocytes B et les lymphocytes T. Les lymphocytes B sont à l'origine de la réponse immunitaire à médiation humorale ; ils produisent les anticorps. Les lymphocytes T sont responsables de la réponse immunitaire à médiation cellulaire et jouent un rôle important dans la régulation de l'immunité par l'intermédiaire des nombreuses interleukines qu'ils produisent.

Au sein des leucocytes, les lymphocytes forment la population cellulaire majoritaire. Le comptage lymphocytaire augmente progressivement jusqu'à l'âge de 3 mois pour représenter 60 à 80% du comptage total des leucocytes. Puis, après quelques années, la population Lymphocytaire diminue progressivement (**Francoz et al. 2003**). La valeur moyenne est de 4500 lymphocytes / μ l (entre 2500 et 7500/ μ l).

Une augmentation de la population lymphocytaire est qualifiée de lymphocytose. On peut l'observer en phase tardive, résolutoire de maladies infectieuses notamment virales, de façon inconstante en période post vaccinale chez le jeune et chez les bovins infectés par le

virus leucémogène (BLV), sous forme d'une lymphocytose persistante (**Crespeau, 2001**) avec un taux de lymphocytes B pouvant aller jusqu'à 97% de la population lymphocytaire alors qu'ils ne constituent habituellement que 20% de cette population (**Smith, 1996**).

1. Définition:

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydant », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la physiologie fonctionnelle et dans la plupart des pathologies. **(Favier (2003))**.

Le stress oxydatif est un déséquilibre dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydants, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydants **(Sorg (2004))**.

Ces radicaux libres sont des molécules très réactives contenant un ou plusieurs électrons non paire dans leur orbitales. Il s'agit des ions oxygène, hydroxyde et de l'eau oxygénée qui sont libérés lors des réactions biochimiques. Avant d'être neutralisés ils provoquent des lésions sur tous les éléments qu'ils côtoient **(Boss (2002))**. Ils retrouveront leur stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est d'engendré des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acide nucléiques **(Tremellen (2008))**.

La production des radicaux libres fait, sans aucun doute, partie intégrante des processus physiologiques de la vie des êtres vivants **(Del Valle (2011))**. L'organisme sait cependant se défendre contre eux, grâce aux enzymes anti-oxydantes contenues dans ces cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action anti-radicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium **(Boss (2002))**.

2. Les radicaux libres :

2.1.Principaux radicaux libres :

Le stress oxydant est provoqué par les radicaux libres qui sont eux générés par des molécules à base d'oxygène et d'azote, ces molécules sont très instables et hautement réactives avec les diverses molécules de l'organisme suite à la perte de leurs électrons.

Ces molécules donneuses deviennent à leur tour instable et sont converties en espèces radicalaires **(Chauhan et al, 2006)**.

Les radicaux libres les plus fréquemment cités sont: l'anion super-oxyde, le peroxyde d'hydrogène, et le radical hydroxyle.

- **L'anion super-oxyde ($O_2^{\cdot-}$)** : Est issu de la réduction univalente de l'oxygène moléculaire. Il est considéré comme relativement peu toxique à cause de sa courte durée de vie (milliseconde) et de son faible pouvoir oxydant.
- **Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)** : Est généré lors de la dismutation spontanée ou enzymatique d' $O_2^{\cdot-}$. Il est plus toxique dû à sa stabilité et sa puissance oxydative.
- **Le radical hydroxyl ($\cdot OH$)** : Quant à lui, est formé lors de la réduction de H_2O_2 en présence d'ion ferreux (Fe^{2+}) (**réaction de Fenton**) ou par la réaction $H_2O_2 + O_2^{\cdot-}$ en présence d'ions ferriques (Fe^{3+}) (**réaction d'Haber-Weiss**).

Equation 1: $O_2 \rightarrow O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2 \rightarrow \cdot OH$ (le $O_2^{\cdot-}$ et le H_2O_2 donnent $\cdot OH$).

2.2. Mécanismes et sources de production des radicaux libres :

La production des radicaux libres peut être d'origine endogène : pendant le métabolisme normal, principalement lors des réactions de détoxications médiées par le cytochrome P-450, au niveau de la chaîne mitochondriale de transport d'électron, ainsi que par les activités de la NADPH oxydase et de la xanthine oxydase. Les radicaux libres peuvent également avoir une origine exogène tels que les radiations, les métaux toxiques, les fumées de combustion, les médicaments, etc. (Young & Woodside (2001)).

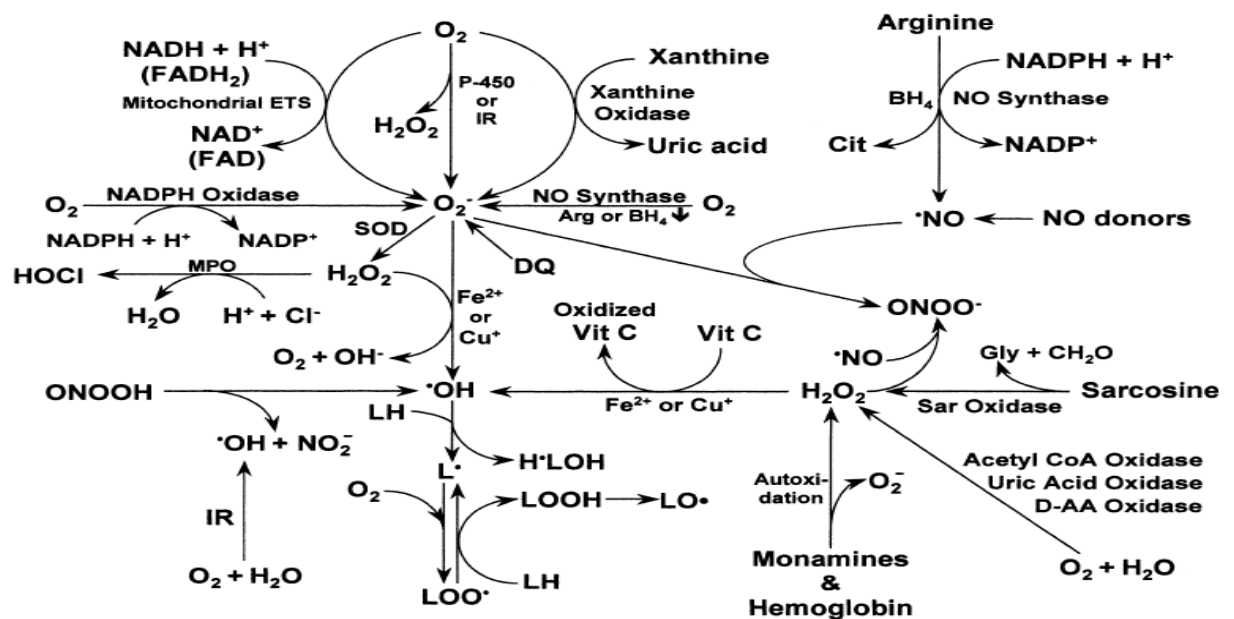


Figure 5 : Productions des radicaux libres oxygénés (ROS) et azotés (RNS) et autres espèces réactives dans les cellules de mammifères (Fang *et al*, 2002).

2.2.1. Sources de production exogènes (Young et Woodside (2001) :

- Rayonnement électromagnétique (radioactivité, radiations ionisantes, lumière ultraviolette : UVA et UVB).
- Métaux toxiques : Cadmium, plomb, mercure.
- Fumées de combustion (cigarette, bois, matériaux de construction), oxyde de carbone.
- Produits chimiques (intervention du cytochrome P450) : antiseptiques, médicaments, pesticides.
- Solvants (benzène), détergents, trichloréthylène.
- Poussières (d'amiante, de silice).
- Alcool.

2.2.2. Sources de production endogènes :

La chaîne mitochondriale de transport d'électrons, la NADPH oxydase et la xanthine oxydase sont les principales sources de la production d'oxydants dans l'organisme (**Protti et Singer (2007)**).

➤ Chaîne mitochondriale de transport d'électrons :

La réduction de l'O₂ moléculaire par la chaîne mitochondriale de transport d'électrons est nécessaire à la production de l'énergie biologique, quatre complexes mitochondriaux (I-IV) sont impliqués (**Beckman et Ames (1998) ; Kevin et al, 2005**). Cependant la réduction reste incomplète; 1% à 4% d'oxygène fuit la chaîne de transport d'électrons sous la forme d'O₂^{•-}. Ce dernier est produit au niveau du complexe I et du complexe III, et la majeure partie de l'O₂^{•-} est converti par le super-oxyde dismutase à manganèse (Mn-SOD) dans la matrice mitochondriale en H₂O₂ qui diffuse facilement à travers les membranes mitochondriales. Le reste quitte la mitochondrie via les canaux anioniques de la membrane mitochondriale et est rapidement converti en H₂O₂ dans le cytoplasme, soit spontanément, soit par le super-oxyde dismutase à cuivre (Cu-SOD). Le H₂O₂ est réduit en H₂O et en O₂ par la catalase et la glutathion peroxydase. Par ailleurs, le H₂O₂ réagit avec les métaux de transition particulièrement Fe²⁺ (réaction de Fenton) pour former le radical hydroxyle (OH[•]) (**Kevin et al, 2005**).

➤ *Cellules immunitaires :*

Les macrophages et neutrophiles activées, peuvent produire de grandes quantités d' O_2^- et de ses dérivés via les iso-formes de la NADPH oxydase phagocytaire. La production massive des ROS antimicrobiennes et anti-tumorales dans un environnement inflammatoire joue un rôle important de première ligne de défense contre les agents pathogènes (**Wulf, 2002**). La stimulation des neutrophiles et des macrophages génère également l'oxygène singulet par des réactions qui impliquent la NADPH oxydase (**Steinbeck et al. 1993**).

➤ *Xanthine oxydase :*

La production des radicaux libres par la xanthine oxydase est considérée comme la principale source du stress oxydant dans certaines conditions pathologiques telles que l'ischémie (**Wulf, 2002**). La xanthine oxydoréductase (XOR) est largement distribuée dans l'organisme surtout au niveau de la partie apicale de la membrane des cellules mammaires et des cellules épithéliales intestinales. Cette enzyme est impliquée dans le métabolisme des purines.

2.3.Cibles moléculaires des radicaux libres :

Les radicaux libres endommagent les organites cellulaires, en particulier les mitochondries. Les dommages oxydatifs et le dysfonctionnement mitochondriale associé peut conduire à l'épuisement de l'énergie, l'accumulation de médiateurs cytotoxiques et la mort cellulaire. (**Lee et al., 2012**).

2.4.Dommages causés par les radicaux libres

➤ *Dommages oxydatifs aux lipides :*

Les lipides membranaires sont la première cible des radicaux libres lors du phénomène de la peroxydation lipidique (**Flourie et al. 2006**), et plus particulièrement les acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables (**Kœchlin-Ramonatxo, 2006**). La peroxydation des lipides est généralement initiée par le radical hydroxyle, l'oxygène singulet et le peroxonitrique).

➤ **Dommages oxydatifs aux protéines :**

Lorsque des radicaux libres réagissent avec des protéines saines, plus précisément avec le groupement radical (chaîne latérale) des acides aminés, il en résulte la formation de groupement carbonyles. Le dosage plasmatique des protéines carbonylées est actuellement le marqueur d'oxydation avancée des protéines le plus utilisé, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, pour mesurer les dommages oxydatifs effectués aux protéines (**DalleDonne et al. ,2006**) (**Chevion et al. 2000**).

➤ **Dommages oxydatifs à l'ADN :**

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène (**Cadet et al, 2002**) dont ces espèces réactives constituent la plus importante source endogène de dommages à l'ADN. Elles peuvent lui induire de nombreuses modifications covalentes telles que des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures de brins, des pontages (*cross-links*) inter et intra brin et des pontages protéine-ADN (**Wang2002**).

➤ **Dommages oxydatifs aux glucides :**

Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, H_2O_2 et $OH\cdot$, lesquels entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhyde, formant un dérivé AGE (**Ogino et Wang, 2007**). Ce phénomène de glycos oxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

3. Les antioxydants

3.1.Définition:

Les antioxydants sont généralement de petites molécules pouvant récupérer les radicaux libres le plus souvent, en donnant ou en recevant un électron, ; ils sont pour la plupart des réducteurs (**Sies, 1997**). On les divise en deux grandes classes: les antioxydants endogènes et antioxydants exogènes.

3.2. Classement des antioxydants :

3.2.1. Les antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme (**Baba & McGrath, 2008**) et ils sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les radicaux libres (**Chavan et Melinkeri, 2013**). On en compte trois principales :

- Le super-oxyde
- La catalase ;
- Et la glutathion peroxydase.

Toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie et elles jouent un rôle très important dans le maintien de la santé. (**Baba & McGrath, 2008**).

Le super-oxyde dismutase (SOD) : l'enzyme responsable de la dismutation de l'ion super-oxyde.

C'est l'enzyme la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif (**Buldak et al. 2014**), elle catalyse la dismutation de l'O₂⁻ en H₂O₂. Il existe trois types de cette enzyme.

Tableau 1: les types et le milieu de l'enzyme SOD (Vives-B. et al. 2007).

Types de l'enzyme SOD	Milieus de chaque enzyme
1) le Cu Zn-SOD (SOD 1)	•Dimère contenant du cuivre cuivre et du zinc dans le cytoplasme.
2) Mn-SOD (SOD2)	•Tétramère contenant du manganèse et se situant dans la mitochondrie.
3) EC-SOD (SOD3)	•Tétramère, contenant du cuivre et du zinc et il est extracellulaire.

➤ *La catalase (CAT) :*

Un tétramère composé de quatre chaînes de polypeptides, se retrouve dans la presque totalité des organismes aérobies (**Chelikani, Fita et Loewen, 2004**). Son rôle principal est de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (**Luck, 1954**).

➤ *La glutathion réductase :*

C'est l'antioxydant endogène principal du corps humain; son rôle est de catalyser la réduction du H₂O₂ en eau et la réduction des hydro-péroxydes organiques (ROOH) en alcools (Rodrigo, 2011).

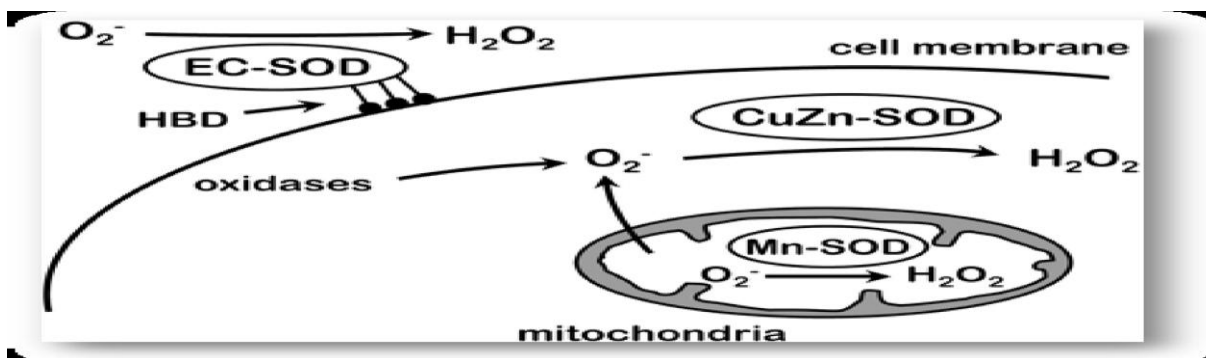


Figure 6 : Les trois types de la SOD

3.2.2. Les antioxydants exogènes :

Les antioxydants exogènes, se retrouvent à l'intérieur comme à l'extérieur de la cellule ainsi que sur la membrane cellulaire (Spiteller, 2007) et contrairement aux antioxydants endogènes, la plupart des antioxydants exogènes non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons :

➤ *La vitamine E :*

Il a été le plus étudié car il possède la plus grande biodisponibilité, ainsi qu'une capacité d'absorption et de métabolisation par le corps. Il protège les membranes de l'oxydation par réaction avec les radicaux lipidiques produits dans la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique (Kumar et al. 2007).

➤ *Vitamine C : Acide ascorbique :*

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant majeur et excellent donneur d'électrons, l'anion acrobate piège les radicaux libres (SAMTJNI et al, 1983). La forme énediol est régénérée par l'intervention d'enzyme super-oxyde dismutase en présence d'une catalase. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E (Boss, 2002).

➤ *Les caroténoïdes :*

Parmi les photo-protecteurs actifs, le β -carotène dans les caroténoïdes apparaît comme un piègeur efficace (**Boss, 2002**). Elles interagissent à l'aide de la vitamine A avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (AGPI). (**RYTER SF & TYRRELL, 2000**).

Chapitre I. Matériels et méthodes

1. Animaux :

Les visites des exploitations bovines ont été effectuées dans la région d'Amizour et au niveau de la station CAZEL de Souk El-tenin. Le cheptel étudié constitue de femelles de plusieurs races de différentes âges (entre 18 mois et 120 mois) et scores corporels (BCS) des femelles a été calculé par la méthode décrite par **Edmonson et al, (1989)**. L'étude a été réalisée entre le mois de Février et Mai 2016.

2. Echantillon du sang:

Au cours de cette étude, 91 prélèvements de sang ont été effectués au niveau d'un vaisseau coccygien et au niveau de la veine jugulaire dans deux tubes contenant de l'EDTA (04ml). Un tube de sang est directement centrifugé (2500rpm pendant 15 min) et le plasma est reparté dans les Ependorffs conservés à température -4°C pour les dosages biochimiques (laboratoire de Biologie Animale, Université A. Mira Bejaia). Le deuxième tube de sang complet est destiné à l'analyse hématologique (Laboratoire d'analyse médicales Polyclinique Ihedaden Bejaia).

Ces échantillons ont été répartis en deux lots :

Lot 1 : 21 femelles non gestantes non inséminées.

Lot 2 : 70 femelles inséminées dont 50 femelles gestantes confirmées ultérieurement par échographie (35 à 40 jours post IA) ou par palpation transrectale (≥ 60 jours post IA).

Ces 50 prélèvements concernés par notre étude sont répartis en catégories 1^{er}, 2^e, 3^e mois de gestation (n=14, n=21 et n=15 respectivement).

3. Analyse Hématologique :

L'analyse hématologique a été réalisée à l'aide d'un Hémogramme (Hémogramme SWELAB alfa). Les paramètres calculés dans notre étude sont suivants :

Globules blancs, Globules rouges, Plaquettes, Hémoglobine, Hématocrites, lymphocytes, Monocytes, Granulocytes. Indices de Wintrobe: Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH), Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine (TGMH).



Figure 7 : appareille d'analyse Hématologique (Hémogramme : SWELAB alfa)

4. Analyse Biochimique :

➤ Dosage des Thiobarbituric acide réactive substance (TBARS)

L'évaluation de la peroxydation lipidique par la détermination des TBARS formés dans le plasma sanguin a été réalisée selon la méthode décrite par **Sivonova et al. (2004)**.

Chaque tube de plasma dilué de 1ml est déprotéinisée par l'ajout de 0,5ml de TCA (30%), puis incubée à 0 °C pendant 120 min, suivie d'une centrifugation (1400 rpm pendant 15 min à 4 °C). 1ml du surnageant pipeté, à l'aide d'une micropipette (1ml), a été ajouté dans 0,25ml de TBA à 1% (dissous dans 0,05mol/l de NaOH) et 0,075ml d'EDTA (0,1mol/l) puis chauffé à 95 °C dans un bain maré pendant 15min suivi d'un refroidissement.

L'absorbance du produit coloré (TBARS) a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre à une longue d'onde de 535 nm (Biotech Engineering).



Figure 8 : Spectrophotomètre (BIOTECH ENGINEERING)

➤ **Evaluation du statut antioxydant total :**

Ce test permet de renseigner sur l'état oxydatif global du plasma sanguin. Le statut antioxydant total a été mesuré en utilisant le test de décoloration du radical libre ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid diamonium salt (**Miller *et al.* 1993; Re *et al.*, 1999**)).

L'ABTS est solubilisé dans l'eau distillée à une concentration de 7 mM. Le radical cation (ABTS^{o+}) est produit en faisant réagir la solution d'ABTS avec du persulfate de potassium à une concentration finale de 2,45 mM. Le mélange a été laissé au repos, à l'obscurité et à température ambiante pendant 12-16h avant l'utilisation.

Dans la présente étude, la solution ABTS^{o+} a été diluée avec du tampon phosphate, pH 7,4 à une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm. Après addition de 1ml de la solution ABTS^{o+} à 10 μ l de chaque hémolysât ou Trolox (concentration finale 1-6 mM), la lecture a été prise 6 minutes exactement après le mélange initial.

5. Analyse statistique :

Les résultats obtenus sont traités par Statview. Les valeurs sont exprimées par la moyenne \pm Ecarte type. Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été utilisée pour étudier les différences significatives entre les groupes de femelle gestantes et non gestantes .le

MATERIELS ET METHODES PARTIE EXPERIMENTALE

calcul de corrélation entre les valeurs de différents paramètres et les facteurs tel que l'âge et le score corporel a été également utilisé dans cette étude.

Résultat et Discussion :

Dans cette partie nous allons exposer l'ensemble des résultats obtenu dans le cadre de notre travail. L'objectif que nous nous sommes fixée est d'explorer les paramètres hématologiques et biochimiques durant le premier trimestre de gestation chez la vache. Nous avons commencés par les résultats de l'analyse hématologiques où nous avons comparés les paramètres hématologiques des femelles non gestantes et celles des gestantes, ils seront suivis par la comparaison entre les paramètres des trois premiers mois de gestation. En suite, on termine par les résultats des tests biochimiques (ABTS, TBARS) qui est l'évaluation du statut oxydatif des deux lots de femelles gestantes et non gestantes.

1. Hématologie :**1.1. Description et comparaison entre les paramètres hématologiques des femelles gestantes au 1^{er} trimestre et femelles non gestantes :**

Tableau 2: des moyennes et les déviations standards des paramètres hématologiques des femelles gestantes et non gestantes. (Moyenne \pm SD).

Paramètres	gestantes	non gestantes
GB ($10^9/l$)	7,533 \pm 1,539	7,044 \pm 1,27
GR ($10^{12}/l$)	4,835 \pm 0,384	5,44 \pm 0,466
Hb (g/dl)	8,231 \pm 1,021	8,778 \pm 0,65
PLT ($10^9/l$)	160,231 \pm 118,527	193 \pm 83,99
Ht (%)	22,262 \pm 3,029	23,711 \pm 3,241

Les valeurs de globule blancs chez les femelles gestantes ($7,533 \pm 1,539 \times 10^9/l$) sont haute que celles des non gestantes ($7,044 \pm 1,27 \times 10^9/l$). Quant aux reste des paramètres à savoir : globule rouge ($4,835 ; 5,44 \times 10^{12}/l$) hémoglobines (8.14 ; 8.32 pg/l), hématocrites (22,262 ; 23,711 %) et les plaquettes ($160,23 ; 193 \times 10^9/l$) par les valeurs obtenues sont basses chez les femelles gestantes que le femelles non gestantes. (Tableau I) A noter aucune différence significative n'a été enregistré entre les deux lots de femelles gestantes et femelles non gestantes ($P \geq 0,05$).

Les valeurs d'hémoglobines diminuent pendant la gestation, non seulement en raison de la mobilisation de l'hémoglobine de la mère dans la circulation fœtale, mais aussi en raison de la dilution du sang qui se produit comme une conséquence de l'augmentation du volume plasmatique. Nos résultats sont concordance avec celles obtenus par **Singh et al, (1991)**. Dans une autre étude, les auteurs ont pu démontrés que l'hémoglobine diminue de façon significative pendant la première moitié de la période de gestation, avec les valeurs les plus faibles du deuxième mois (**Calvo et al, 1989**). De même résultat trouvé par le taux hémoglobines, hématocrites, érythrocyte et VGM ont significativement diminué au cours de la gestation chez le buffle (**Kumar et al, 2001 ; Roy et al, 2010**).

Conner (1967) supposerait que le stade de la gestation n'a pas d'effet notable sur le taux des globules blancs, hématocrites et hémoglobines, ceci a été confirmé par différentes équipes de recherches (**Ayoub.et al. 2003 ; Abgelghadir et al. 1984 et Nyang'ao et al. 1997**) au niveau des globules blancs, hématocrites et hémoglobines chez les chamelles.

Par contre l'étude de montre que les femelles gestantes du buffle en période de lactation et sèches avaient des érythrocytes, Hémoglobines et hématocrites plus élevé par rapport aux buffles vides (**Patil et al. 1992**). **Mbassa et Poulsen (1991)** ont également enregistré un TEC supérieur chez les femelles gestantes et en période de lactation que les femelles allaitantes non gestantes, et cela pourrait être dû à l'adaptation maternelle à la gestation afin de répondre aux exigences de la croissance du fœtus. Récemment, **Patel et al, (2016)** ont rapporté que les valeurs d'hémoglobine et d'hématocrite étaient plus élevée pendant la gestation chez les Buffalo, et elles pourraient être corrélée avec un TEC. Autres résultat ont été publié que le taux d'hématocrite pourrait indiquer une augmentation du nombre de globules rouges circulants (**Kopp et Hetesa, 2000 ; Chineke.et al, 2006**).

Notre étude montre une augmentation des globules blancs cela est en accord avec plusieurs travaux (**Ayoub et al, 2003 ; Abdel ghadir et al, 1984 ; Ngaw's ao et al, 1997**), qui a trouvé que le nombre des leucocytes chez les chamelles gestantes est plus élever que les chamelles non gestantes. Selon **Ullrey et al (1965)**, le pourcentage des neutrophiles (granulocyte) augmente pendant la gestation de 60% du nombre total de leucocytes et diminue ensuite à 45% au 14^e jour de lactation. De même, **Kramer (2000)** a signalé une plus grande mobilisation des neutrophiles dans la circulation résultant en une augmentation du nombre total des globules blancs.

Par contre les résultats de **Mehul et al (2015)** étaient en contradiction avec les précédentes études, expliquant que la gestation et la lactation n'ont pas d'influence sur le TLC (nombre totale leucocyte),

La diminution des plaquettes sanguines dans notre expérimentation est en concordance avec les résultats ultérieurs (**Merzadeh et al, 2010**).

Tableau 3 : Classification quantitative des femelles selon : l'âge, le score corporel, le nombre de portés et la race :

Age	Score corporel	Nombre de porter	Race
Age ≤ 2 ans= 6	BCS ≤ 2 = 16	Nullipare=5	Normandie=1
2ans < Age ≤ 4 ans=18	2<BCS ≤ 3 = 25	unipare =15	Pie noir= 38
Age> 4ans=27	BCS>3=10	pluripart =31	Pie rouge=12

Le tableau 4 : représentation de la corrélation entre les paramètres hématologiques et les facteurs liés aux vaches gestantes :

Fact/paramètre	GB	GR	PLT	HGB	HMT	GRA	MID	LYM
Age	-0.089	-0.40	0.143	-0.77	-0.154	0.33	0.193	-0.322
Score corporel	0.031	0.0142	-0.117	0.166	0.18	0.15	0.90	-0.064
Nombre de portés	-0.081	-0.023	0.13	-0.054	-0.13	0.35	0.23	-0.33

Le tableau 4 récapitule les corrélations entre les facteurs tels que l'âge, le score corporel et nombre de porté et les différents paramètres hématologiques chez le bovin pendant le premier trimestre de gestation. Ces résultats montre clairement que les globules blancs, les globules rouges, le taux d'hémoglobines, hématocrites et lymphocytes diminuent avec l'âge et avec le nombre de portés, contrairement aux taux des plaquettes, monocytes, granulocytes. En revanche, une corrélation positive a été enregistrée entre le score corporel et les paramètres hématologiques, excepte les plaquettes et lymphocytes.

La majorité des recherches indiquent que les paramètres hématologiques augmentent pendant la gestation tel que **Patel et al. (2016)** ; **Kopp et Hetesa (2000)** ; **Chineke.et al.**

(2006). A l'exception des plaquettes. Cela n'est pas confirmé par nos résultats, pourrait être expliqué par l'âge avancé des femelles et le nombre de portés (tableau 03).

Quant aux plaquettes, les valeurs sont en accord avec les études ultérieures. Cependant, il n'y a pas de différence significative. Beaucoup de paramètres hématologiques sont influencés par de nombreux facteurs comme la race, l'âge, le sexe, les variations saisonnières, l'allaitement, la grossesse, la santé et l'état nutritionnel (Aengwanich (2002); Al-Shami (2007); Mohammed et al, 2007).

1.2 Comparaison entre les paramètres hématologiques des non gestantes et des gestantes durant les trois premiers mois de gestation :

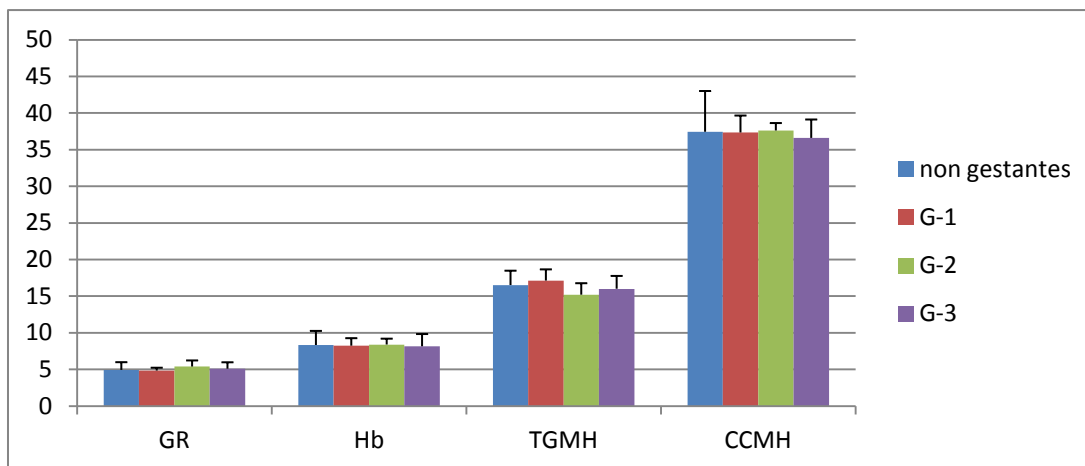


Figure 9 : Histogramme représentation des taux de : GR, Hb, TGMH, CCMH durant les trois premiers mois de gestation.

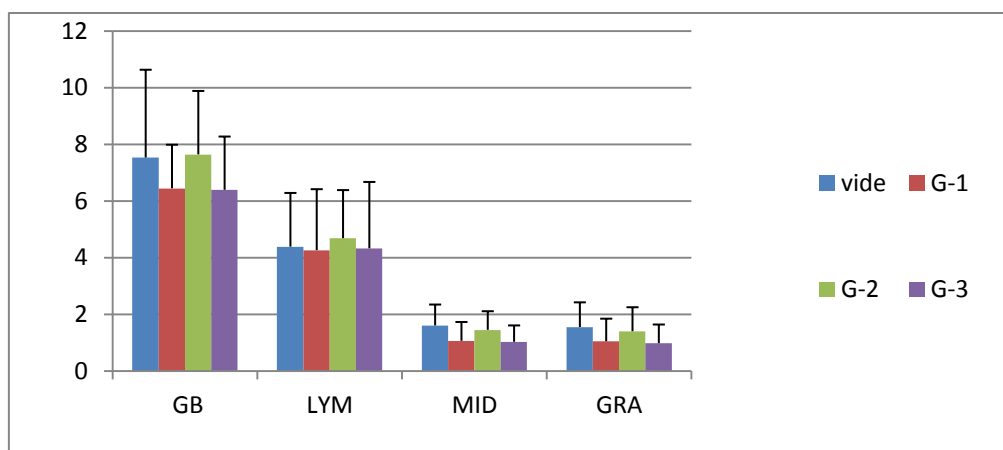


Figure 10: Histogramme représentation des taux de GB, LYM, MID, GRA, pendant les trois premiers mois de gestation.

Figure 9: montre que les valeurs des paramètres hématologiques (GR, Hb et CCMH) aucune déférence pendant le premier trimestre de la gestation chez le bovin sauf dans le taux de TGMH diminution dans le 2^e mois par rapport au autres. A signaler qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes de femelles, ceci pourrait être du à nombre réduit de femelles.

Figure 10 : montre que les valeurs des paramètres hématologiques (GB, LYM, MID et GRA) augmentent de façon continue pendant le premier trimestre de la gestation chez le bovin. A signaler qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes de femelles, ceci pourrait être du à nombre réduit de femelles.

II/ Paramètre biochimique (stress oxydatif) :

Le stress oxydatif est un débalancement entre les pro-oxydants et les antioxydants, entraînant des dommages oxydatifs .Le stress oxydatif entraîne l'oxydation membranes lipidiques (peroxydation lipidique) et de protéines ainsi que l'oxydation de l'ADN, provoquant ultimement la -mort cellulaire (**Myatt et al, 2004**). Le stress oxydatif est connu pour induire des protéines de stress comme l'hème oxygénase (HO-1) et la protéine de choc thermique 70 (**Baibridge et al, 2005**). La peroxydation lipidique se produit par exemple lorsque un radical hydroxyle attaque un lipide insaturé membranaire pour former un radical peroxyde pour ensuite produire un· hydro-peroxyde de lipide (**Toescu et al, 2002**).

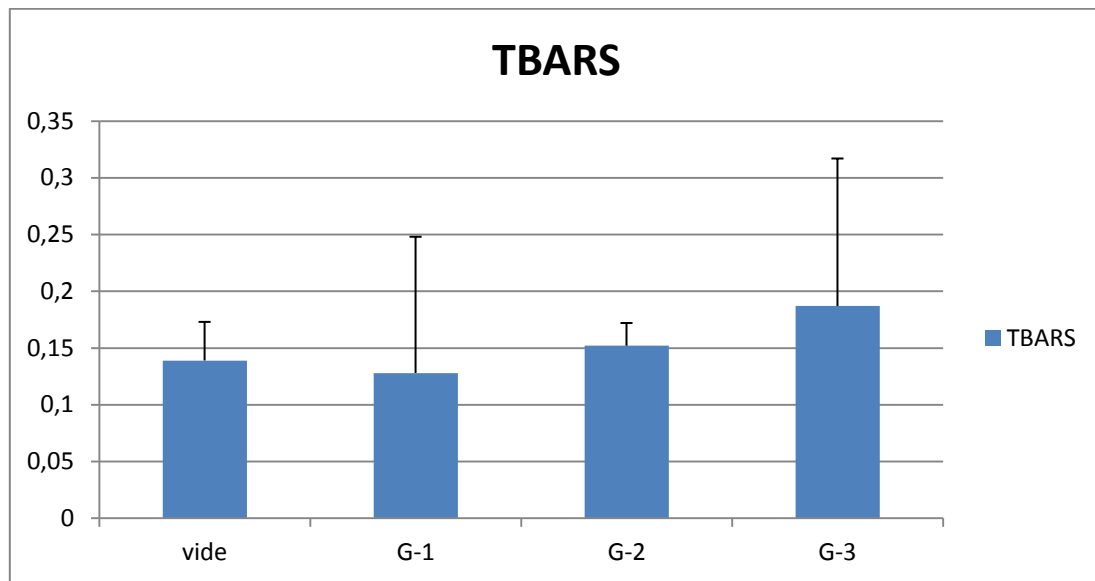
II.1. Dosage des Thiobarbituric acide reactive substance (TBARS) :

Figure 11 : Histogramme représente les moyennes d'absorptions de teste TBARS de sérum des vaches non gestantes (vide) et les vache des trois premiers trimestres de la gestation.

Chez les femelles non gestante l'absorption du teste TBARS était 0.014. Nous remarquons que les moyennes d'absorption augmentent considérablement durant le premier trimestre de la gestation. **Turk et al, (2008)** ont démontré que le taux de MDA augmente dès le début de premier trimestre de la gestation et de façon continue jusqu'à l'accouchement.

des travaux de recherches ont démontré que les MDA, les mesures du stress oxydatif induit par les ROS, est trouvée produite par le placenta humain pendant grossesse normale ou compliquée (**Walsh & Wang, (1993) ; Poranen et al, 1996**).

Adiga et al, (2009) a démontré que le taux des MDA élevés au cours du premier trimestre de la gestation et plus élevés pendant le 2^e trimestre de la gestation chez la femme. En 2013, **Saikumar et al,** ont conclu que la gestation non compliquée est associée à une augmentation du stress oxydatif et la peroxydation lipidique.

On justifiant le taux des MDA et peroxydation lipidique chez les femelles non gestante plus élevé que les femelles gestante durant le premier trimestre de la gestation, ceci pourrait être expliqué par les conditions d'élevages les femelles gestantes sont plus entretenues et l'état physiologique des femelles.

2.2. Evaluation du statut antioxydant total

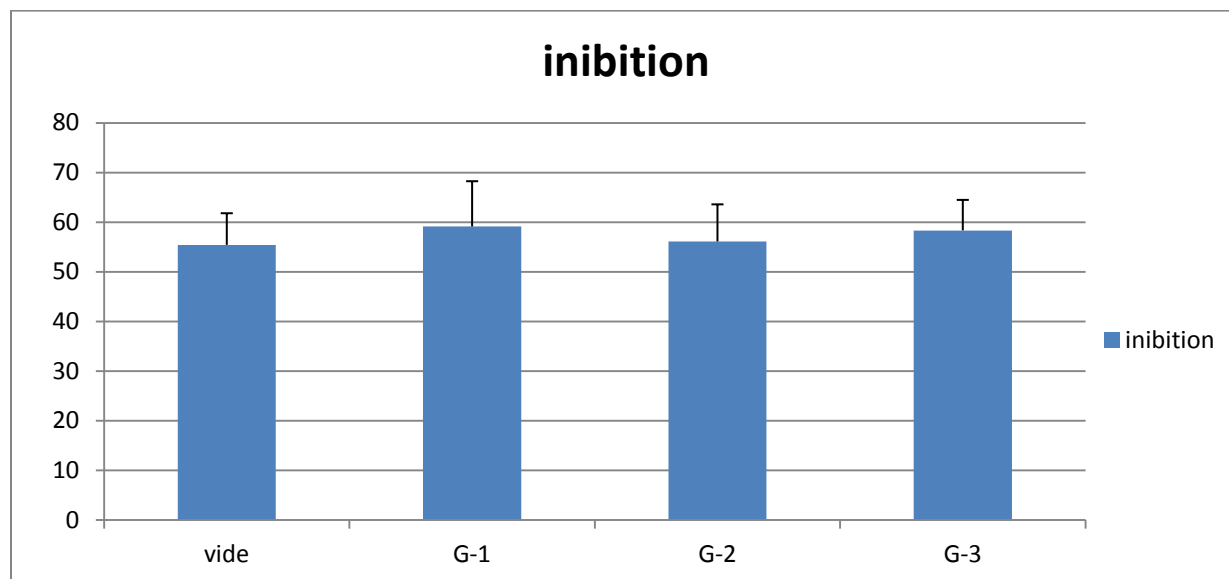


Figure 9 : Histogramme représente les moyennes des pourcentages d'inhibitions des vaches non gestantes (vide) et les trois premiers mois de gestation.

L'histogramme montre le taux d'inhibition de teste ABTS élever chez les vache gestantes de 1^{er} trimestre que les vache non gestantes. Chez les vache gestantes de premier mois est plus élever que les autres deuxièmes mois et le troisième mois est plus élever que le deuxième mois.

Sudesh et al, (2016) à commenter dans le journal : La grossesse est associée à une augmentation du stress oxydatif et exagération des dommages oxydatifs est considéré comme important des complications de la grossesse chez la chienne. **(Saikumar et al, 2013)** ont concluent que la grossesse non compliquée est associée à une augmentation du stress oxydatif comme montré par le sérum des niveaux accrus des MDA que des progrès.

CONCLUSION

Conclusion :

Les paramètres hématologies, tels que les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes, varient pendant le trimestre de gestation chez la vache. Nos résultats montrent clairement que les globules blancs, les globules rouges, le taux d'hémoglobines, hémocrites et lymphocytes diminuent avec l'âge et avec le nombre de portés, contrairement aux taux des plaquettes, monocytes, granulocytes. En revanche, une corrélation positive a été enregistrée entre le score corporel et les paramètres hématologiques, excepte les plaquettes et lymphocytes. Quant aux paramètres du stress oxydatif, nous constatons que les valeurs augmentent considérablement durant le premier trimestre de la gestation chez la vache.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Référence Bibliographique :

- **Abdel Gadir, S, E, A.G. A. Wahbi and O. F. Idris.** (1984). Some blood and plasma constituents of camels In: proceedings of the camelid, an all purpose animal. Scandinavian institute of African Studies, Sweden, PP. 438-443.
- **Adams R, Garry FB, Aldridge BM, Holland MD, Odde KG.** (1992). Hematologic values in newborn beef calves. American Journal of Veterinary Research, **53**, 944-950.
- **Adiga U, Adiga MNS** (2009), Total antioxidant activity in normal pregnancy. On line J Health Allied Scs, 8(2).
- **Aengwanich, W,** (2002). Effect of age on hematological values and blood profile of Holstein Friesian crossbred in Northeastern Thailand. Suranaree J. Sci. Technol., 9: 289-292.
- **Al-Shami, S.A.,** (2007). Comparative study of hematological and blood biochemical components in milk-fed and conventionally-reared hassawi breed calves. Sci. J. King Faisal Univ. Basic Applied Sci., 8: 99-106.
- **Ayoub M. A., El-Khouly A. A. and Mohamed T.M.** (2003). Some hematological and biochemical parameter and steroid hormone levels in the one –humped camel during different physiological conditions Veterinary laboratory, Al Ain, United Arab Emirate. Emir. J. Agric. Sci. 15(1):44-55.
- **Baba L & McGrath IM.,** (2008). Oxygen free radicals: effects in the newborn period. Adv Neonatal Care 8, 256-264.
- **Bainbridge .SA and GN.Smith** (2005). HO in pregnancy. free Radic Biol Med, 38(8):p979-88
- **Beckman, K.; Ames, B** (1998). The free radical theory of aging matures. Physiological Reviews. **78**:547–581.
- **Bencharif, D et Tainturier, D.** (2003). Le diagnostic clinique de gestation chez la vache. L'Action vétérinaire, N° 1660, p.17-19.
- **Boss.I.P.L.** (2002). Etudes des activités biologiques fagara xanthoxyloides LAM (Rutaceae). Thèse de Pharmacie, Bamako. 133.
- **Buldak L, Labuzek K, Buldak RJ, Kozlowski M, Machnik G, Liber S, Suchy D, Dulawa-Buldak A, Okopien B** (2014). Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacol Rep.* 66(3):418-429.

□ **Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat A.G., Douki T., Duarte V., Calvo, J. J., Allue, J. R. Eesudeso, A. Garcia. L.J** (1989). Plasma ferritin of sows during pregnancy and lactation. *Cornell Vet.* 79: 273-282.

□ **Chauhan A1, Chauhan V** (2006). Oxidative stress in autism. *0100 Pathophysiology.* Aug; 13(3):171-81. Epub Jun 12.

□ **Chavan VU., Melinkeri RR.** (2013). Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Natl J Community Med.* 4(2)(294-9).

□ **Chelikani, P., 1. Fita et P.C. Loewen** (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sei*, vol. 6 1, no 2, p. 192-208.

□ **Chevion M, Berenshtein E. & Stadtman ER.** (2000). Human studies related to protein oxidation: prote in carbonyl content as a marker of damage. *Free Radie Res* 33 Suppl, S99-108.

□ **Chineke, C.A., Ologun, A.G. and Ikeobi, C.O.N.** (2006). Hematological parameters in rabbit breeds and crosses in humid tropics. *Pak. J. Biol. Sci.*, 9:2102-2106.

□ **Conner GH.** (1967). Effect of pregnancy and age on hemograms of Holstein–Friesian cattle in a herd with no evidence of leukemia. *Am J Vet Res* 28:1303.

□ **Constant, F. et Guillomot, M.** (2006). Formation et fonctionnement du placenta des bovidés. *Le point vétérinaire.* 6-11.

□ **Crespeau F.** (2001). Techniques hématologiques courantes. Polycoipié. Ecole nationale Vétérinaire d'Alfort. Unité Pédagogique d'Histologie-Anatomie Pathologique.48p.

□ **Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D. & Milzani A.** (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 52, 601-623.

□ **Del Valle, L.G.** (2011). Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. *Biomedicine & Aging Pathology.* 1: 1–7.

□ **Deriveau J. Ectors F. Pierre V. Beckers J.** (1980), *Physiologie de la reproduction ; Tome III*, Université Liège Faculté médecine vétérinaire.

□ **Edmonson, AJ. Lean IJ. Weaver L. d. Farver T. webster G.** (1989). a body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairysci*; 72, 68-78.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Fang, Y-Z., Yang, S. Wu, G.** (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18: 872–879.
- **Favier, A.** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108– 115.
- **FONTAINE JJ.** (1996). Histologie générale du système hémato-lympho-poïétique. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique d'Histologie-Anatomie Pathologique.
- **Francoise F.** (2006). Effets de différents antioxydants sur la lipoperoxydation in vitro initiée par le radical °OH, Article in *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 21(4): 229 233.
- **Francoz D, Dery A, Lanevschi A.** (2003). Les examens hématologiques en pratique bovine. *Point Vét.*, 34 Examens paracliniques chez les bovins, 42-48.
- **Frelon S., Gasparutto D., Muller E., Ravanat J.L., & Sauvaigo S** (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases, *Biol. Chem.* 383(6).P. p. 93.
- **Guillomot M.** (2001). L'implantation du blastocyste. In : Thibault C., Levasseur M.C. (Eds), *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. 2e Ed. Ellipses: Paris, 457-478.
- **Iriadam, M.** (2007). Variation in certain haematological and biochemical parameters during the peri-partum period in Kilis does. *Small Rumin. Res.*, 73:54-57.
- **Issenmann H.** (2003). Etude hématologique, biochimique et clinique comparative de veaux issus de clonage somatique et de veaux témoins. Thèse Méd. Vét. Alfort n°141 , 100p.
- **Jain NC.** (1993). *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea Febiger, 417p.
- **Jean-Baptiste B.** (2012). Diagnostic de gestation chez la vache : dosage des protéines associées à la gestation dans le sang et le lait par méthode ELISA Idexx. THESE. www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2012lyon027.pdf
- **JONGH O.** (1993). Les variations quantitatives de la population leucocytaire sanguine. *Le Point Vétérinaire*, 25 (154), 277-284.
- **Kevin, L.G.; Fcarcsi; Novalija, E; Stowe, D.F.** (2005). Reactive oxygen species as mediators of cardiac injury and protection: The relevance to anesthesia practice. *Anesthesia and Analgesia*. 101:1275–1287.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Koechlin-Ramonatxo C.** (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique*.
- **Koechlin-Ramonatxo, C.** (2006). Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177.
- **Kramer J.W.** (2000). Schalm's veterinary hematology. Philadelphia: Williams & Wilkins, Cap.165, 1069-1074.
- **Kramer JW.** (2000). Normal hematology of cattle, sheep and goats. In : Schalm's Veterinary Hematology, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, eds.5th ed. Philadelphia, PA : Lippincott Williams and Wilkins, 1075-1084p.
- **Kumar, D. M., et N. Agarwal.** (2007). Üxidative stress in glaucoma: a burden of evidence. *J Glaucoma*, vol. 16, no 3, p. 334-343
- **Kumar, R., Sharma, I.J. and Quari, M.A.** (2001). Status of haemogram, plasma proteins, minerals and electrolytes during anorexia and sub-clinical ketosis in cows and buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*, 71:118-121.
- **Lanarres Aj.** (1870).de la gestationchez la vache, ecole nationale de veterinaire de toulouse France. 8,9P.
- **Lee, J.; Giordano, S.; Zhang, J.** (2012). Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signalling. *Biochemistry Journal*. **441**: 523–540.
- **Luck, H.** (1954). Quantitative detennination of catalase activity of biological material. *Enzymologia*, vol. 17, no 1, p. 31-40.
- **Mbassa, G.K. and Poulsen, J.S.** (1991). Influence of pregnancy, lactation and environment on haematological profiles in Danish landrace dairy goats (*Capra hircus*) of different parity. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 100:403-412.
- **Mercan M.**, (2010), stresse oxydatif, A.R.L Laursanne, P10.
- **Mirzadeh, K., Tabatabaei, S., Bojarpour, M. and Mamoei, M.** (2010). Comparative study of hematological parameters according to strain, age, sex, physiological status and season in Iranian cattle. *J. Anim. Vet. Adv.*, 9: 2123-2127. 2.
- **Mohammed, A. K., G. Mohammed and O. O. Akerejola.** (2007). Haematological and serum biochemical changes in Bunaji work bulls after farmland ridging exercise in Kaduna State, Nigeria. *J. Anim. Vet. Adv.*, 6: 576-579.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Myatt. L. and X. Cui** (2004), oxydatif stress in placenta. *Histochem Cell Biol*0. 122(4). P369-8.
- **NovartProtti A, Singer M.** (2006). Strategies to modulate cellular energetic metabolism during sepsis. *is Found Symp.* 280:7-16; discussion 16-20, 160-4.
- **Nyang'ao, J. M. N, W. Olah-Mukani, J. M Maribei and J. K. Omuse.** (1997).A study of some haemaological and biochemical parmeters of the normal dromedary camel in Kenya. *J Camel practice and Res.* 4:31-33.
- **Ogino, K.; Wang, D-H.** (2007). Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: An approach to disease prevention. *Acta Medica Okayama.* **61**: 181–189.
- **Ogunde;O** (1998). Bactericidal Activity of Human Milk Complement System. Presented at INABIS '98 - 5th Internet World Congress on Biomedical Sciences at McMaster University, Canada, Dec 7-16th. Available at URL.
- **Patel MD, Lateef A, Das H, Patel AS, Patel AG, Joshi AB.** (2016). Effect of age, sex and physiological stages on hemato logical indices of Banni buffalo (*Bubalus bubalis*), *Veterinary orld* 9(1): 38-42.
- **Patil, M.D., Talvelkar, B.A., Joshi, V.G. and Deshmukh, B.T.** (1992). Haematological studies in Murrah buffaloes. *Indian Vet. J.*, 69:661-663.
- **Popov I, Lewin G** (2000). Photosensibilisierte Chemolumineszenz bei der Quantifizierung von Antioxidantien. *BIOforum* 1-2: 46 – 48.
- **Poranen AK, Ekblad U, Uotila P & Ahotupa M** (1996). Lipid peroxidation and antioxidants in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Placenta* 17 401–405.
- **R. Turk a, D. Jureti'c b , D. Geres c , A. Svetina a, N. Turk d, Z. Flegar - Mestri'c e.**(2008).influence du stress oxydatif et métabolique l'adaptation de l'activité de PON1 et MDA niveau en transition vaches laitières
- **Rodrigo, R.; Miranda, A.; Vergara, L.** (2011). Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease. *Clinica Chimica Acta.* **412**: 410–424.
- **Ryter S.F. & Tyrrell R.M.** (2000). The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. *Herne oxygenase has both pro- and antioxidant properties.* *Free Rad Bio! Med* 28:289-309.
- **S. Roy, M, Roy and S. Mishra** (2010). Hematological and biochemical profile during gestation period in Sahiwal cows *Veterinary World*, Vol. 3(1):26-28.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Samuni A., Aronovitch J., Godinger D., Chevion M., & Czapski G.** (1983). On the cytotoxicity of vitamin C and metal ions. A site-specific Fenton mechanism. *Eur. J.Biochem.*, 137:119-124.
- **Saikumar, P., B. Jaya, M. R. Renuka D.** (2013). 1, 2, 3 Dept of Physiology, Sree Balaji Medical College & Hospital, Chromepet, Bharath University, India *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* 2279-0861. Volume 3, Issue 6 P 12-13.
- **Sies, H.** (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*. **82**: 291–295.
- **Singh, R. Singha, S. P. S., Singh, R., Setia, M.S** (1991). Distribution of trace elements in blood, plasma and erythrocytes during different stages of gestation in buffalo (*Bubalus Bubalis*). *Buffalo J.* 1: 77-85.
- **Smith BP.** (1996). *Large Animal Internal Medicine*. 2nd ed. Saint-Louis: Mosby-Year Book, 2040p.
- **Sorg, O.** (2004) .Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*. **327**: 649-662.
- **Spiteller G.** (2007). The important role of lipid peroxidation processes in aging and age diseases. *Mol Biotechnol*37, 5-12.
- **Steinbeck ML, Khan AU, Appel WH Jr, Karnovsky MJ** (1993).The DAB-Mn⁺⁺ cytochemical method revisited: validation of specificity for superoxide. *J Histochem Cytochem* 41:1659–1667.
- **Sudesh Agarwal, B.S.Saini, Mamta Saini, Satyendra, Ashish Joshi and Nalini Kataria** (2016). aldosterone based oxidative stress appraisal in pregnant dog *Canadian Journal of Biological and Microbiology Research.*; 2(1):4-9.
- **Tennant B, Harrold D, Reina-Guerra M, Kendrick JW, Laben RC.** (1974). Hematology of the neonatal calf : erythrocyte and leukocyte values of normal calves. *Cornell Veterinarian*, 64, 516-532
- **Thrall MA.** (2004).*Veterinary hematology and clinical chemistry*. Williams and Wilkins, Philadelphia.
- **Toescu. V. et al** (2002). oxydatif stress and normal pregnancy, *Clin endocrinale (OXF)*. 57(5). P609-13.
- **Tremellen K** (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 14, 243-258.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Ullrey DE, Miller ER, Long GH, Vincent BH.** (1965). Sheep hematology from birth to maturity. 1. Erythrocyte population, size, and hemoglobin concentration. *J Anim Sci* 24:134-140.

- **Uppal, G., Raina, V., Sharma, A., Anand, M., Kumar, R., Khaitan, B.K. and Grover, J.K.** (2005). Use of simple haematological, biochemical and clinical parameters to monitor response of multiple myeloma patients on high dose thalidomide therapy. *Indian J. Cancer*, 42:46-50.

- **Vives-Bauza, C., Starkov A. et Garcia-Anrmi E.** (2007). Measurements of the antioxidant enzyme activities of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase. *Methods Cell Biol*, vol 80, p. 379-393.

- **Walsh SW & Wang Y.** (1993). Secretion of lipid peroxides by the human placenta. *American Journal of Obstetrics and Gynaecology* 169: 1462–1466.

- **Wang, J., Mazza, G.** (2002). Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on the Production of Tumor Necrosis Factor α in LPS/IFN- γ -Activated RAW 264.7 Macrophages. *J. Agric. Food. Chem.* 50: 4183-4189.

- **Wulf Dröge.** (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function *Physiological Reviews* Published 1 January Vol. 82 no. 1, 47-95.

- **Young, I.S.; Woodside, J.V.** (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*. 54: 176–186.

- **Zvorc, Z., Mrljak, V., Susic, V. and Gotal, J.** (2006). Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. *Vet. Arch.*, 76:245-253.

RESUME

Résumé :

L'objectif de cette étude était d'établir les valeurs référentielles des paramètres hématologiques et biochimiques (stress oxydatif) durant le premier trimestre de la gestation chez l'espèce bovine. 91 prélèvements de sang ont été effectués au niveau d'un vaisseau coccygien et au niveau de la veine jugulaire dans deux tubes contenant de l'EDTA. Un tube de sang est directement centrifugé (2500 rpm pendant 15 min) et le plasma est repartitionné dans des Eppendorffs conservés à température -4°C pour les dosages biochimiques. Le deuxième tube de sang complet est destiné à l'analyse hématologique. Les valeurs de globule blanc chez les femelles gestantes ($7,533 \pm 1,539 \times 10^9/l$) sont plus élevées que celles des non-gestantes ($7,044 \pm 1,27 \times 10^9/l$). Quant aux autres paramètres à savoir : hémoglobine (8.14 ; 8.32 pg/l), hématocrite (Ht) (22,262 ; 23,711 %) et les plaquettes ($160,23 ; 193 \times 10^9/l$) par les valeurs obtenues sont basses chez les femelles gestantes que les femelles non-gestantes. Nos résultats montrent clairement que les globules blancs, les globules rouges, le taux d'hémoglobines, hématocrites et lymphocytes diminuent avec l'âge et avec le nombre de portées, contrairement aux taux des plaquettes, monocytes, granulocytes. En revanche, une corrélation positive a été enregistrée entre le score corporel et les paramètres hématologiques, excepté les plaquettes et lymphocytes. Quant aux paramètres du stress oxydatif, nous constatons que les valeurs augmentent considérablement durant le premier trimestre de la gestation chez la vache.

Mot clé : gestation, hématologie, biochimique, paramètre, vache, facteur, stress oxydatif.

Summary:

The objective of this study was to establish the referential values of haematological and biochemical parameters (oxidative stress) during the first trimester of pregnancy in bovine. 91 blood samples were performed at a coccygeal vessel and at the jugular vein in two tubes containing EDTA. A tube of blood is directly centrifuged (2500 rpm for 15 min) and the plasma is left in Eppendorffs temperature kept at -4°C for biochemical assays. The second tube whole blood is intended for haematology analysis. The white blood cell values in pregnant animals ($7.533 \pm 1.539 \times 10^9 / l$) are higher than those of non-pregnant ($7.044 \pm 1.27 \times 10^9 / l$). As for the rest of the parameters are: haemoglobin (8.14; 8.32pg/l), hematocrits (Ht) (22.262; 23.711%) and platelets ($160.23; 193 \times 10^9/l$) by the values obtained are low in pregnant animals than non-pregnant females. Our results clearly show that white blood cells, red blood cells, the rate of hemoglobin, hematocrit and lymphocytes decrease with age and with the number of ported, contrary to the platelets count, monocyte and granulocytes. However, a positive correlation was recorded between body score and haematological parameters, except platelets and lymphocytes. As for the parameters of oxidative stress, we find that the values increase dramatically during the first trimester of pregnancy in cows.

Keyword: pregnancy, haematological, biochemical, parameter, cow, factor, oxidative stress.

P

ARTIE

EXPERIMENTATION



INTRODUCTION

R ESULTATS ET DISCUSSION

C ONCLUSION

L A PHYSIOLOGIE DE
DIGESTATION

L ES PARAMÈTRES
BIOCHIMIQUES
(STRESS OXYDATIF)

L ES PARAMÈTRES HÉMATOLOGIQUES

P

ARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE