



HAL
open science

Intérêt d'une supplémentation nutritionnelle adaptée dans l'optimisation de la performance physique de travail du chien d'utilité

Delphine Clero

► **To cite this version:**

Delphine Clero. Intérêt d'une supplémentation nutritionnelle adaptée dans l'optimisation de la performance physique de travail du chien d'utilité. Médecine vétérinaire et santé animale. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066175 . tel-01211428

HAL Id: tel-01211428

<https://theses.hal.science/tel-01211428>

Submitted on 5 Oct 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale

ED 394

Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Intérêt d'une supplémentation nutritionnelle adaptée dans l'optimisation de la performance physique de travail du chien d'utilité

Par Delphine CLERO

Thèse de doctorat de Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Dirigée par le Pr Dominique GRANDJEAN

Présentée et soutenue publiquement le 24 Juin 2015

Devant un jury composé de :

Pr Fabrice AUDIGIE (rapporteur)

Pr Francis BERENBAUM (président)

Pr Xavier BIGARD (membre du jury)

Pr Dominique GRANDJEAN (directeur)

Pr Yannick GUEZENNEC (membre du jury)

Pr Andrew PONTER (rapporteur)

« Toi et moi, pour eux »

Devise du Centre National d'Instruction Cynophile de la Gendarmerie Nationale de Gramat



Remerciements

Je remercie le Pr Berenbaum qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté d'être Président de ce jury, et d'avoir porté intérêt à ce travail.

Je remercie le Pr Dominique Grandjean d'avoir accepté ma candidature il y a 5 ans au sein de l'Unité de la Médecine de l'Élevage et du Sport de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort. J'y ai découvert chaque jour d'avantage les capacités extraordinaires des athlètes canins qu'ils sauvent des vies humaines, ou courent dans la neige. Merci de m'avoir soutenue tout au long de la rédaction de ce travail, de m'avoir permis de découvrir et connaître ces chiens. J'ai appris au sein de l'UMES comment métier peut rimer avec passion.

Mes remerciements vont également au Pr Philippe Cardot d'avoir accepté de soutenir ce travail. Vos conseils et votre aide m'ont été précieuses pour mener à bien ce projet.

Je remercie les professeurs Andrew Ponter et Fabrice Audigie d'avoir accepté d'être rapporteur ce travail.

Mes sincères remerciements aux Prs Yannick Guezenec et Xavier Bigard d'avoir accepté d'être dans le jury de cette thèse. C'est pour moi un grand honneur, au regard de vos compétences, que de pouvoir vous exposer ce travail.

Merci également au Pr Valérie Chetboul pour son soutien durant la rédaction de ce travail. J'espère pouvoir continuer à travailler en partenariat avec l'unité de cardiologie de l'ENVA pour approfondir les connaissances sur le cœur des chiens actifs.

Merci à mes confrères du service de santé des armées vétérinaires pour leur aide précieuse lors des essais réalisés au 132^{ème} Bataillon cynophile de l'Armée de terre, et en particulier Thierry Lamour, Caroline Girardet. J'espère que nous aurons encore l'occasion de travailler ensemble, car nos échanges ont été passionnants.

Merci également au service de biochimie clinique de l'hôpital Bichat, et en particulier à Fathy Driss qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation des dosages, et leur interprétation.

Je tiens également à exprimer mes remerciements à tous les conducteurs cynotechniques et à leurs chiens, qui ont participé aux différentes phases de ce travail. Ils sont trop nombreux pour être tous cités mais chacun de ces binômes indissociables a contribué à l'élaboration de cette thèse. Travailler à vos côtés est un plaisir, une source d'idées nouvelles, et j'espère qu'ensemble nous continuerons à soutenir et améliorer les performances de vos chiens.

Une pensée particulière pour mon Papa, ma Maman, et mon frère qui m'ont toujours soutenue et encouragée à suivre mes rêves. Merci de m'avoir poussée quand il le fallait pour que je sois un jour vétérinaire, merci de m'avoir appris à ne jamais abandonner.

Merci à Artem pour son soutien quotidien. Leo, Marina, et Andrei vous êtes pour moi une deuxième famille, et votre soutien a beaucoup compté.

Merci également à mes amis, et particulièrement Marie, ainsi que mes collègues de l'unité de l'Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport : Hélène, Anne, Laurence, Cassandre, Alain... Nous ne nous voyons pas suffisamment souvent pour beaucoup mais sachez que vous avez tous une place dans mes pensées.

Enfin, je tiens à remercier la société Royal-Canin® pour son soutien matériel, sa confiance, et l'intérêt porté pour aider les « chiens qui sauvent ».

Sommaire

Remerciements	3
Sommaire	5
Introduction	8
1. Introduction : connaissances actuelles des rôles de la nutrition dans la performance du chien de service	10
1.1. Élément de physiologie de l'effort chez le chien	10
1.1.1. Le muscle squelettique	10
1.1.2. Les filières énergétiques.....	12
1.1.3. Métabolisme et typologie d'effort.....	16
1.2. Modifications physiologiques et biologiques induites par l'effort chez le chien, et méthodes de suivi de ces modifications	17
1.2.1. Adaptation du système musculo-squelettique à l'exercice sous l'effet de l'entraînement physique et de la nutrition.....	17
1.2.2. Modifications cardio-vasculaires et respiratoires.....	18
1.2.3. Modifications hématologiques	20
1.2.4. Les variations biochimiques.....	21
1.2.5. Stress oxydatif cellulaire induit.....	22
1.2.6. Inflammation induite	23
1.3. Pathologies et causes de diminution de la performance du chien de service	24
1.3.1. La déshydratation	24
1.3.2. Le coup de chaleur d'exercice (hyperthermie d'effort)	24
1.3.3. Les affections gastro-entérologiques.....	25
1.3.4. Les atteintes musculo-squelettiques	26
1.3.5. La fatigue.....	26
1.3.6. Les atteintes du potentiel olfactif	27
1.3.7. Les syndrômes de surentraînement	27
1.4. La nutrition : élément essentiel de soutien de la performance	28

1.4.1.	Exercice, note d'état corporelle et score musculaire.....	28
1.4.2.	Les besoins quantitatifs	30
1.4.3.	Le besoin qualitatif.....	32
1.4.4.	Les différents types de ration : intérêts et limites.....	46
	Conclusion.....	49
2.	Deuxième partie : développement et évaluation de l'intérêt d'un supplément nutritionnel pré- et per-effort chez le chien d'utilité.....	50
2.1.	Objectif d'une supplémentation nutritionnelle pré- et per-effort chez le chien d'utilité.	50
2.2.	Etape préliminaire : constitution du supplément nutritionnel	50
2.3.	Choix du protocole terrain.....	52
2.4.	Test d'un supplément nutritionnel pré-effort et per-effort chez le chien de recherche de personnes égarées	52
2.4.1.	Matériels et méthodes.....	52
2.4.2.	Resultats	61
2.4.3.	Discussion	66
2.4.4.	Conclusion.....	68
2.5.	Publications et communications générées	69
3.	Troisième partie : développement et évaluation de l'intérêt d'un supplément nutritionnel post-effort chez le chien d'utilité	71
3.1.	Objectif d'un supplément post-effort chez le chien d'utilité.....	71
3.2.	Conception nutritionnelle et sélection des matières premières	71
3.3.	Test d'un supplément nutritionnel post-effort chez le chien d'utilité	79
3.3.1.	Matériel et méthodes	81
3.3.2.	Résultats	84
3.3.3.	Discussion	95
3.3.4.	Conclusion.....	97
3.4.	Publication et communications générées	98

4. Discussion générale.....	99
Conclusion et perspectives	102
Bibliographie.....	104
Liste des figures	127
Liste des tableaux	132
Glossaire des abréviations.....	133

Introduction

Le chien d'utilité est depuis plusieurs centaines d'années devenu un partenaire indispensable de l'homme pour l'assister au quotidien dans des domaines variés allant de la recherche d'odeurs spécifiques (explosifs, personnes, stupéfiants, mines...) à la valorisation de ses capacités dissuasives par sa puissance physique (chiens de patrouille, chiens d'éclairage...). Les situations de travail du chien (annexe 1) l'amènent au quotidien à rencontrer des environnements difficiles et stressants, augmentant la difficulté de la réalisation de ses activités spécifiques. Afin d'améliorer la performance opérationnelle des chiens, un grand travail a été fourni par les éleveurs, les conducteurs cynotechniques, les vétérinaires afin de faire progresser (figure 1) :

- la sélection des chiens ;
- leur entraînement physique ;
- leur nutrition ;
- le maintien de la motivation du chien sur le long terme en prenant en compte la relation unique liant un conducteur cynotechnique et son chien.

Figure 1 : schématisation des clés de la performance chez le chien



Cependant, les recherches scientifiques menées sur ces athlètes de haut niveau restent peu nombreuses, alors que les missions effectuées par les chiens sont de plus en plus difficiles, en particulier par la multiplication des situations de travail dans des environnements hostiles. La nutrition est un des éléments clés de la performance et doit permettre :

- de fournir l'énergie en quantité et en qualité suffisante pour couvrir le besoin énergétique spécifique;
- de minimiser le volume et le poids du bolus intestinal pour faciliter la digestion ;

- d'aider à minimiser les effets délétères d'un exercice physique intense sur lesquels nous reviendrons ultérieurement ;

- de favoriser une récupération précoce et aussi complète que possible permettant une reprise rapide des missions opérationnelles après une période d'exercice.

Ce travail a pour objectif d'étudier des méthodes d'optimisation du programme nutritionnel de ces chiens afin d'améliorer leur performance durant leurs missions, de prévenir l'apparition d'affections liées à l'exercice physique et de faciliter la récupération.

La première partie présente une synthèse bibliographique des données disponibles sur les conséquences de l'effort sur le chien, et la préparation nutritionnelle spécifique de ces athlètes de haut niveau.

La seconde, et la troisième partie présentent les essais terrains réalisés sur une période de deux ans, dont l'objectif est d'étudier les moyens de prévenir les effets délétères d'un exercice physique intense sur l'organisme et d'optimiser les réponses métaboliques à l'effort.

Enfin, dans une quatrième partie, nous discuterons nos résultats avec les données de la synthèse bibliographique, et envisagerons les perspectives nous permettant de poursuivre ce travail.

1. Introduction : connaissances actuelles des rôles de la nutrition dans la performance du chien de service

Lors de son travail, le chien doit avant tout faire fonctionner sa plate-forme motrice en se déplaçant à vitesse variée sur des terrains parfois difficiles. Cet effort physique est parfois rendu plus difficile par des conditions environnementales hostiles de travail (altitude, chaleur) entraînant des risques d'affections spécifiques.

1.1. Élément de physiologie de l'effort chez le chien

Un rappel de physiologie est essentiel pour comprendre la nature des nutriments à apporter pour permettant un effort musculaire optimal lors de l'exercice physique. Nous nous concentrerons donc ci-après sur les données impactant les besoins alimentaires du chien à l'effort.

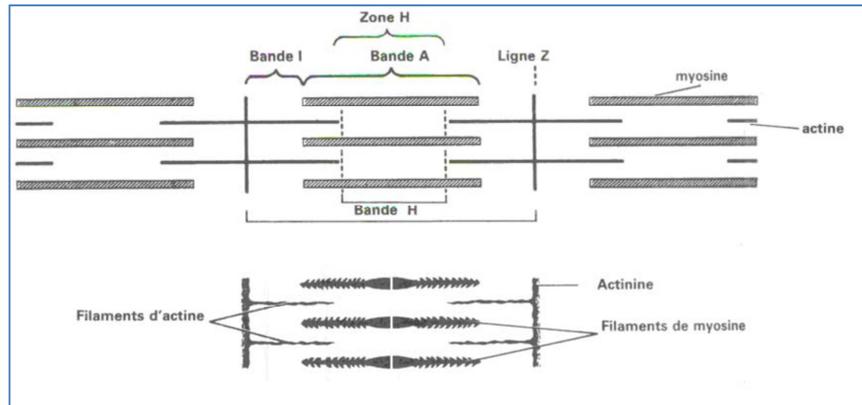
1.1.1. Le muscle squelettique

La masse musculaire totale d'un chien est variable en fonction de sa race, son sexe, son âge, et son état d'entraînement physique (Braund et al., 1978). Les muscles sont répartis en trois types: le muscle cardiaque, les muscles lisses (peau et viscère), et les muscles squelettiques. Nous ne nous intéresserons ici qu'aux muscles squelettiques. Le muscle squelettique du chien est composé de différents types de fibres musculaires longues, fusiformes, et entourées d'une membrane appelée sarcolemme.

Le muscle est un assemblage de plusieurs fibres musculaires, elles-mêmes composées de myofibrilles. En observant un muscle en lumière polarisée, on distingue une structure striée périodique permettant de distinguer des bandes isotropes (bande I), et des zones anisotropes (bande A), d'où le nom « muscle strié squelettique » (figure 2).

On observe en microscopie électronique que les bandes I sont séparées en deux par un disque fin appelé disque Z (pour *Zwischenscheibe* signifiant « intercalé » en allemand). Les bandes A comportent une zone centrale plus claire dite zone H (pour *Hell* signifiant « claire » en allemand) avec une ligne dite M du fait de sa forme au milieu. Deux disques M délimitent un sarcomère, unité du muscle squelettique. Les alternances visiblent en microscopie optique s'expliquent par l'alignement alterné des protéines d'actine et de myosine pouvant s'éloigner et se rapprocher lors de la contraction musculaire.

Figure 2 : disposition des myofilaments dans le muscle strié au repos (d'après Murray et al., 1995)



La contraction musculaire se produit lorsque la fibre musculaire reçoit une stimulation nerveuse entraînant la formation d'un potentiel d'action qui entraîne une libération dans le cytoplasme du reticulum endoplasmique de calcium. Cet afflux de calcium permet le lien entre les molécules d'actine et de myosine et le raccourcissement de la fibre musculaire. Les deux filaments sont relâchés lorsque l'ATP se lie au site de la myosine.

Le chien possède deux types de fibres musculaires (Rivero et al., 1994 ; Toll et al., 2010 ; Toniolo et al., 2007) classées en fonction de leurs propriétés histochimiques : les fibres à contraction lente ou oxydative (type I), et les fibres à contractions rapides (type II). Ces fibres se caractérisent par des différences de propriétés histochimiques. Les fibres de type I disposent d'une grande endurance, ont un diamètre plus faible, une vascularisation importante, et un nombre de mitochondries élevé par rapport au type II. Elles ont donc des capacités d'oxydation des acides gras élevées (Murphy et al., 1997 ; Wortinger, 2007). Les fibres de type II sont en général de plus grand diamètre, beaucoup plus riches en ATPase myofibrillaire, et contiennent plus d'enzymes impliquées dans les processus glycolytiques. Ce dernier type est sous-divisé en fibres de type IIa et IIb, les premières possédant des capacités oxydatives plus importantes que les dernières. La répartition de ces fibres (tableau 1) est variable en fonction du type de muscle, de la génétique du chien (un lévrier de course possède génétiquement plus de fibres de type II qu'un chien de traîneau), et de son entraînement physique dans une moindre mesure (Toll et al., 2010 ; Wortinger et al., 2007).

Tableau 1 : pourcentage de fibres rapides (type II) dans les principaux muscles de trois types de chiens : le lévrier (sprinteur), le chien croisé (intermédiaire), et le chien courant(ou chien de chasse, athlète endurant) (d’après Guy et al., 1981).

	LEVRIER	CROISE	CHIEN COURANT
Triceps (chef long)	94,2	77,2	64,9
Vaste latéral	96,6	61,4	80,7
Biceps fémoral	88,6	67,2	63
Semi-tendineux	98,9	85,3	69,6

1.1.2. Les filières énergétiques

Lors d’un effort physique, la contraction musculaire provient de la conversion d’une énergie chimique (ATP : Adénosine Tri Phosphate) en une énergie physique (Murphy et al., 1997). Cette consommation de l’ATP intra-musculaire entraîne la nécessité d’une resynthèse rapide de l’ATP pour maintenir les cycles contraction-relaxation musculaire. Celle-ci est permise grâce à l’utilisation de substrats énergétiques : les lipides, les carbohydrates, ou les protéines, ou par la voie des phosphagènes basées sur l’utilisation de la créatine phosphate (PCr). Le rendement énergétique de cette contraction musculaire varie de 18% à 25% d’efficacité (Murphy et al., 1997) selon le niveau d’entraînement physique et le plan d’alimentation du chien. Les 75 à 80% d’énergie perdue sont évacués par l’organisme sous forme de chaleur. Un premier enjeu nutritionnel peut donc consister en la recherche de facteurs améliorateurs de ce rendement de transformation qui demeure faible.

Les trois voies métaboliques (figure 3) utilisées pour la synthèse d’ATP nécessaire à la contraction musculaire ont des rendements de production d’ATP variable.

- La voie des phosphagènes (anaérobiose alactique) utilise une enzyme, la phospho créatine kinase musculaire, localisée en conjonction des filaments d’actine et de myosine. Elle permet de resynthétiser les réserves d’ATP à partir de l’ADP musculaire par phosphorylation (Toll et al., 2010). La myokinase est une autre enzyme musculaire permettant la phosphorylation d’une molécule d’ADP à partir d’une autre molécule d’ADP. Ce métabolisme, très efficace en terme d’énergie dégagée, n’est possible que sur quelques secondes car les réserves en phospho-créatine musculaire sont limitées (Burger, 1993 ; Murphy et al., 1997 ; Toll et al., 2010). Il est donc utilisé pour les efforts d’intensité supra-maximale ne durant que quelques secondes (saut, démarrage d’une course...). Cette voie ne

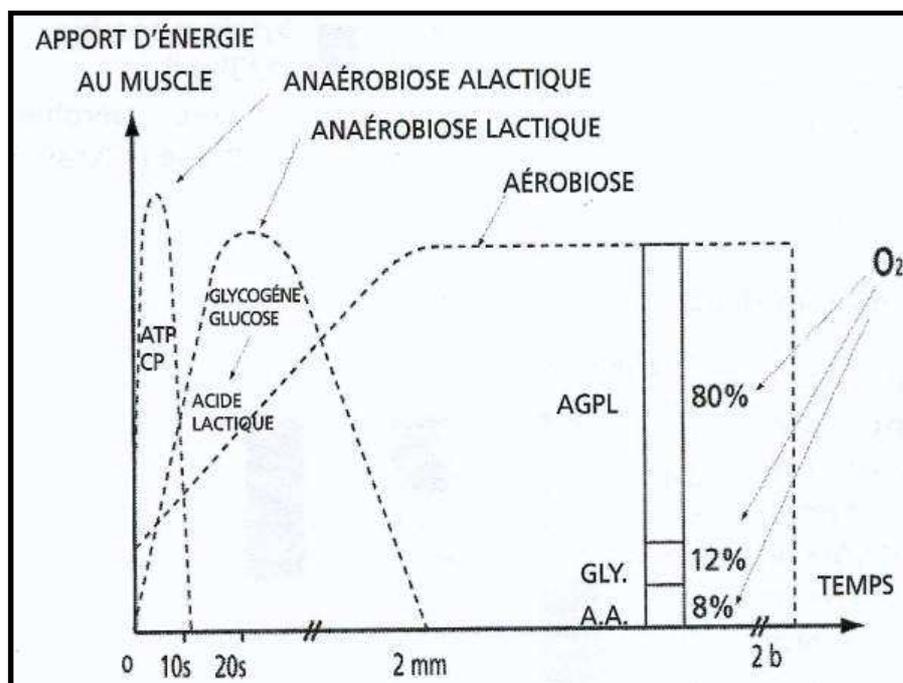
peut pas être améliorée par l'alimentation ou l'entraînement physique, hors substances considérées comme « dopantes ».

- Le métabolisme anaérobie lactique permet à partir d'une molécule de glucose de produire de l'ATP par la voie de la glycolyse (Grandjean et al., 1992 ; Toll et al., 2010 ; Murphy et al., 1997). Cette voie utilise une succession de réactions enzymatiques aboutissant à la libération de deux pyruvates, qui seront ensuite convertis en lactates par la lactate deshydrogénase (LDH), si le métabolisme aérobie n'est pas en place ou en acetyl-coA pour former du pyruvate si le métabolisme aérobie est en place. Les lactates peuvent ensuite servir à resynthétiser du glycogène dans le foie via le cycle de Cori. Ce métabolisme permet de dégager une contraction musculaire d'une puissance équivalente à 50 à 60% de celle permise par la voie des phosphagènes pendant 30 secondes à 2 minutes maximum (Grandjean et al., 1992 ; Wortinger, 1997), avec un pic d'efficacité maximale durant 3 à 30 secondes. L'entraînement physique et la nutrition permettent d'optimiser ce métabolisme.

- Le métabolisme aérobie met en jeu des processus d'oxydation des trois sources principales d'énergie (les lipides, les glucides, et les protéines) au niveau de la mitochondrie. Il est utilisé majoritairement pour les activités de longue durée et d'intensité modérée chez le chien (Grandjean et al., 1992 ; Wortinger, 1997).

Figure 3 : les filières énergétiques chez le chien (Grandjean et al., 1992) ;

ATP : Adénosine Tri Phosphate ; CP : Créatine Phosphate ; AGPL : Acides Gras Plasmatiques Libres ; Gly : Glycogène ; A.A. : Acides Aminés



Lors de l'oxydation du glucose apporté par le sang, sa disponibilité pour la cellule musculaire est gouvernée par des processus hormonaux (insuline, glucagon, cortisol, hormone de croissance), et par la glycémie elle-même. Le rendement de production d'ATP est alors de 50% celui de la glycolyse anaérobie. L'ingestion de carbohydrates lents avant effort accroît ce métabolisme alors qu'il est diminué lors de jeûne ou d'ingestion de matière grasse. L'oxydation du glucose est majoritaire chez le chien lorsque les exercices durent 4 à 5 minutes maximum (Grandjean et al., 1992).

L'oxydation de lipides apportés à la cellule musculaire par diffusion des acides gras libres plasmatiques (AGPL) est améliorée dès lors que la concentration en ces AGPL dans le sang augmente, ce qui permet de maintenir un exercice plusieurs jours durant (Mc Clelland et al., 1994 ; Davis, 2010). Pour ces acides gras, et afin de traverser la membrane mitochondriale et être oxydés lors de la β -oxydation, la présence de L-carnitine est indispensable, sauf dans le cas des acides gras à chaînes courtes ou moyennes. Ce métabolisme est majoritairement sollicité lors des efforts longs et peu intenses. Les acides gras plasmatiques peuvent également être récupérés par le foie, et conduire à la formation de corps cétoniques (dont l'acéto-acétate et le bêta-hydroxybutyrate) qui peuvent être oxydés par la cellule musculaire. L'entraînement physique et l'alimentation sont deux éléments essentiels d'optimisation de ce métabolisme.

L'oxydation des acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine) peut servir de source d'énergie musculaire en transférant un de leurs groupements amine sur le pyruvate pour former de l'alanine, ou sur l'acide glutamique pour former la glutamine (Poortmans, 1982 ; Grandjean et al., 1992 ; Hargreaves et al., 2001). Alanine et glutamine peuvent alors être captées par le foie pour permettre la synthèse de glucose. Ce métabolisme peut apporter de 10 à 15% des sources d'énergie pour le muscle actif, mais ne représente en moyenne que 2% lors de l'exercice chez le chien (Powers et al., 2004).

Pour évaluer le type de substrat utilisé, le quotient respiratoire est le rapport entre la production de dioxyde de carbone (VCO_2), et la consommation d'oxygène (VO_2) peut être utilisé (tableau 2) ; il est évalué par des mesures de calorimétrie indirecte dans des études de laboratoire (Reynolds et al., 1994 ; Powers et al., 2004). Si le quotient respiratoire est proche de 0,7, le substrat principal est lipidique, les lipides contenant plus de carbones que les autres sources énergétiques. Si le quotient respiratoire est proche de 1, le métabolisme glucidique se révèle prédominant. L'oxydation des protéines se met en évidence par un quotient respiratoire voisin de 0,8 (Braund et al., 1978). Le type de substrat et le processus utilisé (aérobie ou anaérobie) détermine l'efficacité de la production d'ATP.

Tableau 2 : production d'ATP par unité de substrat consommé selon la voie métabolique concernée (Grandjean et al., 1992)

Réaction	ATP/mol		Quotient respiratoire
	Substrat	O ₂	
Glycogène-> Lactate	3		
Glucose->Lactate	2		
Lactate->CO ₂ + H ₂ O	17	5,7	1
Glycogène->CO ₂ + H ₂ O	37	6,2	1
Glucose->CO ₂ + H ₂ O	36	6	1
AGLP->CO ₂ + H ₂ O	138	5,6	0,71
Acétoacétate->CO ₂ + H ₂ O	23	5,7	0,73
B-hydroxybutyrate->CO ₂ + H ₂ O	26	5,8	0,8

Ces études ont été complétées par des mesure d'échanges gazeux par des techniques d'abord invasives telle que la tracheotomie, puis par le recueil des échanges gazeux grâce à un masque respiratoire (Reynolds et al., 1999).

Les premières études (Wagner et al., 1977 ; Grandjean et al., 1992 ; Burger, 1994) concluent que pour un exercice effectué à 30% de la VO₂max (consommation maximale d'oxygène) ou de la puissance maximale aérobie, la source principale d'énergie utilisée est d'origine lipidique. Les efforts situés entre 30 et 40% de la VO₂max entraînent l'utilisation des réserves à la fois lipides et glucidiques. Si les efforts se situent à plus de 70% de la VO₂max, ou durant les premières minutes d'un effort physique, le métabolisme glucidique est sollicité de manière notablement plus accrue.

Lorsque l'exercice physique nécessite une atteinte immédiate de la vitesse maximale (comme par exemple le chien d'assaut devant faire une attaque sur une personne armée), la consommation des réserves intra-musculaires d'ATP se fait quasi instantanément. La voie des phosphagènes permet alors une resynthèse immédiate d'ATP durant les premières secondes. Pour soutenir un exercice de forte intensité plus de deux secondes, la glycolyse anaérobie permet la production d'ATP sans consommation d'oxygène ce qui entraîne la production de lactates.

Une étude de Mc Clelland (1994), montre que la durée d'effort influence néanmoins fortement l'efficacité des processus d'oxydation lipidique. L'oxydation des glucides et des réserves glycogéniques est prédominante dans les exercices d'intensité importante (>50% de la VO₂max) durant entre 20 minutes et 2 heures, ce métabolisme se prolongeant tant que les réserves en glycogène, et le taux de conversion du pyruvate en acétyl-CoA sont suffisants. En

cas de déplétion des réserves glycolytiques ou de carence en acétyl-coA dans un exercice d'endurance à plus de 50% de la VO₂max, l'oxydation des protéines et la néoglycogénèse permettent de maintenir le niveau de performance. L'oxydation des acides gras devient majoritaire après 30 minutes d'exercice à faible intensité (<50% % de la VO₂max). Les capacités d'endurance des chiens capables de courir sans fatigue métabolique (Davis et al., 2010) sont permises par :

- l'efficacité de ce métabolisme, et la grande proportion de fibre de type I (myosine basse ATPase), et de type IIa (aérobie) en comparaison aux autres espèces (Maxwell et al., 1977) ;

- l'importance des capacités d'oxydation de la forme de stockage représentant la part la plus importante part des réserves énergétiques de l'organisme, puisqu'en moyenne 85% des réserves énergétiques sont constituées de lipides, 1% de glucides, et 14% de protéines (Weber et al., 2004) ;

- les capacités importantes de digestion des lipides du chien (Wortinger, 2007).

1.1.3. Métabolisme et typologie d'effort

Chez le lévrier de course, une augmentation très importante de la lactatémie après 800 mètres de course est observée avec des valeurs allant jusqu'à 14 voir même 22 mmol/L (Grandjean, 1991 ; Wyatt, 1963) pour une lactatémie basale de 1,5 à 2 mmol/L. Chez le chien, lors d'une étude sur un muscle gastrocnémien isolé (Diprampero et al., 1980), la production d'un gramme de lactate permet la production de 248 kcalories. La lactatémie sanguine n'étant pas un reflet exact de l'ensemble des lactates produits par le muscle, il est difficile d'en conclure la quantité d'énergie permise par ce métabolisme chez le lévrier, la valeur maximale de lactatémie étant souvent atteinte plusieurs minutes après l'arrêt de l'effort. En effet, on trouve des lactates dans trois compartiments organiques : le muscle, le sang, et les reins.

Le tableau 3 récapitule les métabolismes les plus sollicités en fonction du travail du chien.

Bien qu'aucune étude ne se soit spécifiquement intéressée aux chiens de service, la plupart des chiens se trouvent dans des activités stimulant majoritairement la filière aérobie, la filière anaérobie l'étant de façon plus ponctuelle (assault pour un chien de police, franchissement d'un décombre pour un chien de recherche de personnes ensevelies).

Tableau 3 : source principale d'énergie utilisée en fonction de l'activité du chien (Grandjean et al., 1992).

* : pour le chien de traîneau de sprint ou de course par étape

Type d'exercice	Anaérobie alactique	Anaérobie lactique	Aérobie
Saut	+++	+	0
Attaque	++	++	+
Lévrier	+	+++++	++
Agility	0	++++	++
Ring	0	+++	+++
Piste	0	0	++++
Chasse	0	0	++++
Chien de traîneau	0	0 ou +*	+++++

1.2. Modifications physiologiques et biologiques induites par l'effort chez le chien, et méthodes de suivi de ces modifications

1.2.1. Adaptation du système musculo-squelettique à l'exercice sous l'effet de l'entraînement physique et de la nutrition

Au niveau du muscle squelettique, chez un chien entraîné, l'utilisation des réserves énergétiques de l'organisme et la répartition des fibres musculaires sont modifiés par l'entraînement physique (Davis, 2010). Ces modifications mettent 9 à 12 semaines pour se mettre en place. L'entraînement en endurance peut induire une évolution des fibres de types IIB vers des fibres de types IIA (Toniolo et al., 2007). Il n'est cependant pas démontré chez le chien que cet entraînement puisse générer la formation de fibres musculaires de type I lente chez le chien. Une étude plus récente (Miller et al., 2015) s'est intéressée à l'évolution de la synthèse des protéines musculaires durant un entraînement physique chez le chien de traîneau (Alaskan Husky), et le chien de recherche d'explosif (Labrador Retriever). Contrairement à l'hypothèse initiale selon laquelle la synthèse des protéines cytoplasmiques, mixtes, et mitochondriales serait augmentée sous l'influence de l'exercice physique, il ne semble pas modifier cette synthèse. Au contraire, la synthèse des protéines cytoplasmiques et mixtes est diminuée sous l'influence de l'exercice, ce qui est corrélé à une diminution du p-RpS6 et du signal p-ACC. Cette observation est peut-être en rapport avec un haut niveau basal de synthèse protéique chez le chien au repos ou une intensité faible d'exercice physique, cette étude étant réalisée sur une courte période (une semaine), et avec des chiens de recherche d'explosifs.

Cependant, ces adaptations musculaires sont fortement influencées par l'alimentation. Une étude (Reynolds et al., 1999) a montré qu'un taux de protéine de 18% de l'énergie métabolisable dans un aliment était associé à une augmentation des lésions des tissus mous au

cours de 4 semaines d'entraînement par comparaison à un taux de protéine de 23, 29, ou 35% de l'énergie métabolisable dans l'aliment.

1.2.2. Modifications cardio-vasculaires et respiratoires

Les adaptations cardio-vasculaires à l'exercice concernent principalement le cœur, les vaisseaux sanguins, et le volume sanguin total. Sous l'effet de l'entraînement physique, l'épaisseur du myocarde, ainsi que le diamètre des ventricules augmentent, ce qui permet d'accroître le volume d'éjection systolique (Constable et al., 1985 ; Bavegens et al., 2009). Ces modifications se traduisent par une diminution de la fréquence cardiaque de repos, et des modifications de la conductivité électrique du cœur se traduisant notamment par une variation du tracé électrocardiographique du cœur. Un chien du gabarit moyen d'un chien d'utilité (20kg à 30kg) a une fréquence cardiaque de base moyenne de 60 à 70 battements par minute après conditionnement, alors que sa fréquence cardiaque serait de 80 à 100 battements par minute sans conditionnement.

L'entraînement physique en endurance augmente la consommation maximale d'oxygène (VO_{2max}) le chien comme chez l'humain, jusqu'à des valeurs allant à 220ml/kg/min chez le chien de traîneau (Reynolds et al., 2001 ; Davis et al., 2005) ou 150 ml/kg/min chez le chien de chasse (Mush et al., 1985). Cette valeur est très élevée si on la compare à la consommation maximale d'oxygène d'autres espèces (tableau 4), ce qui permet de grandes capacités oxidatives, mais entraîne également un stress oxydatif plus important chez le chien.

Tableau 4 : Approche comparée des consommations maximales d'oxygène à l'effort en fonction du niveau d'entraînement physique de chaque espèce.

Performance	VO_{2max} [mlO ₂ /min/kg]		
	 Homme	 Cheval	 Chien
Très faible	45	70	80
Faible	55	90	100
Moyenne	65	110	130
Bonne	75	130	180
Très bonne	85	160	220

Cette augmentation est influencée par le taux de protéine dans l'alimentation (Reynolds et al., 1999). Un aliment contenant 18% de l'énergie métabolisable sous forme de protéines dans l'alimentation limite le développement de la VO_{2max} de manière significative

par rapport à des aliments contenant respectivement 23, 29, 35% de l'énergie métabolisable sous forme de protéines (tableau 5).

Tableau 5 : impact du niveau protéique alimentaire sur les facteurs de la performance chez le chien de traîneau (Reynolds, 1999)

Protéines [p100 de EM] (p100 aliment sec à 4500 kcal EM/kg)	18 (20)	23 (26)	29 (33)	35 (40)
Hématocrite (p100)	46 ± 0.1	48 ± 2	50 ± 1	50 ± 1
VO ₂ max (ml/min/kg)	128 ± 80	174 ± 12	180 ± 12	174 ± 12
Problèmes musculaires	8/8	1/8	0/8	1/8

Une étude (Proscurshim et al., 1989) a montré qu'un entraînement physique de 15 minutes par jour dans un groupe de chiens préalablement au repos augmente la VO₂max de 53,8%. Cette étude présente néanmoins comme limite d'avoir été réalisée dans des conditions de laboratoire et sur animal trachéotomisé, ce qui modifie la variation des valeurs observées, en ne permettant pas de prendre en compte la régulation thermique induite par le halètement principalement chez le chien. Dans ce cas, les modifications sont maximales 4 semaines après le début de l'entraînement.

Une étude récente (Tharwat et al., 2013) sur le Greyhound de course montre une augmentation des cTn1 (cardiac-troponine 1) immédiatement après une course de sprint de sept kilomètres (distance supérieure aux 500 mètres habituels de course pour un Greyhound), sans augmentation des CK MB (créatine-kinase myocardique). Le retour aux valeurs de base se fait en moins de 24 heures. Une augmentation de la perméabilité des cardiomyocytes entraînant une fuite de macromolécules sans lésions cellulaires est proposée pour expliquer cette variation. L'augmentation des cTn1 est aussi rapportée après un effort de plusieurs jours successifs chez le chien de traîneau (Mc Kenzie et al., 2007). Aucune étude chez le chien ne s'est pour le moment portée sur l'impact de l'alimentation sur ces paramètres au cours de l'effort. Chez l'homme, un apport en omega-3 semble intéressant dans ce contexte (Macartney et al., 2014), et il est vraisemblable que tout facteur nutritionnel inducteur d'une meilleure oxygénation cellulaire ait le même effet chez le chien.

Lors de l'exercice physique, on observe également une vasodilatation capillaire au niveau des muscles squelettiques ce qui favorise l'apport en oxygène lors d'effort aérobie

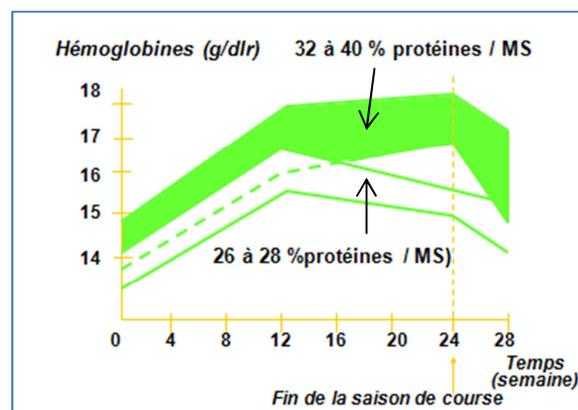
(Morganroth et al., 1977). Les prostaglandines et l’histamine ont alors été suspectées être responsable de cette vasodilatation.

Signalons enfin les travaux de Guezennec (1982) qui démontrent une augmentation de la déformabilité des globules rouges lors de supplémentation nutritionnelle avec des acides gras de la série omega-3, lesquels en s’incorporant aux membranes assurent une meilleure oxygénation cellulaire et des tissus profonds par les microcapiullaires.

1.2.3. Modifications hématologiques

Au cours de l’entraînement physique, une variation de l’hématocrite et de la teneur des érythrocytes en hémoglobine est rapportée chez le chien. Les résultats de ces études sont contradictoires, et sont fortement influencés par l’alimentation et le type d’entraînement reçu par les chiens. Brown et al. (2009) rapportent qu’un aliment contenant 43% de protéines d’origine végétale permet de maintenir l’hématocrite et la concentration corpusculaire en hémoglobine durant 16 semaines d’entraînement chez des chiens de traineau de sprint. Cependant, cette étude est réalisée sur une période de temps très courte, et avec un taux très élevé de protéines. Au cours de la saison, un taux de protéine de 26 à 28% de l’énergie métabolisable (EM) est associé à une augmentation de l’hématocrite au cours des 12 premières semaines d’entraînement puis à une diminution durant le reste de la saison (Kronfeld, 1973 ; Kronfeld, 1981-figure 4). Cette diminution induit au bout de 24 semaines une anémie ayant des impacts négatifs sur la performance, laquelle est également rapportée par Querengaesser et al. (1994). Le stress chronique semble être également en partie responsable de cette diminution de l’hématocrite au cours de la saison (Adkins et al., 1982).

Figure 4 : évolution de la concentration en hémoglobine d’un chien au cours de la saison de course selon le pourcentage d’énergie fournit par les protéines (d’après Kronfeld et al., 1981).



Reynolds (1999) rapportent les mêmes symptômes d'anémie d'effort avec un aliment contenant seulement 18% d'EM sous forme de protéines, mais une augmentation de l'hématocrite avec un aliment contenant 24% d'EM sous forme de protéine. L'augmentation de l'hématocrite et de la concentration corpusculaire en hémoglobine est maximale avec un aliment contenant 35% d'EM sous forme de protéine (soit six grammes de protéine par kilogramme de poids corporel) dans cette dernière étude.

Une diminution de l'hématocrite et de la concentration en hémoglobine est rapportée chez le chien lors des efforts de très longue durée, avec pour modèle le chien de traineau longue distance (Querengaesser et al., 1994 ; Hinchcliff et al., 1997 ; Davis et al., 2008). Ces diminutions sont également rapportées chez l'homme lors des efforts d'ultra-trail ou de triathlon (Shaskey et al., 2000). Pour les efforts durant moins d'une journée, une augmentation de l'hématocrite en post-effort immédiat est notée dans plusieurs études, en lien avec une contraction splénique liée au stress et une deshydratation extracellulaire (Matwichuk et al., 1997 ; Ilkiw et al., 1987 ; Rose et al., 1989, Toll et al., 1995).

Une augmentation significative des globules blancs (neutrophiles) au cours d'un effort physique intense est également rapportée dans plusieurs études (Matwichuk et al., 1997 ; Querengaesser et al., 1994 ; Hinchcliff et al., 1997), en relation avec un phénomène de démargination lymphocytaire intra-vasculaire.

1.2.4. Les variations biochimiques

Au cours d'un effort physique, une augmentation de la glycémie est observée suite à un effort court et intense chez le Greyhound (Snow et al., 1998 ; Ilkiw et al., 1989 ; Rose et al., 1989). Cette augmentation n'est pas observée dans les études portant sur des exercices plus longs tels que le sport de traineau, la chasse, ou la course sur tapis roulant (Hinchcliff et al., 1993; Chanoit et al., 2002).

Les concentrations en triglycérides ou acides gras libres plasmatiques (AGPL) augmentent lors de l'effort physique que l'effort soit réalisé par un Greyhound (lévrier de course) ou un chien de traineau (Hammel et al., 1977 ; Snow et al., 1988). Cette augmentation des AGPL est liée à une lipomobilisation.

L'augmentation de la lactatémie dépend quant à elle du type d'effort réalisé. Chez le Greyhound (modèle de sprinteur extrême), le pic de lactatémie est observé quelques minutes après la fin de l'exercice avec des valeurs pouvant dépasser les 20 mmol/L alors que la valeur basale est de 2 mmol/L (Snow et al., 1988 ; Ilkwik et al., 1989). Cette augmentation n'est

jamais observée dans les exercices d'endurance tels que le sport de traîneau ou la chasse (Ferrasin et al., 2009) entre le pré- et le post-effort immédiat. Une augmentation transitoire est néanmoins suspectée lorsque le chien franchit son seuil aérobie, les lactates produits étant ensuite immédiatement valorisés au plan énergétique pour oxydation (Kelley et al., 2002).

Plusieurs études (Reynolds et al., 1999 ; Querengaesser et al., 1994) rapportent une augmentation des protéines totales dans le sang pendant un effort physique intense chez le chien. Durant l'entraînement, cette augmentation est par ailleurs observée mais corrélée à taux de protéines dans l'alimentation suffisamment élevé (Reynolds et al., 1999).

L'urémie se révèle également augmentée suite à un exercice physique chez le chien de traîneau (Reynolds et al., 1999 ; Querengaesser et al., 1994), d'agility (Rovira et al., 2007), ou le lévrier de course (Ilkiw et al., 1989). Les créatine-kinases (marqueurs des lésions musculaires liés à l'exercice), ainsi que les ASATs (Aspartate Amino Transférase) sont également augmentées dans ces trois études, mais se normalisent 24 heures après la fin de l'effort, sauf chez le chien de traîneau de course de longue distance. Ces données suggèrent un turn-over protéique accru chez le chien sous l'effet de l'effort.

Des modifications électrolytiques sont rapportées chez le chien de traîneau longue distance (Reynolds et al., 1999). La natrémie augmente significativement, et la kaliémie tend à diminuer tout en restant dans des valeurs physiologiques pour l'espèce.

1.2.5. Stress oxydatif cellulaire induit

L'exercice physique est inducteur d'une augmentation de la production de radicaux libres qui peuvent être impliqués dans les lésions tissulaires lors de l'exercice physique lorsque les réserves en anti-oxydants de l'organisme sont dépassées. Toutes les espèces animales peuvent être concernées comme le montrent les publications nombreuses relatives au sportif humain (Finaud et al., 2006 ; Powers et al., 2011), ou au cheval (William et al., 2010).

Dans l'espèce canine, ce phénomène a été étudié chez le chien de traîneau (Baskin et al., 2000 ; Hinchcliff et al., 2000 ; Dunlap et al., 2006 ; Motta et al., 2009 ; Piercy et al., 2000 ; Grandjean, 2001), le chien de chasse (Pasquini et al., 2010), le chien de recherche de personnes (Grandjean et al., 1998). L'exercice induit une augmentation des marqueurs du stress oxydatif utilisés dans ces études (malondialdéhyde, isoprostanes, protéines carbonylées, 7,8-dihydro-8-oxo-2'deoxyguanosine), et une diminution des réserves anti-oxydantes de l'organisme (vitamine A, vitamine E, vitamine C, superoxydase dismutase, glutathion peroxydase).

Plusieurs études se sont intéressées à l'impact de l'alimentation dans la réduction du stress oxydatif cellulaire. La myrtille, ou un mélange de lutéine (20mg), vitamine E (400 UI), et vitamine A (3mg quotidiennement pendant 1 mois) permettent de diminuer les marqueurs de lésions tissulaires liées au stress oxydatif (Dunlap et al., 1980). Cependant, ces modifications ne sont pas associées dans ces études à une moindre incidence des affections rencontrées chez le chien à l'effort (lésions musculo-tendineuses et rhabdomyolyse, ulcères gastriques pour celles relevées), et ne permettent pas de réduire l'augmentation des créatine-kinases chez le chien de traîneau (Piercy et al., 2000 ; Piercy et al., 2001). Cependant, la supplémentation en vitamine E et sélénium des chiens de traîneau l'Iditarod dans les années 1985 a néanmoins largement contribué à voir diminuer les morts subites survenant au cours de la course, dont l'autopsie était associée à un syndrome du muscle blanc, et à une totale disparition des réserves adipeuses et hépatiques en vitamine E (Grandjean, communication personnelle).

Lors d'un travail en altitude sans acclimatation chez le chien de recherche de personnes (Grandjean et al., 1998), une supplémentation en α -tocopherol (500mg) et acide ascorbique (300mg) par jour permet d'améliorer la résistance de la membrane érythrocytaire à l'oxydation, et réduit le nombre de chien présentant des signes cliniques de mal aigu des montagnes (œdème pulmonaire, diarrhée induites notamment).

1.2.6. Inflammation induite

Dans l'espèce canine, les études sur l'évolution des phénomènes inflammatoires à l'effort sont récentes, et ont toutes été réalisées chez le chien de traîneau (Wakshlag et al., 2010, Kenyon et al., 2011, Yazwinski et al., 2013, Spoo et al., 2015). Wakshlag et al. (2010) montre aussi qu'un exercice modéré pratiqué deux jours successifs entraîne une augmentation de la C-Reactive Protein (CRP), mais pas des troponines cardiaques (cTn1) révélatrices d'éventuelles lésions cardiaques. Ce processus inflammatoire s'accroît lorsque la durée de l'exercice augmente (six jours de course, soit 557 kilomètres, au lieu de 67 kilomètres dans la première étude). La concentration en CRP passe alors de 22,4 (+/-16,3) $\mu\text{g/mL}$ avant exercice à 263,3 +/-103,8 $\mu\text{g/mL}$ après l'exercice physique. Cette augmentation est corrélée à une diminution de l'albuminémie. Le taux plasmatique d'IL-6 est inchangé entre le début et la fin de l'effort dans cette étude, contrairement à celle de Yazwinski et al. (2013), où une augmentation des cytokines pro-inflammatoires (IL6, TNF α , IL10) est notée sur le même type d'effort. Kenyon et al. (2011) ont réalisé une étude sur les conséquences de l'ultra-marathon sur le chien (1600 kilomètres de course en continu effectuée en moins de 10 jours). Comme Wakshlag, il observe une augmentation de la CRP. Cette augmentation est associée à une

élévation de la ceruloplasmine, une diminution des quantités circulantes de fer, des protéines totales et de l'hématocrite. Les valeurs les plus basses de ferritine sont rencontrées chez les chiens n'ayant pas pu finir la course. Spoo et al. (2015) observent que cette augmentation de la CRP jusqu'à cinq ou six fois la valeur moyenne de base chez le chien est associée à une augmentation de la vitamine D sérique, contrairement à ce qui est observé chez l'athlète humain. Cette différence peut être liée à une plus importante lipomobilisation chez le chien.

Les impacts de la nutrition sur l'inflammation induite par l'effort n'ont à ce jour pas été étudiés chez le chien, contrairement à l'athlète humain où de nombreuses études ont été menées (Cruzat et al., 2014).

1.3. Pathologies et causes de diminution de la performance du chien de service

1.3.1. La déshydratation

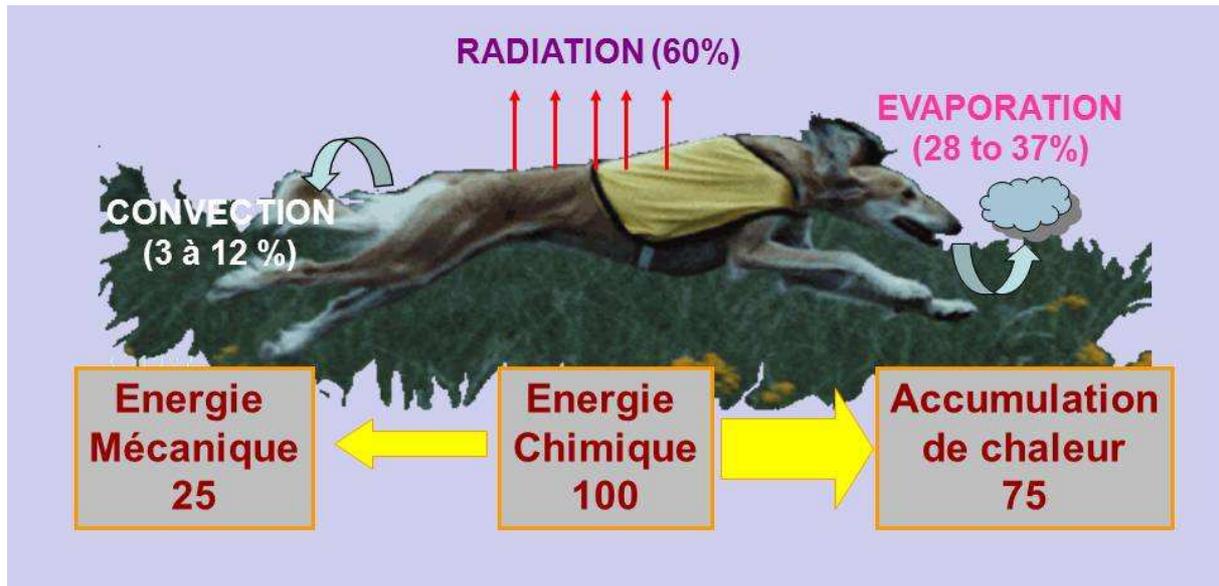
Lors de l'exercice physique, il est parfois difficile d'hydrater correctement le chien notamment dans les efforts d'endurance. Une étude (Wakshlag et al., 2004) s'est intéressée à la prévention de la deshydratation au cours d'une course de chiens de traîneau sur des étapes de 40 km parcourues en 2h30 environ. A la fin de la course, lorsque les chiens ne boivent que de l'eau, une augmentation de la natrémie, de la chlorémie, et de l'urémie suggèrent une légère deshydratation extracellulaire, sans conséquence clinique immédiate. Ces observations ont également été réalisées sur des chiens pratiquant l'agility, une course d'obstacle que le chien parcourt en environ 1 minute (Rovira et al., 2007).

La deshydratation extracellulaire est généralement inférieure à 5% lors d'effort court, et n'est pas détectable sans examens complémentaires. Cette deshydratation entraîne un risque augmenté d'atteinte du système musculo-squelettique, de « coup de chaleur » (hyperthermie d'effort), et peut aboutir à la mort si elle dépasse 15%. Elle a également des conséquences sur la production de cortisol qui augmente même lors d'un exercice modéré chez un chien hypohydraté (Wakshlag et al., 2004).

1.3.2. Le coup de chaleur d'exercice (hyperthermie d'effort)

Le premier déchet métabolique de la contraction musculaire est la chaleur car le rendement énergétique musculaire n'est que de 20 à 25%. Pour limiter l'hyperthermie à l'effort, environ 60% de cette chaleur est évacué par les voies respiratoires grâce à la polypnée induite par l'exercice (Young et al., 1959 ; NRC 2006).

Figure 5 : répartition des voies de thermorégulation chez le chien (Grandjean, 1993)



Le tractus respiratoire (figure 4) est en effet la voie prépondérante d'évacuation thermique chez cette espèce animale qui ne transpire qu'au niveau de ses espaces interdigués.

Le chien figure donc au rang des animaux les plus sensibles à l'hyperthermie d'effort (Hemmergan et al., 2013). Le chien de service est d'autant plus prédisposé à cette affection que la nécessité de travailler dans des régions chaudes et humides sans acclimatation, l'exposition à certains toxiques dans les aires de travail et notamment les organo-phosphorés, la deshydratation chronique liée au quotidien de la vie en chenil sont autant de facteurs prédisposant ou aggravant cette affection aux conséquences vitales. Cette polypnée thermique d'effort peut également être responsable de déséquilibre acido-basiques durant le travail, d'où l'intérêt évident qui existe à rechercher des pistes d'amélioration nutritionnelle des rendements énergétiques musculaires. Une étude (Kruk et al., 1987) apportant du glucose par voie intraveineuse à des chiens de race Beagle sur tapis roulant montre une diminution de l'hyperthermie induite par l'effort chez les chiens perfusés avec du glucose.

1.3.3. Les affections gastro-entérologiques

Les principales affections rencontrées sont les ulcères gastriques et les vomissements, ainsi que les diarrhées dites « de stress ». Chez le chien de traineau longue distance, des études endoscopiques ont révélées que 50 à 60% des chiens présentaient des lésions d'ulcères gastriques malgré l'absence de vomissements rapportée (Davis, 2003 ; Ritchey et al., 2011). Ces lésions sont également rapportées lors de courses de « sprint » (Davis, 2006), et chez le

chien militaire (Lumpkin et al, 1979). Elles apparaissent lors des périodes d'activité physique, et régressent spontanément lors des périodes de repos. L'exercice physique augmente également les fuites protéiques en partie proximale de l'intestin. Cette fuite protéique entraîne une inflammation chronique fragilisant la muqueuse digestive et pouvant entraîner des ruptures suraiguës et des cas de mort subite.

1.3.4. Les atteintes musculo-squelettiques

Une augmentation post-effort de la concentration des créatine-kinases (CK) est relevée dans plusieurs études (Hinchcliff et al., 1993 ; Burr et al., 1997 ; Hinchcliff et al., 1998 ; McKenzie et al., 2007). Elle est parfois associée à une augmentation des aspartates aminotransférases (AST), moins spécifiques du fait de leur production au niveau du foie et du muscle à l'effort (Burr et al., 1997). A ce jour, les études mettent en évidence que l'alimentation peut avoir un impact sur l'incidence de ces lésions :

- un taux de protéine faible dans l'alimentation augmente le nombre de chiens blessés au cours d'une course de chiens de traîneau (Kronfeld et al., 1981; Reynolds et al., 1999-tableau :)

- la supplémentation en vitamine E ne suffit pas à réduire l'émergence des lésions (Piercy et al., 2001).

1.3.5. La fatigue

Quelle que soit son origine, la fatigue entraîne une diminution de la performance voir même un arrêt complet de l'effort. Les origines sont physique (par accumulation de déchets, par carence en source d'énergie spécifique), ou mentale. Chez le chien, la fatigue d'origine métabolique par carence en substrat spécifique apparait impossible lors d'un effort d'endurance (Davis et al., 2009 ; Mc Clelland et al., 1994). Elle peut survenir lors d'un effort stimulant le métabolisme anaérobie. Une déplétion des réserves glyco-géniques associée à une augmentation de la lactatémie et de la glycémie a été rapportée dans plusieurs études (Lassen et al., 1986 ; Reynolds et al., 1997). Ce phénomène peut exceptionnellement être à l'origine d'hypoglycémie chez le chien de chasse.

La fatigue mentale n'a pas été étudiée chez le chien, contrairement à l'humain chez qui plusieurs hypothèses sont émises. A ce jour, elle existe indéniablement chez le chien, et correspond à un phénomène de démotivation.

1.3.6. Les atteintes du potentiel olfactif

Le potentiel olfactif du chien peut être altéré par une activité physique intense si l'entraînement physique et/ou la nutrition ne sont pas adaptés. La polypnée thermique entraînant un halètement exacerbé conduit l'air inspiré à shunter les voies nasales où se trouve déployée la muqueuse olfactive. Cette diminution entraîne des baisses de performance de travail, et une mauvaise efficacité opérationnelle du chien (Gazit et al., 2003). En effet, la polypnée réduit la fréquence de reniflement du chien et son intensité, ce qui limite le contact entre les molécules odorantes et les récepteurs olfactifs localisés sur la muqueuse olfactive. Altom et al. (2003) ont montré que la nutrition et l'entraînement physique affectent positivement les capacités olfactives canines. Un aliment contenant 60% des lipides sous forme d'acides gras saturés diminue ses capacités de détection de molécules explosives, comparativement à un aliment contenant seulement 28% de ces acides gras sous forme saturée. Cette observation est supposée être liée à une altération de l'épithélium olfactif, mais aucune biopsie n'a été menée dans cette étude pour confirmer cette hypothèse.

1.3.7. Les syndrômes de surentraînement

À la suite d'une série de mauvaises récupérations, des signes divers de surmenage peuvent apparaître chez le chien, tant physiques que psychiques ; ils constituent ce qu'il convient d'appeler le "surentraînement", dont les causes sont nombreuses :

- accroissement trop rapide de la quantité et de l'intensité des charges d'entraînement ;
- pression psychique trop forte pour le chien (propriétaire trop stressé) ;
- utilisation de méthodes et moyens d'entraînement trop exclusifs ;
- accumulation de compétitions en trop grand nombre, avec de trop brefs intervalles de récupération.

Tableau 6 : syndromes de surentraînement rencontrés chez le chien de sport ou d'utilité

Syndrome Basedowoïde [Sympathicotonique]	Syndrome Addisonoïde [Parasympathicotonique]
Fatigabilité facile	Fatigabilité facile
Hyperexcitation	Inhibition
Troubles du sommeil	Sommeil normal
Anorexie	Appétit normal
Perte de poids	Poids constant
Tachycardie	Bradycardie
Légère hyperthermie	Température normale
Récupération retardée	Récupération normale
Hyperpnée d'effort	Respiration normale
Tremblements	Incoordination motrice

Aucune publication n'existe sur le chien à ce sujet, bien que le syndrome soit largement décrit par les utilisateurs. Cliniquement, deux types de symptômes sont rapportés (tableau 6). Chez le chien, le plus fréquemment rapporté est le syndrome basedowoïde.

Chez l'homme, ce syndrome a été très étudié chez l'athlète (Purvis et al., 2010). Une alimentation inadaptée chez l'athlète est des facteurs de risque du surentraînement, en sus bien sûr de l'excès d'entraînement physique. Il a également été décrit chez le cheval de compétition (Golland et al., 2003).

1.4. La nutrition : élément essentiel de soutien de la performance

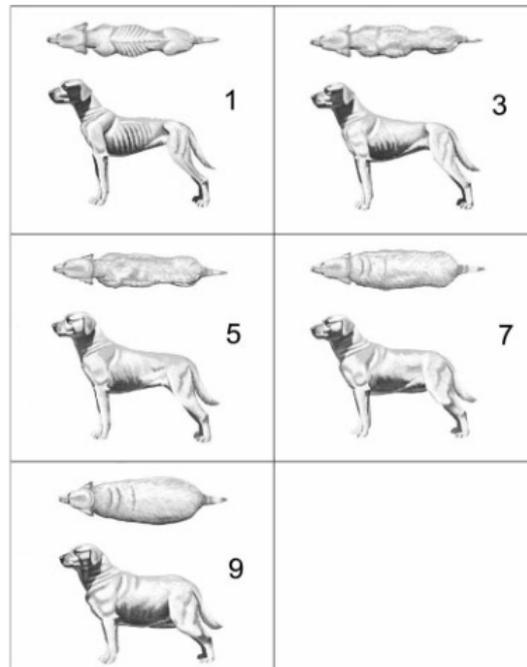
Que ce soit pour la fourniture d'énergie idoine (quantitativement ou qualitativement), par la nécessaire augmentation quantitative des apports protéiques, par la prise en compte des aspects relatifs à la sécurité digestive, ou par l'adaptation des apports en micronutriments et la gestion du stress oxydatif induit, l'aliment se doit d'être adapté à la typologie d'effort physique pratiqué par l'animal.

1.4.1. Exercice, note d'état corporelle et score musculaire.

La note d'état corporel est une mesure permettant d'évaluer l'adaptation de l'état d'embonpoint de l'animal à son gabarit. Cette échelle de 9 points (figure 6) permet d'évaluer grossièrement le pourcentage de masse grasse en observant et palpant un animal. La répétabilité intra et inter-opérateur a été évaluée par Laflamme (1997), et les corrélations avec le pourcentage de matière grasse de l'individu déterminées par l'utilisation d'un DEXA (Dual Energy X-Ray Absorption).

La note d'état corporel normale d'un chien actif doit osciller entre 4 et 5 sur cette échelle de 9, en prenant en compte les spécificités de l'activité du chien . Une autre échelle existe également, fonctionnant sur 5 points (AAHA, 2010). Une note de 3 sur une échelle de 5 correspond à une note de 5 sur une échelle de 9.

Figure 6 : Note d'état corporel du chien sur une échelle de 9 points (1 : chien cachectique ; 3 : chien maigre ; 5 : chien à l'état d'entretien ; 7 : gros chien ; 9 ; chien obèse)-
(Laflamme, 1997)

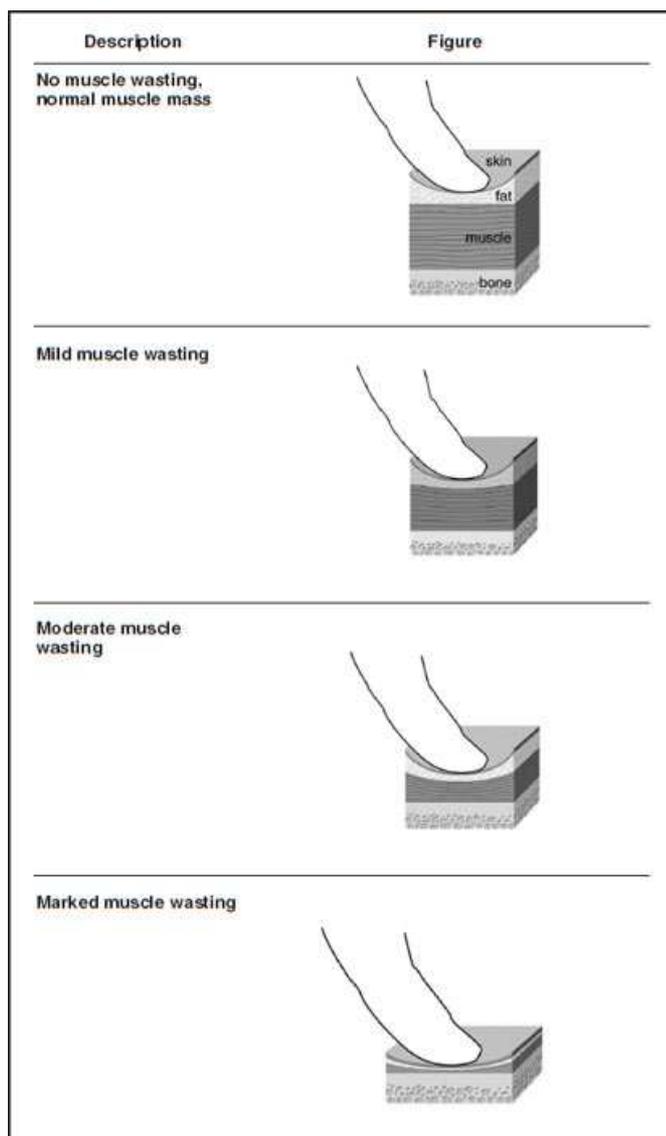


Avec une note d'état corporelle de 4 sur une échelle de 1 à 9, le chien a environ 8% de masse grasse, et à une note de 5 on se situe entre 12 et 13% de masse grasse, ce en fonction du sexe. Lors des évènements de longue durée, il est fréquent que les chiens perdent entre 1 et 2 points de note d'état corporel (Hinchcliff, 1998), ce qui justifie la recherche initiale d'une note d'état corporel supérieure ou égale à quatre. Pour les efforts de sprint, une restriction alimentaire et une note d'état corporel de 3.5 sur une échelle de 9 peut améliorer la performance de sprint chez le Greyhound de course (Hill et al, 2005).

Récemment, une approche par impédancemétrie a été proposée (Colliard, 2005) pour apprécier facilement le pourcentage de masse grasse et de masse maigre chez le chien. Toutefois, cette méthode n'a pas pu être validée en routine, les équations de prédiction des pourcentages dépendant du gabarit, de l'âge, et du sexe des chiens.

Une évaluation de la masse musculaire par un système de notation basée sur l'observation et la palpation des principales masses musculaires (masséters, ceinture scapulaire, zone vertébrale thoracique et lombaire, cuisse) a également été proposée (Michel et al., 2009 ; figure : 6). Le système de notation n'est cependant pas validé à ce jour car il ne permet d'apprécier que des pertes de masse musculaire importante, et présente une mauvaise répétabilité entre les opérateurs.

Figure 7 : score de masse musculaire (d'après Michel et al., 2009)



1.4.2. Les besoins quantitatifs

L'énergie est fournie au chien par les substrats énergétiques que sont les lipides, les carbohydrates, et les protéines. Les stocks dans l'organisme sont de 1% sous forme de glycogène (muscle et foie), 20% sous forme de lipides (musculaire et tissu adipeux), et de protéines (10% de l'organisme).

Les apports énergétiques alimentaires sont calculés en kilocalories (kcal), ou en kilojoules (kJ), 1kcal étant égal à 4,16 kJ dans le système international. L'énergie métabolisable est utilisée pour caractériser les apports énergétiques alimentaires dont sont déduites les pertes d'énergie via les urines, les selles, et les productions de gaz. La réglementation actuelle pour les aliments industriels impose de calculer la densité énergétique d'un aliment en utilisant le système « Atwater modifié » (Beitz, 2006 ; Kienzle, 2006):

- un gramme de protéine = un gramme de glucide = 3,5 kcalEM/g ;
- un gramme de lipide = 8,5kcalEM/g.

Cependant, ces valeurs peuvent être légèrement modifiées en fonction de la composition globale de l'aliment. En particulier, la présence de fibres présentes pour réguler la vitesse de transit des aliments et le microbiote intestinal entraîne une diminution de la digestibilité globale des nutriments énergétiques. Le « gold standard » pour évaluer la valeur énergétique d'un aliment est donc une mesure effectuée sur des chiens lors d'essais terrain.

Les besoins énergétiques du chien se calculent selon une formule éditée par le National Research Council (NRC). Le besoin énergétique quotidien d'entretien d'un chien évolue selon une formule exponentielle : $130 \times P^{0,75}$, où P représente le poids de l'animal exprimé en kilogramme. A cette formule s'appliquent des coefficients multiplicateurs en fonction de la race, du comportement (nervosisme, activité physique, environnement climatique), d'éventuelles pathologies et du statut physiologique du chien.

L'activité physique augmente le besoin énergétique en fonction de sa durée, et de son intensité. Chez le chien de service, elle entraîne donc une augmentation du besoin énergétique qui peut être quasi nulle (cas du chien d'assistance) ou monter à plus de cinq fois le besoin énergétique d'entretien pour un chien de recherche de personnes ensevelies lors d'un tremblement de terre (température extérieure et hygrométrie élevées, temps de travail quotidien de 12 heures), voire 8 fois ce besoin chez un chien de traîneau courant sur un ultra-marathon (Hinchcliff et al., 1997 ; Grandjean, 1998). Les conditions environnementales impactent également fortement le besoin énergétique (Hill, 2006; tableau 7).

Tableau 7: variations du besoin énergétique avec la température (d'après Hill, 2006)

Temperature moyenne (°C)	Besoin énergétique (kcalEM/kg ^{0,75})
-20	270
-15	255
-10	240
-5	225
0	210
5	195
10	180
15	165
20	150
25	165
30	195
35	210
40	225
45	240
50	255

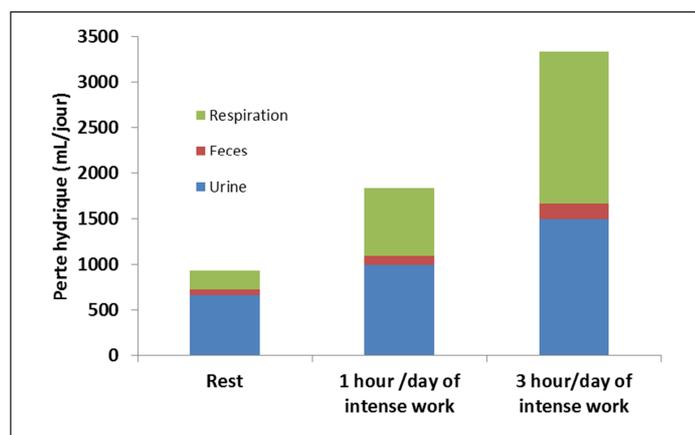
1.4.3. Le besoin qualitatif

1.4.3.1. Macronutriments : rôles et besoins chez le chien d'utilité

1.4.3.1.1. L'hydratation

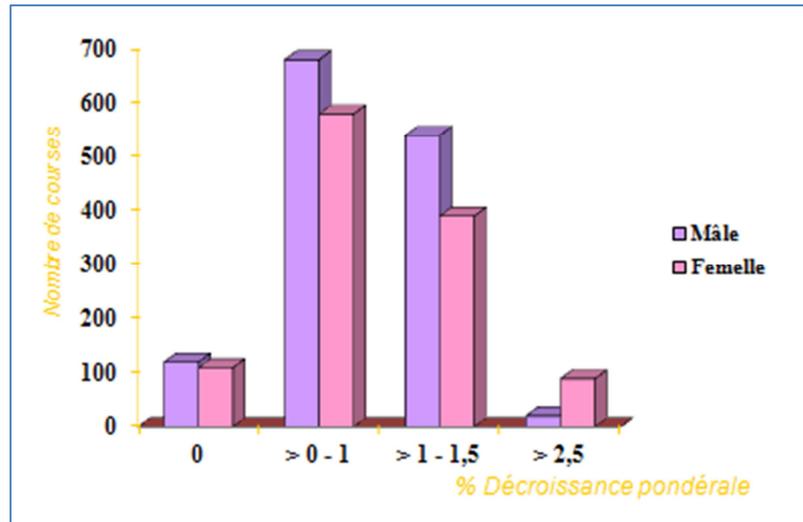
L'eau est le plus important des nutriments : sans eau, un chien décède, comme n'importe quel autre organisme supérieur, en quelques jours. Elle est un solvant indispensable pour transporter les nutriments, cellules circulantes, ou les déchets, joue un rôle mécanique pour absorber les chocs et lubrifier les membranes cellulaires, et est un élément majeur de la thermorégulation. L'eau constitue environ 70% de l'organisme d'un chien adulte, répartis entre le milieu intracellulaire (64%), et extracellulaire (22% dans les espaces interstitiels, 7% dans l'espace intravasculaire, et 7% dans les liquides transcellulaires). Au repos, les besoins en eau sont estimés à 50 mL/kg/jour. Lors d'un effort physique prolongé, les besoins en eau peuvent être multipliés par 5 ou 6 (figure 8), en particulier lorsque les températures extérieures sont élevées, en cas de température froide associée à un environnement sec ou lors d'un travail en altitude (Convertino et al., 1980 ; Ahlstrom et al., 2006 ; Wortinger, 2007).

Figure 8 : besoin en eau pour un chien de 20kg dans des conditions de neutralité thermique (15°C ; hygrométrie=20%).



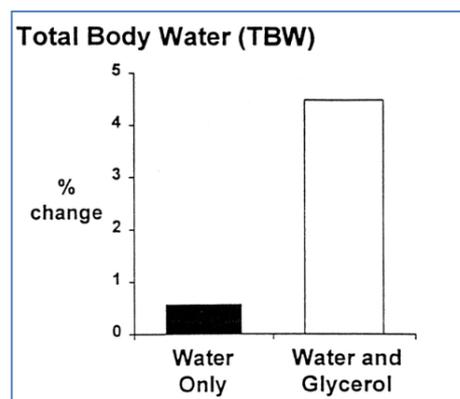
A l'effort, les pertes d'eau à l'effort sont augmentées au niveau du tractus respiratoire par évaporation, du tractus urinaire, et du tractus digestif (pertes salivaires et possiblement diarrhéiques de stress). Les pertes en eau sont également accrues sous l'effet du stress (salivation exacerbée lorsque le chien est en excitation d'attente de sa période de travail) comme en atteste le travail effectué sur 2552 courses de lévriers (Blythe et al., 1986- figure 9).

Figure 9 : perte de poids chez le Greyhound durant la période d'attente avant la course (Blythe et al., 1986)



Le chien buvant peu pendant l'effort, l'utilisation possible de glycérol a été évaluée (Reynolds, 2001). Cette molécule contenant 3 résidus hydroxyles constitue un liquide visqueux et inodore au goût sucré, et a des propriétés hyper osmotiques favorisant l'hyperhydratation (Wagner et al., 1999) en particulier intracellulaire. En médecine sportive humaine, les effets de cette hyperhydratation pré-effort sont controversés selon les études, et les résultats dépendent grandement de la méthodologie utilisée. Chez le chien, l'étude menée par Reynolds (2001) a été réalisée par adjonction de 1g/kg PV de glycérol administré 3 heures avant un effort physique. Immédiatement avant effort, une différence significative d'hydratation est observée (figure 10) avec une hydratation augmentée de 3,5% supplémentaire dans le groupe consommant eau + glycérol par rapport au groupe consommant uniquement de l'eau.

Figure 10 : effet de l'ingestion de glycérol sur l'état d'hydratation du chien (Reynolds, 2005) avant effort. La mesure compare l'état d'hydratation 30 minutes avant l'ingestion d'eau ou eau + glycérol, et celui obtenu 30 minutes après la procédure d'hydratation.



Après une période de 3 jours d'exercice physique intense et consommation quotidienne de 1g/kg pv de glycérol dans 1 litre d'eau, l'hyper-hydratation persiste. L'augmentation des créatine-kinases musculaires est limitée en post-effort chez ces chiens. L'action supposée du glycérol passe par une diminution des pertes hydriques urinaires suite à une augmentation de la production d'hormone anti-diurétique. Cependant, cette pratique peut avoir des effets secondaires si la concentration de glycérol administrée est trop élevée (Zurovsky et al., 1994) : augmentation de la taille des cellules, et risque d'insuffisance rénale aigüe. Aucun effet secondaire n'a été observé chez le chien à dose plus faible.

1.4.3.1.2. Les lipides

Dès lors que l'exercice physique dure plus de quelques minutes, les lipides constituent la source d'énergie principale pour l'effort musculaire. Ils sont également un moyen d'augmenter l'appétence d'une ration chez le chien (Toll et al., 2000), et en apportant 8,5 kcalEM/g, ils assurent une densité énergétique deux fois supérieure à celle des glucides ou des protéines et permettent de limiter le volume du bolus digestif. De plus, leur forte appétence est essentielle au maintien de l'appétit chez un chien fatigué, lequel dans ce cas tend à devenir anorexique. Chez le chien de traineau longue distance, le besoin énergétique quotidien est de 6000 à 12000kcal/ jours alors que la capacité d'ingestion de matière sèche n'est que de 3,5% du poids corporel (Burrows, 1997). Les lipides sont alors essentiels pour apporter à l'animal la quantité d'énergie dont il a besoin.

Plusieurs études ont montré que les régimes hyperlipidiques chez le chien permettent d'améliorer l'endurance chez le chien en augmentant la disponibilité des acides gras libres plasmatiques (Kronfeld et al., 1977 ; Grandjean, 1983 ; Reynolds et al., 1994). Les chiens nourris avec un aliment hyperlipidique présentent un taux d'acides gras libres plasmatiques plus élevés au repos que ceux nourris avec un aliment iso-énergétique plus riche en carbohydrates. De plus, l'augmentation des acides gras libres plasmatiques lors de l'effort est plus intense chez les chiens nourris en ration hyperlipidique. Cette différence pourrait être à liée à une insulïnémie plus basse chez les animaux nourris avec un aliment hyperlipidique, et ainsi favoriser la lipolyse. Plus récemment (Reynolds et al., 1996), une étude a montré que cette augmentation du taux d'acides gras plasmatiques libres circulant était associée à une augmentation de la VO₂max chez le chien. Il observe également une augmentation de la taille et de la densité des mitochondries dans les cellules musculaires des chiens ainsi nourris. Chez le Beagle, il a été montré par Downey et al. (1980) que les capacités d'endurance étaient très augmentées avec un aliment hyperlipidique. Les tolérances aux lipides chez le chien sont très

importantes dès lors que les graisses sont intégrées progressivement dans la ration, et le chien de traineau peut sur de courtes périodes accepter des rations contenant jusqu'à 80% de l'énergie métabolisable sous forme de lipides (Grandjean, 1983). La perte d'appétit, et une stéatorrhée indiquent que les capacités maximales de tolérance de la matière grasse sont atteintes. Cependant, un régime hyperlipidique extrême (60 à 80% de l'énergie métabolisable sous forme de lipides) peut conduire à une anémie progressive entraînant des baisses de performance (Kronfeld, 1989), ainsi qu'à un taux élevé d'atteintes du système musculo-squelettique, s'il est maintenu plus de 4 semaines.

Toutes les sources de matières grasses ne sont pas équivalentes. Les acides gras peuvent être saturés ou insaturés, et présentent un nombre de carbones variables (acides gras à chaîne courte, moyenne, ou longue). Chez le chien, au moins 2% de l'énergie métabolisable doit être apportée sous forme d'acides gras essentiels (acide linoléique de la série $\omega 6$ et acide alpha-linolénique de la série $\omega 3$). Le rapport ($\omega 6/ \omega 3$) entre ces deux acides gras essentiels est habituellement de 5 :1, mais il peut être intéressant de le réduire à 3 :1 lors d'un effort physique, afin de bénéficier des effets anti-inflammatoires des $\omega 3$ (Bauer et al., 2006). Cette supplémentation est largement utilisée chez les sportifs dans d'autres espèces telles que le cheval (Hess et al., 2012), ou l'Homme (Mickleborough et al., 2013). Une étude menée chez les chiens de recherche d'explosifs a montré que ces acides gras insaturés sont également essentiels au bon fonctionnement de la muqueuse olfactive du chien (Altom et al., 2003)

Les acides gras à chaîne courtes et moyennes sont peu utilisés chez le chien de par la faible appétence des sources disponibles (huile de coprah, huile de coco). Cette source de matière grasse présente néanmoins des intérêts car la digestion est passive et ne nécessite pas l'intervention des sels biliaires (Kronfeld et al., 1981), que le transport se fait directement au foie sans passage par le système lymphatique, et parce que leur bas poids moléculaire facilite l'action de la lipase pancréatique. De plus, lors d'un effort physique, ils ne nécessitent pas de transport faisant appel à la L-carnitine membranaire mitochondriale (Groot et al., 1973).

1.4.3.1.3. Apports protéiques

Les apports en protéines ont été très étudiés chez le chien actif, l'anabolisme et le catabolisme protéique étant augmentés du fait d'un accroissement du renouvellement du tissu musculaire, de la synthèse augmentée de protéines plasmatiques, et de l'augmentation de la quantité d'enzymes circulantes (Reynolds et al., 1999). Elles permettent d'apporter des acides aminés dont dix seulement sont essentiels chez le chien (histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, threonine, tryptophane, valine), incluant des acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine), la leucine étant parmi ceux-ci la plus importante chez le

chien (Mero, 1999). Après un exercice aérobie, les concentrations circulantes de leucine diminuent de 11 à 33% ; la diminution n'est que de 5 à 8% pour un exercice anaérobie. L'étude ne s'est pas intéressée à la diminution des autres acides aminés ramifiés.

Les sources de protéines peuvent être d'origine animale ou végétale, bien que l'utilisation d'une source unique de protéines d'origine végétale entraîne un risque de carence effective notamment en acides aminés essentiels (lysine essentiellement). La méthode actuelle de référence pour évaluer les apports protéiques chez le chien se base sur le dosage de Kjeldhal. Le taux d'azote est mesuré dans l'aliment, ce qui permet d'évaluer la quantité de protéines dans celui-ci en multipliant le taux d'azote par 6,25 (une protéine contient en moyenne 16% d'azote). Cependant, cette méthode ne donne aucune indication sur la digestibilité des protéines ingérées, ni sur leur valeur biologique et ne permet donc pas de connaître précisément la quantité utile au chien. Actuellement, pour évaluer ce besoin, des études de bilans azotés sont réalisées comparant azote ingéré, et azote retenu. Une étude récente (Zanghi et al., 2015) a utilisé des amino-acidémies pour évaluer l'assimilation des acides aminés dans son supplément nutritionnel, ce qui permet de mieux estimer la valeur biologique des protéines. Ces dernières méthodes ne permettent cependant pas de prendre en compte l'utilisation réelle de ces aminés par l'organisme.

Un taux de protéines suffisant aide à maintenir la masse musculaire (et la développer pendant la période d'entraînement), ainsi que les teneurs en protéines circulantes ou apparentés (notamment les protéines, l'albumine, l'hématocrite). Ces besoins sont augmentés chez le chien actif par rapport au chien en simple entretien par une augmentation combinée de la synthèse protéique tissulaire (anabolisme) et du catabolisme (Young et al., 1962, Davis et al., 2014). Les études menées chez le chien de traineau ont permis d'évaluer que les protéines doivent représenter 30% de l'apport quotidien en énergie métabolisable, ce qui impose un ratio protido-calorique (RPC) de 70 à 80 (70 à 80g de protéines pour 1000kcal EM). Chez le chien de traineau de courte distance (sprint de 30km) quatre niveaux protéiques dans un aliment isocalorique ont été comparés (Reynolds et al., 1999) : un aliment contenant 18% de son énergie métabolisable sous forme de protéines (18% EMprot), un contenant 24% EMprot, un contenant 30% EMprot et un contenant 36% EMprot. Après 12 semaines d'entraînement physique, 6 des 8 chiens consommant l'aliment contenant 18% de l'énergie métabolisable sous forme de protéines ont présenté des atteintes du système musculo-squelettique, et une diminution de 25% de leur VO_2 max. Les chiens consommant l'aliment le plus riche en protéine ont eu une augmentation de 10% du volume plasmatique circulant. Une corrélation linéaire positive est observée entre le taux de protéines, l'hématocrite, la concentration corpusculaire en hémoglobine, et le volume total plasmatique. Une autre étude

(Querengaesser et al., 1994) a comparé des aliments contenant 28 à 34% EMprot sur une période de 6 mois. L'ensemble des groupes a présenté une diminution de l'hématocrite. La seule différence observée est une augmentation significativement plus importante de l'urée en post-effort chez les chiens consommant 34% de protéines.

Ces augmentations quantitatives des apports en protéines sont associées à une adaptation du type de protéines utilisées et notamment de leur profil en acides aminés essentiels. Cet élément n'a pas été étudié chez le chien sportif (Wakshlag, 2014), alors qu'il l'est chez l'humain pour qui il est recommandé que 50% de la ration protéique soit composée d'acides aminés essentiels (Rodriguez et al., 2009). Il est néanmoins néfaste d'apporter une part de protéines supérieure à 1,5g/kg de poids (jusqu'à 2g/kg pour certains sports de force) pour la performance. Ces apports sont à adapter au type d'effort pratiqué sur un plan quantitatif et qualitatif. Une approche plus fine des apports en acides aminés indispensables demeure à envisager pour le chien de service et de sport.

1.4.3.1.4. Glucides digestibles: amidons et sucres

Les carbohydrates ne sont pas considérés comme des nutriments essentiels chez le chien, car en dehors des périodes de gestation et de la période néonatale, la néoglucogenèse suffit à produire du glucose en quantité suffisante pour maintenir la glycémie (Kronfeld et al., 1977 ; Hammel et al., 1977), caractéristique propre au carnivore.

Cependant, lors d'un effort court et intense, des études ont été menées sur le lévrier de course et montrent qu'en une course de 800m, celui-ci consomme environ 70% de ses réserves musculaires de glycogène (Dobson et al., 1988; Rose et al., 1989). Aucune étude ne s'est pour le moment intéressée aux effets d'un aliment très riche en glucides pour ces athlètes de type sprinter. Chez le lévrier de course, un premier travail a comparé un aliment riche en glucides (Toll et al., 1992) à un aliment riche en lipides. L'aliment contenant 34% de l'énergie métabolisable sous forme de lipides, et 44% de l'EM sous forme de glucides, a permis un gain de 0,3 secondes au tour de piste (500 mètres) par rapport à un chien nourri avec un aliment hyperlipidique (75% de l'EM fournie par les lipides, et 8% de l'EM fournie par les glucides). L'amélioration de la performance fut obtenue à partir de la 5^{ème} semaine de consommation de l'aliment plus riche en glucides. Une seconde étude (Hill et al., 2001) comparait un aliment enrichi en graisse (38,2% de l'EM fournie par les lipides, 38,8% de l'EM fournie par les glucides), et un aliment enrichi en glucides (27,1% de l'EM sous forme de lipides, 52,1% sous forme de glucides). L'aliment riche en graisse donne dans cette étude

un avantage de performance de 0,2 secondes à l'animal le consommant (32,9 +/-0,7sec pour l'aliment plus riche en graisses et 33,1 +/-0,6 secondes pour l'aliment plus riche en glucides).

Durant les efforts d'endurance, en prenant comme modèle le chien de traîneau, Reynolds (1996) a montré que la consommation d'un aliment riche en carbohydrates (65% de l'énergie métabolisable apportée par des glucides) augmentait le stockage hépatique du glycogène, mais augmentait également la consommation des réserves de glycogène durant l'effort au détriment de l'oxydation des réserves lipidiques.

1.4.3.1.5. Les fibres

Pour l'espèce canine, la fibre alimentaire totale (on parle chez l'animal de cellulose brute, composant analytique faisant l'objet d'une mention obligatoire sur les étiquettes d'aliments) regroupe les fibres insolubles et les fibres solubles. La notion de solubilité dépend de la solubilité des fibres dans le chyme intestinal, ce qui recouvre en grande partie les notions respectives de non fermentescibilité et de fermentescibilité. La fibre totale induit une augmentation du volume du bolus alimentaire, et diminue la digestibilité réelle de l'aliment en accélérant la vitesse de transit digestif, et en augmentant le volume fécal. Cependant, une répartition optimale de la proportion de fibre solubles par rapport à la proportion de fibres insolubles permet de réguler la vitesse de transit digestif. De plus, les fibres demeurent indispensables pour maintenir un équilibre microbien adapté, ce qui les rend intéressantes pour réduire l'incidence des diarrhées de stress du chien actif. La production d'acides gras volatiles à partir des fibres fermentescibles favorise la régénération des colonocytes, et acidifie le milieu, permettant une moindre multiplication des bactéries pathogènes au niveau du colon (Gagne et al., 2013 ; Wakshlag et al., 2010).

Ainsi, les aliments complets dédiés aux chiens actifs contiennent en moyenne 2% de leur énergie métabolisable sous forme de fibres solubles, incluant des gommes, des fructo-oligosaccharides, de la pulpe de betterave (laquelle est particulièrement bien équilibrée entre fibres solubles et insolubles). L'augmentation du taux de fibres insolubles va faire chuter la qualité des scores fécaux en augmentant l'humidité des fèces (Beloshapka et al., 2011). Pour compléter les apports chez les chiens présentant fréquemment des diarrhées osmotiques en post-effort immédiat, l'ajout de psyllium à raison de 0.2 à 0.8g/kg a montré une efficacité (Lieb et al., 2000) chez le chien de traîneau. La graine de psyllium (graine de graminée fourragère) génère en milieu intestinal un mucilage possédant des capacités importantes de rétention d'eau, et se révèle également modérément fermentescible dans l'intestin, d'où son intérêt. Signalons enfin l'incorporation possible de mannanoligosaccharides, qui ajoutent à leurs qualités de fibres fermentescibles des vertues démontrées d'amélioration des capacités

immunitaires de la muqueuse digestive, ainsi que la possible valorisation alimentaire de probiotiques (lactobacilles) en supplémentation, lesquels sans coloniser le tube digestif contribuent au non développement des flores alcalinophiles pathogènes.

1.4.3.2. Les micronutriments

1.4.2.2.1. Les minéraux majeurs et mineurs

Concernant les minéraux à fournir dans l'alimentation, les travaux spécifiques à la situation demeurent encore assez limités chez le chien. Il apparaît néanmoins nécessaire de différencier l'approche concernant l'effort court, et l'effort long, et de prendre en compte le format du chien en cause.

Ainsi, le calcium voit ses apports légèrement accrus par rapport au strict besoin d'entretien chez le chien pratiquant un effort bref ou de durée moyenne, afin de prévenir les processus osteofibrotiques fréquents chez le chien de sport. Néanmoins, il est nécessaire de s'en tenir au respect de normes strictes afin de ne pas accroître les risques d'osteocondrose. Par ailleurs, les régimes riches en graisse mis en œuvre chez le chien faisant des efforts longs peuvent stimuler les pertes fécales en magnésium et en calcium, par saponnification dans le milieu intestinal. Il apparaît donc nécessaire d'adapter la teneur en calcium dans l'aliment en fonction de sa teneur en matières grasses. Les actuelles recommandations sont donc (Kallfetz et al., 2006) :

- exercice court : Ca= 250 à 300mg/kg (3,2-4g/1000kcalEM) et P=190-240mg/kg (2,5-3g/1000kcal EM) ;
- exercice intermédiaire : Ca=300-400mg/kg (3,5-4g/1000kcal EM) et P= 200-250 mg/kg (2,7-3,1g/ 1000kcal EM) ;
- exercice d'endurance prolongée : Ca= 400-500 mg/kg (4-5 g/1000kcalEM) et P=200-300mg/kg (2,7-3,1g/1000kcal EM).

Concernant le magnésium, cation indispensable de l'activation cellulaire de nombreux systèmes enzymatiques, les modifications touchant à la magnésémie durant l'activité physique dépendent du type de métabolisme en cause, et de la durée de l'effort. Un effort long (traîneau, chasse, recherche...) conduit à une diminution de la magnésémie (Berg, 1977 ; Grandjean, 1983 ; Grandjean et al., 1985). Cette dernière se révèle physiologiquement importante car elle affecte la fraction libre du magnésium plasmatique (Usher et al., 1980), laquelle concerne environ 65% du magnésium total circulant.

Le magnésium qui quitte le secteur plasmatique est capté par les hématies, les cellules musculaires et surtout les adipocytes. Compte-tenu de l'inexistence de réserves organiques labiles en magnésium, cette hypomagnésémie post-effort peut conduire à l'apparition clinique

de spasmes musculaires parfois tétaniformes chez le chien ayant subi une lipolyse intense (Wolter, 1989). Un relèvement des niveaux d'apport alimentaire en magnésium apparaît donc nécessaire chez le chien de service pour éviter les éléments suivants:

- diminution de l'endurance et de la résistance ;
- moindre accoutumance à la chaleur et au froid ;
- chute de motivation au travail ;
- modification de l'excitabilité neuro-musculaire ;
- asthénie associée à des crampes ;
- laxité ligamentaire.

Les fabricants d'aliments spécialisés ont depuis de nombreuses années introduit cette notion dans leur formulation.

Le chlorure de sodium doit rester limiter dans ses apports aux besoins d'entretien (Young et al., 1960). En effet, la consommation de sel, comme cela peut se faire dans des espèces perdant des minéraux par transpiration, induit rapidement des diarrhées osmotiques comme l'a montré une étude conduite sur le chien de recherche de personnes égarées (Mazin et al., 2001). Des symptômes plus graves incluant une deshydratation intracellulaire et des collapsus ont également été observés lors de distribution à un chien de solutions hydroélectrolytiques à finalité rehydratante destinées au cheval ou à l'homme.

Les oligoéléments n'ont pas été étudiés spécifiquement chez le chien actif. Ils sont apportés en quantité augmentée par rapport à ceux d'un chien à l'entretien. Une attention particulière est portée sur les oligoéléments suivants :

- fer, qui contribue à prévenir les processus anémiques, en évitant tout excès et en l'apportant sous forme chélatée (forme d'apport organique), afin d'éviter l'action abrasive des sels minéraux de fer sur la muqueuse colique ;
- cuivre, améliorant la solidité des trames osseuses et cartilagineuses, également essentiel dans la prévention de certaines anémies ;
- zinc, qui participe à la contraction musculaire et est le métal actif de la lactate deshydrogénase (LDH) et de la protéine de transport plasmatique de la vitamine A (Retinol Binding Protein) ;
- iode, qui active la fonction thyroïdienne et peut contribuer à prévenir les myodystrophies ;
- sélénium, qui maintient l'intégrité de la cellule musculaire en association avec la vitamine E, face au phénomène de stress oxydatif cellulaire.

1.4.2.2.2. Vitamines

Les besoins en vitamines sont de manière générale augmentés pendant les efforts physiques. Deux types de vitamines existent: hydrosolubles, et liposolubles. Elles ont par définition des fonctions indispensables au maintien de l'homéostasie et au déroulement des réactions chimiques émergeant durant l'exercice physique. Peu de données sont actuellement disponibles sur les besoins exacts en vitamines des chiens actifs.

Concernant les vitamines hydrosolubles, et notamment les vitamines du groupe B, elles sont en général en quantité deux à trois fois supérieure aux minimums souhaités dans les aliments commerciaux (Morris, 2006).

Une augmentation des apports en vitamines A, E, et C est conseillée pour pallier à la plus forte consommation de celles-ci afin de lutter contre le stress oxydatif induit. Les vitamines A et E s'accumulent dans le tissu adipeux, il existe un risque d'excès lors de surdosage. Des excès de vitamines A ont été décrits en particulier sur les chiens consommant une grande quantité d'abats très riches en vitamine A (Morris et al., 2006) , les chiens en croissance et les chiennes gestantes étant plus sensibles à ce surdosage. Le chien au repos n'a pas de besoin spécifique en vitamine C, laquelle est synthétisée au niveau hépatique. Cependant, une diminution de la vitamine C circulante au cours de l'exercice physique a été mise en évidence chez le chien de traîneau (diminution de 50% après 190 minutes de course- Kronfeld et al., 1989), et le lévrier de course pour lequel les valeurs post-course diminuent à 1.8-2.8mg/L pour une valeur basale de 6mg/L (Scott et al., 2002). La concentration plasmatique circulante en vitamine C varie cependant énormément en fonction de la race, du sexe, et des études. Chez le Greyhound, une dose unique de un gramme d'acide ascorbique administrée le jour de la course per-os ou en injection intraveineuse permet de maintenir une concentration normale après effort. Cependant, la consommation de un gramme d'acide ascorbique par jour pendant 4 semaines a entraîné une diminution de la performance chez le lévrier de course de type Greyhound (Marshall et al., 2002).

Concernant la vitamine E, des carences ont été observées chez le chien de chasse nourris avec une ration ménagère, conduisant à une dégénérescence rétinienne (Davidson et al., 1998). Chez le chien de traîneau de longue distance (180km/jour), une diminution de la vitaminémie E pendant la course est observée. Des taux de vitamine E circulante bas sont associés à un risque plus élevée d'échec à finir une course d'endurance (Piercy et al., 2010). Chez le lévrier de course, une diminution de la vitamine E après une course de 500m est également observée (Scott et al., 2001).

1.4.3.2.1. Les aides ergogènes d'effort

Ce terme utilisé par Fox (1984) inclut les substances, méthodes ou techniques qui augmentent ou sont susceptibles d'augmenter la performance physique, à l'exception de l'entraînement. Par analogie restrictive, nous entendons par « soutien nutritionnel ergogène » toute substance ou molécule non médicamenteuse, non encore classiquement introduite dans les aliments complets spécialisés, mais assimilable pour la plupart à un nutriment. Ce terme sous entend donc les notions d'innocuité, d'efficacité, et d'amélioration de l'optimisation de la performance et/ ou de récupération dans des conditions d'utilisation spécifique. L'objectif de ces molécules est de favoriser les processus métaboliques.

Nous ne reviendrons pas sur les aides ergogènes provenant de vitamines (A, E, C, et vitamines du groupe B) ou acides gras de type omega-3 décrits précédemment. La plupart de ces substances sont intégrées dans des compléments nutritionnels, dont la mise sur le marché est mal contrôlée, ce qui peut entraîner un risque de dopage involontaire. Les intérêts potentiels ou démontrés sont présentés figure 11.

- L-Carnitine

La carnitine est un acide-aminé non essentiel (condensation de la L-lysine, et de la L-méthionine) permettant le transport des acides gras au travers de la membrane mitochondriale. Elle peut donc lors d'un travail en condition aérobie devenir un facteur limitant du travail musculaire (Combrisson et al., 1983). Hors condition d'effort, la synthèse de carnitine par l'organisme semble facilement assurée à partir d'autres acides aminés (lysine et méthionine), et en présence de cofacteurs que sont le fer et les vitamines PP, B et surtout C.

Étant un di-acide aminé, la carnitine se présente sous deux formes biologiques : L.carnitine et D. carnitine ; seule la forme L (levogyre) est physiologiquement active, tandis que la forme D (dextrogyre) se positionne en inhibiteur par compétition de la L.carnitine. En cas de valorisation nutritionnelle, cette dernière sera donc préférée au mélange racémique de D.L.carnitine qui de fait ne revêt aucun intérêt physiologique.

Chez le chien, il semble bien qu'en certaines circonstances la carnitine puisse devenir facteur limitant, par exemple lors d'exercices longs, d'intensité sub-maximale, durant lesquels le glucose pourrait être facilement utilisé en lieu et place des acides gras libres plasmatiques, alors même que ceux-ci sont encore disponibles.

Concernant les apports nutritionnels de L.carnitine à fournir chez le chien de sport, une dose orale de 500 mg/ 10 kg de poids corporel semble optimale sur la base d'essais de terrain conduits sur chien de traîneau (Grandjean et al., 1977 ; Grandjean et al., 1993) .

- **Diméthyl glycine**

Le N.N.Diméthyl Glycine (DMG) constitue le principe actif de l'acide pangamique, encore appelé vitamine B15, dans laquelle il se trouve associé à de l'acide gluconique. Intriqué dans le métabolisme des molécules à groupement méthyl, le DMG est utilisé comme supplément nutritionnel chez l'athlète afin de réduire la dette lactique et de retarder la sensation de fatigue en améliorant le stockage des phosphagènes dans le muscle, diminuant la production de lactates, abaissant la lactatémie post effort. Cela étant, globalement, les résultats obtenus restent contradictoires ; une part de ces distorsions peut s'expliquer par l'hétérogénéité chimique des préparations commerciales de vitamine B15, qui ne facilite guère la répétabilité des essais et leur interprétation. Une certaine prudence doit en tout état de cause être de règle dans la mesure où certains des composants, lorsque le produit n'est pas purifié, peuvent s'avérer néfastes (dichloracétate et d.gluconodiméthyl-aminoacétate). Des résultats intéressants semblent cependant pouvoir être obtenus par une supplémentation en DMG purifié chez l'athlète canin, au travers d'une élévation du seuil anaérobie.

Chez le chien, une étude australienne conduite par Gannon et al. (1982) sur des lévriers de course a permis de comparer les temps de course sur des distances de 510 ou 720 mètres, sans puis avec supplémentation orale en DMG (0,8 mg/kgPV, 2 fois par jour), ou avec supplémentation en DIPA (dichloracétate de diisopropyl-ammonium; 1,5 mg / kgPV en une prise quotidienne). Les temps mis pour couvrir la distance la plus courte furent proches de 31 secondes et s'améliorèrent de 0,1 à 0,2 seconde sous DMG, et de 0,13 à 0,30 seconde sous DIPA. Sur la distance la plus longue, le temps moyen fut de 45 secondes, avec une amélioration de 0,1 à 0,3 seconde sous DMG et de 0,12 à 0,30 seconde sous DIPA. Aucune différence ne fut observée aux 200 mètres, confirmant en cela que DMG et DIPA sont sans effet sur les phosphagènes. L'amélioration de performance obtenue étant la même sur 30 et 45 secondes, il en ressort que DMG et DIPA favorisent l'oxydation du pyruvate provenant du glycogène musculaire plutôt que celle du glucose sanguin.

Cette observation, bien qu'intéressante, ne permet pas d'autre conclusion scientifique, dans la mesure où les données concernant l'entraînement en particulier ne sont pas précisées. On peut en retenir l'intérêt du DMG à la dose orale quotidienne de 1,5 mg/ kg PV lors d'efforts anaérobies ou aéro-anaérobies.

- **Inosine**

Substance inotrope précurseur d'AMP, d'ADP et d'ATP, l'inosine est un cardiotonique qui, du fait de l'existence de récepteurs myocardiques spécifiques, possède des propriétés particulières. Des études conduites sur l'activité métabolique de l'inosine apportée de manière

exogène à la cellule myocardique ont montré que l'inosine stimule la captation du glucose, active les processus de phosphorylation, favorise la voie des pentoses normalement très limitée dans la cellule myocardique, catalyse la lactate déshydrogénase vers la voie normale du cycle de Krebs et évite ainsi l'anoxie initiée par l'accumulation d'acide lactique, active l'apport d'oxygène au myocarde par action sur le 2-3 diphosphoglycérate érythrocytaire, intensifie l'activité de la chaîne respiratoire par multiplication des crêtes mitochondriales.

Une étude expérimentale (Sarret, 1991) montre que l'administration orale d'inosine, pendant les dix jours précédant une épreuve, à une dose de 10 mg/kg, n'améliore pas les qualités d'endurance du chien, mais augmente la capacité de récupération chez l'animal non entraîné.

- **Superoxyde Dismutase**

D'apparition récente sur le "marché" de la diététique sportive, la superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme génératrice de peroxydes d'hydrogène utilisés par la glutathion peroxydase pour reconvertir le glutathion réduit. On la trouve en quantité importante dans les globules rouges et les cellules musculaires. L'intérêt d'une supplémentation orale en SOD apparaît réel à la condition que celle-ci ne soit pas détruite dans l'estomac du chien, dont le pH est particulièrement acide. L'UMES (Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport) a conduit plusieurs actions de recherche (essais non publiés, 1997) visant à démontrer l'intérêt d'une supplémentation nutritionnelle en Superoxyde Dismutase "vectorisée", composé naturel extrait du melon qui, grâce à son couplage aux gliadines du melon, ne subit aucune dégradation gastrique et peut donc être absorbée normalement. A la posologie quotidienne de 15 à 20 mg par kilogramme de poids corporel, la SOD vectorisée pourrait constituer un élément majeur de la prévention du stress oxydatif d'effort.

Il est néanmoins intéressant de constater que le niveau d'activité biologique de la SOD est étroitement corrélé aux apports alimentaires en cuivre, lesquels sont eux-mêmes fortement dépréciés par chute de digestibilité dès lors que la ration est enrichie en calcium. L'excès calcique est donc susceptible de diminuer l'activité de la SOD ; il en résulte alors la nécessité d'adapter l'apport cuprique.

- **Chondroïtine sulfate et glycosaminoglycanes**

Dérivés polymérisés de l'acide glycuronique, constituant fondamenta du cartilage, ces éléments extra nutritionnels font, depuis quelques temps, l'objet d'importantes recherches chez le chien. Il s'agit en fait de molécules qui, sont intégrées à la matrice cartilagineuse où elles

subissent un turn-over (remplacement) permanent, à partir d'un pool intra-articulaire contenu dans le liquide synovial, et d'un pool extracellulaire qui circule au niveau sanguin.

Les plus utilisés sont (Wakshlag et al., 2014). La chondroïtine sulfate, les glycosaminoglycanes polysulfatés, ou certains "mélanges" naturels plus complexes issus de la moule verte (*Perna canaliculus*) ou de cartilage de requin. Cependant, les études scientifiques concernant leur réelle efficacité sont très contradictoires.

Figure 11 : efficacité biologique des différentes aides nutritionnelles ergogènes disponibles sur le marché et destinées au chien de sport ou d'utilité (Grandjean, 2013)

Produit	Activité				Posologie	
	Effort court	Effort intermédiaire	Effort long	Récupération	Dose quotidienne (par kg)	Innocuité
L. carnitine	+	++	++++	++	50 mg	oui
Acide aspartique	0	+?	+?	?	?	?
Arginine	0	+?	+?	?	?	oui
Bicarbonate de soude	+	0	0	?	400 mg	oui
Diméthyl-glycine	++	+	0	?	1,5 mg	oui
Inosine	0	0	0	++	10 mg	oui
L. tryptophane	+?	+?	+?	0	5 mg	?
Acide ascorbique	+	++	++++	+	100 mg	oui
Méthylsulfonylméthane	0	0	0	0	-	
Superoxyde dismutase vectorisée	++	++	+++	++	20 mg	oui
Probiotiques	+	+	+	0	?	oui
Octaconasol	0?	0?	0?	?	?	?
Gamma oryzanol	?	?	?	?	?	?
Bioflavonoïdes	?	?	?	?	?	?
Chondroïtine sulfate	++	++	++	Prévention	50 mg	oui

- Prébiotiques et pro-biotiques

Les probiotiques sont des produits de fermentations bactériennes ou mycéliennes, le plus souvent lactiques, susceptibles d'apporter à l'animal des nutriments potentiellement bénéfiques tels amino-acides, vitamines du complexe B et enzymes. Certaines souches de probiotiques se révèlent efficaces en terme d'amélioration de la digestibilité et des indices de croissance dans les espèces de rente. Ils commencent à être utilisés avec succès chez le chien, en permettant : une biorégulation de la microflore intestinale (la germination rapide dans l'intestin de ces bactéries lactiques leur permet d'occuper le terrain et "d'étouffer" le développement des germes pathogènes) ; une amélioration de la rétention azotée, générant une meilleure assimilation des protéines alimentaires ; la production d'enzymes aidant à la

digestion ; la production d'acides organiques jouant un rôle antibactérien vis-à-vis des germes pathogènes ; une stimulation locale puis générale de l'immunité de l'animal (Hayek et al., 2004).

Ne colonisant pas l'intestin, les probiotiques doivent être fournis quotidiennement. L'apport en parallèle de prébiotiques tels que les fibres fermentescibles est indispensable pour optimiser l'efficacité des probiotiques.

1.4.4. Les différents types de ration : intérêts et limites

L'intégration pratique des strictes données nutritionnelles passe chez le chien par l'élaboration d'une ration ou d'un aliment industriel complet.

1.4.3.1. Les aliments ménagers

La ration ménagère consiste en un mélange de matières premières disponibles pour le propriétaire (viande ou poisson, huile de poisson ou végétale, graisse animale, légumes, céréales, supplément minéral et vitaminique...), et en la préparation de l'aliment en mélangeant ces différentes matières premières. Il est illusoire pour un chien de service de préparer une ration équilibrée sur la base de plus de 50 nutriments essentiels et dont le volume globale soit compatible avec l'activité du chien, surtout lorsque l'activité concernée est de l'endurance. De plus, cette ration est chronophage à préparer au quotidien et plus coûteuse que des aliments industriels. Ce type de ration a été progressivement abandonné par les institutions employant des chiens dès lors que les aliments industriels proposés ont progressé en qualité et en adaptativité au type d'effort.

1.4.3.2. Les aliments industriels complets

Il existe trois types principaux d'aliments industriels complets : les aliments secs, semi-humides, ou humides. Le plus employé par les professionnels du chien, et ce de manière quasi-exclusive est l'aliment sec (de type « croquette »). Résultant d'un processus d'extrusion, il présente l'avantage d'avoir une densité énergétique élevée, une bonne conservation, une utilisation simple car il n'y a qu'un type d'aliment à donner, une adaptation de la formule en fonction des besoins et du type de chien, et une formule constante lorsqu'il est bien choisi. Une alimentation industrielle permet donc d'avoir une ration équilibrée, mais ne permet pas une adaptation qualitative des besoins en fonction de l'intensité du travail effectué. Aucune étude chez le chien ne s'est intéressée au moment de distribution idéal de l'aliment par rapport à l'exercice physique. La ration est la plupart du temps divisée en deux à trois repas

par jour, distribuée 3 heures avant effort puis 2 heures après l'effort (Hill, 1998), sauf pour les exercices de sprint (Greyhound) avant lesquels une diète de 24 heures est recommandée.

1.4.3.3. Les suppléments nutritionnels

L'aliment complet, comme évoqué, ne permet donc pas toujours une adaptation parfaite à la variation des besoins lors de sollicitation particulière de l'animal. C'est fréquemment le cas pour les chiens de service dont la charge de travail est très variable d'un jour sur l'autre, selon que le chien est en période de repos, d'entraînement, ou de mission opérationnelle durant laquelle le besoin énergétique peut être brutalement multiplié par deux à quatre. Dès lors, la supplémentation peut présenter un intérêt en étant:

- distribuée sur une période de temps donnée de manière quotidienne (on parle alors de complémentation);
- fournie avant un effort, en préparation spécifique de celui-ci ;
- fournie pendant un effort, en soutien aux métabolismes en jeu ;
- fournie pendant la phase de récupération post-effort, afin d'améliorer la récupération et de prévenir la fatigue.

La supplémentation en carbohydrates d'absorption rapide chez le chien (de type glucose) a été utilisée, en particulier chez le Greyhound de course. Cette supplémentation à raison de 1g/kgPV de poids corporel de glucose distribuée une heure avant la course augmenterait les performances du lévrier sur une course de sprint de 800 mètres (Hawley et al., 1997). Dans les autres activités, notamment les sports d'endurance, cette pratique n'a pas été étudiée chez le chien. Chez l'homme, une supplémentation en carbohydrates à l'effort est très largement utilisée (Ivy, 2010). Elle induit une augmentation de l'insulinémie inductrice d'une moindre lipomobilisation, favorise la captation du glucose circulant par les cellules, et permet d'améliorer le métabolisme glucidique par rapport au métabolisme lipidique. Le moment de l'ingestion impacte alors l'efficacité de cette supplémentation. Cette supplémentation pré-effort est parfois composée de carbohydrates et protéines. L'assimilation des protéines est alors améliorée grâce à une insulinémie élevée, ce qui réduit selon certaines études les lésions musculaires post-exercice. Ces aspects font toujours l'objet d'études et de discussion chez le sportif humain, les apports recommandés variant fortement entre les différents types de sport. Chez l'humain, la consommation d'acides gras à chaîne courte et moyenne avant l'effort a également été envisagée avant une épreuve d'endurance (Jeukendrup et al., 1998). L'impact de cette supplémentation sur la performance donne des résultats contradictoires, et l'apparition fréquente d'inconfort digestif dès que la dose dépasse 30g/ jour rend cette pratique peu utilisée.

Ces données ne permettent en rien d'estimer l'impact d'une telle supplémentation chez le chien dont le métabolisme à l'effort est largement dépendant de l'oxydation des lipides dès lors que l'effort dépasse quelques minutes.

Chez le chien, la supplémentation en carbohydrates dans les 30 minutes après effort est conseillée depuis les années 90 (Reynolds et al., 1995 ; Mc Kenzie et al., 2005 ; Zanghi et al., 2015) à raison de 1,5g/kgPV. Cette supplémentation permet d'accélérer la reconstitution des réserves glycogéniques lorsque la distribution est effectuée juste après l'effort chez le chien de traîneau. Chez le Greyhound, cette pratique est également conseillée (Hill, 1998). Une étude réalisée par Wakshlag (2004) montre que l'adjonction de protéines d'œufs hydrolysés à cette solution ne permet pas d'accélérer la réplétion des réserves glycogéniques en prolongeant le pic d'insulinémie contrairement à ce qui est observé chez l'humain, si le taux de protéine dans le supplément n'est pas trop élevé (25% de protéines et 75% de glucose semblent être un ratio intéressant selon Ivy et al., 2004). En effet, un taux de protéines trop élevé tend à retarder la vidange gastrique.

Chez le chien, une autre étude récente (Zanghi et al., 2015) a étudié l'intérêt d'une supplémentation post-effort de 1,7g/kg de carbohydrates (maltodextrines et dextrines) et 0,65g/kg de protéines (whey protein) sur l'évolution des acides aminés ramifiés, du tryptophane, et de la thréonine, ainsi que celle de la glycémie et triglycéridémie en post-effort. Les chiens consommant le supplément contenant carbohydrates et protéines présentent une meilleure disponibilité des nutriments dans le secteur plasmatique pour les recharges glycogéniques, et la synthèse protéique.

Chez l'homme et le rat, des études se sont intéressées au type de glucides utilisés (notamment en relation avec l'index glycémique des carbohydrates-), au moment de l'ingestion, à la répartition des prises de carbohydrates et à la dose idéale de carbohydrates à utilisés.

La supplémentation en protéines en post-effort, notamment en acides aminés ramifiés et en glutamine, a également été largement étudiée chez le cheval (Nostell et al., 2012), l'humain (Cruzat et al., 2014), et le rat (Kato et al., 2014). Elle tient compte du type d'acides aminés utilisés, le moment de l'ingestion, et la dose consommée. Elle a pour objectif de :

- développer les réserves antioxydantes de l'organisme ;
- soutenir la récupération musculaire ;
- soutenir la réponse immunitaire en limitant l'inflammation induite par un effort intensif.

Chez le chien, certains fabricants ont développé des suppléments se basant sur les éléments connus chez l'humain. Cependant, aucune étude scientifique n'a été menée suite à leur mise au point dans cette espèce animale. De plus, le développement de ces suppléments nutritionnels non contrôlés présente un risque de dopage involontaire chez le chien. Par exemple, la caféine, fréquemment utilisée et présente dans les suppléments pour athlète humain, est un élément d'aide ergogène qui a été intégré à certains suppléments destinés au chien. Chez l'animal de sport, la caféine est un excitant dont la consommation est interdite par la réglementation anti-dopage nationale en vigueur (Arrêté du 2 mai 2011 relatif aux substances et aux procédés mentionnés à l'article L. 241-2 du code du sport).

Conclusion

Le chien d'utilité a des besoins nutritionnels spécifiques, pour la plupart bien connus, en fonction du type d'activité pratiqué, des conditions environnementales, et de l'intensité de travail demandée. L'alimentation doit apporter à l'animal le mélange idéal de nutriments permettant de maintenir la bonne santé, réduire le risque de blessure, et optimiser la performance (Kronfeld et al., 1994 ; Toll et al., 2000). L'effort intense pratiqué durant les missions opérationnelles peut entraîner des conséquences délétaires sur l'organisme qu'il est nécessaire de prévenir afin d'optimiser les temps de récupération du chien, et de garantir la réalisation de la mission. Les aliments complets actuellement utilisés pour ces chiens permettent en partie de couvrir les besoins liés à cette stimulation physiologique intense. Ils ne sont cependant pas toujours adaptés à une consommation proche d'un effort physique, ou aux efforts de type anaérobie stimulant la mobilisation des réserves glucidiques. Leur temps de digestion ne permet pas par ailleurs de répondre à une éventuelle demande aiguë.

De plus, les études chez le chien de service sont peu nombreuses, et les conseils nutritionnels dérivent majoritairement de travaux réalisés sur des athlètes canins pratiquant un sport canin d'endurance extrême (chien de traineau majoritairement), ou de sprint (Greyhound). Il est donc nécessaire de mieux cerner le problème des chiens de service en prenant en compte l'intensité de l'effort physique réalisé durant leurs missions opérationnelles.

Le développement de suppléments nutritionnels dédiés semble intéressant pour ces chiens dont les variations de besoin sont brutales pour des périodes de temps variables (quelques heures à quelques semaines). Ces suppléments peuvent être un élément important de la prévention des chûtes de performance et des risques d'affections spécifiques induites par l'effort chez le chien. N'oublions pas que dans bien des cas ces animaux sont engagés dans un travail excessivement difficile et stressant, dont la finalité est de sauver des vies humaines.

2. Deuxième partie : développement et évaluation de l'intérêt d'un supplément nutritionnel pré- et per-effort chez le chien d'utilité.

2.1. Objectif d'une supplémentation nutritionnelle pré- et per-effort chez le chien d'utilité.

Afin de permettre au chien de maintenir son effort dans des conditions parfois hostiles, un apport énergétique optimal est essentiel. Le supplément nutritionnel doit répondre à plusieurs contraintes :

- être suffisamment dense énergétiquement pour ne pas générer par son volume de troubles digestifs ;
- être rapidement digéré afin d'éviter une interférence entre la phase de digestion et la mission opérationnelle du chien. Cet aspect revêt encore plus d'importance lorsque le chien travaille en recherche olfactive, la digestion étant un facteur réduisant les capacités olfactives du chien, par défaut de vascularisation de la muqueuse olfactive (Holley, 2006) ;
- être hautement appétant pour être consommé spontanément par le chien même si celui-ci présente des signes de fatigue ;
- être nutritionnellement adapté afin de soutenir le chien dans son effort en apportant les nutriments indispensables à l'effort programmé ou en cours ;
- limiter les conséquences néfastes de l'exercice physique, souvent liées au développement d'un stress oxydatif intense et/ou de processus inflammatoire induits.

2.2. Etape préliminaire : constitution du supplément nutritionnel

Au regard des éléments évoqués dans la première partie de notre travail, plusieurs éléments physiologiques et nutritionnels acquis peuvent présider à l'élaboration d'un supplément adapté au chien de service :

- un métabolisme énergétique à très forte (voire sub-exclusive) dominante oxydative lipidique ;
- la capacité d'un carnivore à assimiler rapidement et sans risque de fortes proportions de matière grasse ;
- l'existence d'éléments nutritionnels qualifiés d'aides ergogènes dont l'efficacité apparaît démontrée quant à l'objectif assigné.

Un tel supplément visant la période immédiatement pré et celle du per-effort, a donc pour finalité princeps de fournir à l'animal une recharge énergétique immédiatement disponible et visant à épargner à maxima des activités glycolytiques. La fourniture prépondérante de matière grasse est donc privilégiée, mais se heurte au fait que les acides gras à chaîne longue classiquement utilisés ont un effet freinateur de la vidange gastrique (Young, 2005) et sont parfois promoteurs de phénomènes inflammatoires digestifs.

Pour cette raison, mais aussi en relation avec leur grande facilité de digestion et de pénétration dans la mitochondrie, nous avons choisi de privilégier un apport exclusif en acides gras à chaînes courtes et moyennes, provenant de l'huile de coprah et de l'huile de coco. Ces acides gras se révélant très inappétent chez le chien, notre partenariat avec la société Royal-Canin a conduit les ingénieurs de cette dernière à développer un process technologique nommé « pillow ». L'incorporation d'un « noyau » d'acides gras à chaînes courtes et moyennes au sein d'un enrobage fait d'un extrudat à forte prédominance amylacée a permis, après de multiples phases d'essais technologiques et d'appétences auxquels nous fûmes associée, de constituer une forme nouvelle de croquette parfaitement acceptée spontanément par les chiens, et ne laissant pas échapper son contenu lipidique (figure 12).

Figure 12 : schéma de la croquette « pillow » utilisée dans l'étude.



L'adjonction d'aides ergogènes fut ensuite réalisée :

- L-carnitine permettant de co-valoriser au mieux l'oxydation des acides gras libres plasmatiques conjointement à celle des acides gras à chaîne courte et moyenne (lesquels pénètrent le milieu intramitochondrial sans transporteur membranaire)
- Complexe anti-oxydant visant à compenser les effets pro-radicalaires d'une oxydation lipidique accrue. Le choix sur ce point s'est fait au profit d'une association vitamine E et vitamine C (protection membranaire lipophile et resynthèse rapide de la vitamine E), et polyphénols de thé vert ne contenant pas de caféine (protection anti-radicalaire hydrophile touchant au milieu intra-cellulaire et le noyau) ;
- Vitamines du complexe B en recherche d'optimisation de l'ensemble des réactions métaboliques induites par l'effort.

2.3. Choix du protocole terrain

Afin de se rapprocher au maximum des conditions opérationnelles, nous avons choisi d'effectuer l'ensemble des essais en condition de terrain sur la base d'un exercice de 40 minutes réalisé à l'extérieur, et non sur un tapis roulant en laboratoire car le comportement du chien s'éloigne alors considérablement de ce qui est observé dans son environnement de travail habituel. De nombreuses séances préalables ont permis de standardiser cet exercice, et nous avons demandé à chaque conducteur cynotechnique de faire courir leur chien à une vitesse constante (14km/h), le conducteur étant quant à lui sur un vélo. Les chiens ont alors effectué régulièrement cet exercice dans leur entraînement physique hebdomadaire, afin de ne pas tirer le vélo auquel ils sont néanmoins attachés pour des raisons de sécurité, et de standardisation. Il n'a pas été possible de standardiser un travail de recherche sur décombres, car les déplacements de chaque chien dépendent alors fortement des effluves perçues, ce qui ne peut pas se standardiser sur plusieurs périodes d'exercices. La durée choisie (40 minutes) correspond au temps moyen de recherche d'un chien sur un décombres dans des conditions environnementales similaires. Le contrôle instantané de la lactatémie post-effort permet de vérifier qu'en de telles conditions les chiens font bien un effort totalement aérobie. Les essais préalables d'accoutumance à cette course à vitesse fixe ont confirmé l'absence de production de lactates pour une vitesse de 14 km/h.

2.4. Test d'un supplément nutritionnel pré-effort et per-effort chez le chien de recherche de personnes égarées

2.4.1. Matériels et méthodes

2.4.1.1. Les chiens

Dix Bergers Belges Malinois, tous mâles, dont la note d'état corporelle est en moyenne de 2 sur une échelle de 5, appartenant à la Brigade de Sapeurs-Pompiers de Paris ont été inclus dans l'étude. Ils sont âgés de 3 à 7 ans, sont en bonne santé au cours de l'étude (examen clinique, examen hématologique et biochimique de routine sans anomalie). Ils sont logés en chenil le jour de l'étude. L'alimentation complète spécialisée de base est le 4300® Royal Canin®, aliment adapté pour les chiens actifs et contenant un complexe anti-oxydant.

Ils sont répartis en deux groupes (A et B) par une table de randomisation.

2.4.1.2. Design expérimental

Le design expérimental est présenté figure 13 , et est illustrée par les photos 1 à 12.

Les chiens sont nourris trois heures avant le début de l'exercice physique test et sont également nourris 3 heures avant la prise de sang de contrôle réalisée 24 heures après l'exercice physique) avec 1/3 de leur ration alimentaire journalière. Le test de la supplémentation nutritionnelle est effectué en cross-over : chaque chien effectue deux fois l'exercice physique à 15 jours d'intervalle, une fois supplémenté et une fois non supplémenté. Les chiens du groupe A sont supplémentés sur la première cession, et les chiens du groupe B sont supplémentés sur la seconde cession.

Les chiens du groupe supplémenté reçoivent 2g/kgPV de supplément une heure avant le début de l'exercice physique, puis après 20 minutes de course, à l'occasion d'un arrêt de 5 minutes entre les deux périodes de course. L'exercice physique contient deux périodes de 20 minutes de course séparée par 5 minutes de repos en milieu d'exercice, et est effectuée 14km/h , vitesse constante contrôlée par un dispositif GPS fixé sur le vélo (Keymaze Kalenji®).

Ce protocole a été validé par le comité d'éthique de la société MARS-ROYAL-CANIN, et le comité d'éthique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Figure 13 : présentation du protocole expérimental de supplémentation pré et per-effort, et des moments de réalisation des prélèvements sanguins et mesures des paramètres physiologiques, lors des deux sessions d'exercice.

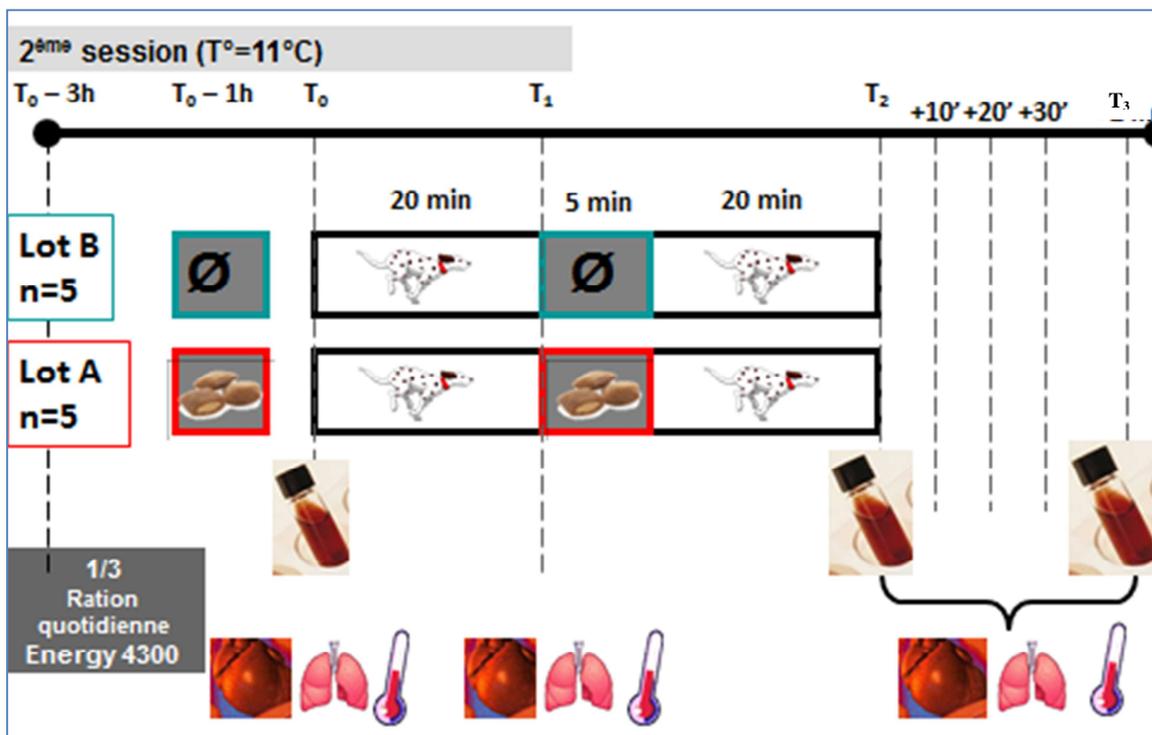
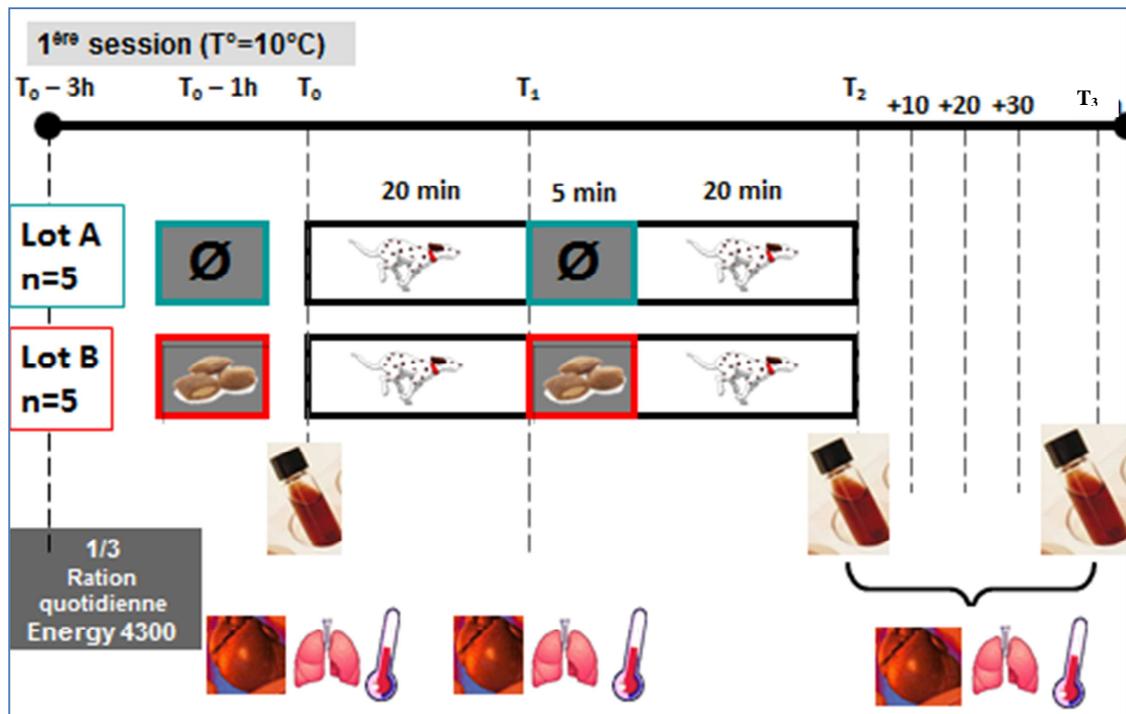




Photo 1 : Mise en place des équipements de terrain nécessaires



Photo 2 : Détail des équipements utilisés pour le traitement des prélèvements



Photo 3 : Montres GPS utilisées pour l'obtention d'une vitesse



Photo 4 : Chien en cours d'effort à vitesse constante



Photo 5 : Le chien n'exerce aucune traction durant l'effort



Photo 6 : Consommation spontanée du supplément nutritionnel (2 grammes par kilo de poids corporel) durant la phase de repos intermédiaire



Photo 7 : Relevé de fréquence cardiaque post-effort



Photo 8 : Relevé de température rectale post-effort



Photo 9 : Prélèvement sanguin jugulaire post-effort

Le supplément testé (copyright Royal-Canin®) contient 36% de matière grasse (dont 83% acides gras à chaînes courtes et moyennes provenant de l'huile de coprah), un complexe anti-oxydant (vitamine A, E, C, polyphénol de thé vert), vitamines du groupe B, et L-carnitine, soit une densité énergétique est de 5296kcal/kg (tableau 8). L'eau est proposée à volonté durant l'étude.

Tableau 8 : composition analytique du supplément nutritionnel

Humidité (%MS)	7p100	Vitamine A	26600 IU/kg
Protéines (%MS)	27 p100	Vitamine E	1400 mg/kg
Matière grasse (%MS)	36p100 (dont 83% d'AGCM)	Vitamine C	1600 mg/kg
Cellulose brute (%MS)	2p100	Vitamine B9	45 mg/kg
Cendres	3.6 p100	Vitamine B12	30 mg/kg
ENA calculé (%MS)	24.4 p100	L-carnitine	400ppm
Densité énergétique	5296 kcal/kg	Polyphenols	150 mg/ kg

Chaque chien a donc reçu deux grammes par kilogramme de poids corporel de supplément avant effort, et la même quantité lors de la pause à mi-effort. La consommation d'acides gras à chaînes courtes et moyennes est donc de 0.4 g/kg de poids vif. La consommation du supplément augmente l'ingéré énergétique de 33% pour le chien par rapport à sa ration quotidienne. Il permet également d'augmenter les apports en micronutriments, notamment en vitamine A (tableau 9).

Tableau 9 : quantité de micronutriments apportés par l'aliment complet et le supplément pour un chien de 25 kilogrammes.

	SUPPLEMENT	ALIMENT COMPLET
Vit.A (UI)	2800	12500
Vit E (mg)	140	325
Vit C (mg)	160	160
Polyphenols (mg)	150	0
Vit B12 (mg)	0,025	0,04
Acide folique (mg)	0,65	10,1
L-carnitine (mg)	40	150

2.4.1.3. Paramètres recueillis

Les paramètres physiologiques, et les prises de sang ont été réalisés par des vétérinaire de l'UMES-ENVA (Unite de Médecine de l'Elevage et du Sport – Ecole Nationale Veterinaire d'Alfort). Le recueil rapide de l'ensemble des données et prélèvements nécessite

en effet quatre opérateurs vétérinaires en simultanée, ce qui assure l'homogénéité et la répétabilité des données relevées. Deux autres opérateurs sont par ailleurs dédiés au pré-traitement sur place des échantillons prélevés.

- **Paramètres physiologiques**

La fréquence cardiaque (prise au stéthoscope et au poul femoral), la fréquence respiratoire (nombre d'inspiration du chien gueule fermée), et la température rectale ont été mesurées:

- au début de l'exercice (T0) ;
- après 20 minutes d'exercice (T1) ;
- immédiatement à la fin de la cession d'exercice (T2) ;
- durant la période de récupération après 10 minutes (T2+10min), 20 minutes (T2+20 min), et 30 minutes (T2+30 min) de repos ;
- le lendemain de l'exercice physique (T3), après 24 heures précises de récupération.

- **Prises de sang**

Toutes les prises de sang ont été réalisées à l'une des veines jugulaires à l'aide d'un système tubulaire et tube adapté (un tube sec, un tube EDTA, et un tube hépariné). Elles ont été réalisées à T0, T2, et T3. Les tubes secs et héparinés ont été centrifugés à 1500trs/min pendant 10 minutes. Serum et plasma ont immédiatement été alliquotés puis congelés sur place à l'abri des rayons ultra-violet. Pour l'analyse ultérieure de la vitamine C, un traitement immédiat sur place a été pratiqué en ajoutant 1,2mL d'acide trichloracétique à 10% à 0,3mL de plasma, vortex, puis centrifugation à 1500 trs/min pendant 20 minutes avant congélation à l'abri de la lumière.

▪ Les lactates ont été dosés sur place à l'aide d'un appareil portatif validé au préalable chez le chien: le Lactate Pro Analyser (Roche®).

▪ Les paramètres biochimiques recherchés (glucose, triglycérides, vitamine B9 et vitamine B12) ont été analysés ultérieurement en laboratoire en utilisant un analyseur semi-automatique (Vista 2, Siemens healthcare Diagnosis).

▪ Les vitamines A (retinol), E (α -tocopherol) et C (ascorbate) ont été dosées en utilisant une méthode de chromatographie haute performance en phase liquide avec détection spectrofluorométrique.

▪ Les AOPPs (Advanced Oxidation Proteins Products) ont été dosé selon la méthode décrite par Witko-Sarsat et al (2003). Le glutathion réduit (GSH) est dosé avec un kit canine Reduced Glutathione ELISA Kit (mybiosource®) selon le protocole du fabricant. La réaction

se déroule à 25 °C pendant 10 min. Les lectures sont réalisées en absorbance ou en dérivée d'ordre deux avec le spectrophotomètre UV-visible Uvikon 860 (Kontron Instruments). Les spectres sont tracés entre 350 et 450 nm, avec une vitesse de balayage de 100 nm/min et un intervalle d'échantillonnage de 2 nm. Les isoprostanes ont été dosés par réactions colorimétriques à l'aide d'un kit 8-Isoprostane ELISA Kit (antibodies online®).

▪ Les interleukines plasmatiques IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15 ont été dosées par q RT-PCR. Le dosage des ARN extrait à partir des globules blancs a été effectué à l'aide d'un Nano Drope. (NANODrop ND-1000, Labtech international France, Paris) après purification de l'échantillon pour enlever l'ADN génomique (Fermentas Life Sciences, USA). La rétro-transcription de l'ARN en ADNc a été réalisée en utilisant le Kit Thermo Scientific Verso cDNA Synthesis (ABgene, USA). La quantité d'ADNc spécifique des gènes d'intérêt a été mesurée par amplification en PCR (Polymerase Chain Reaction), en temps réel. Cette technique consiste à mesurer la quantité d'ADN amplifiée à chaque cycle (temps réel) grâce à un marqueur fluorescent, le SYBR Green In (ABgene, USA). La réaction de Q PCR a été réalisée dans des plaques de 96 puits, et insérée dans un thermo-cycleur (Light Cycler 480c (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) couplé à un système optique pour la détection de la fluorescence émise par des fluorophores. Une première phase de quinze minutes permet l'activation de la Taq polymérase. L'amplification proprement dite était composée de trois étapes : 10 secondes à 95°C, 30 secondes à 60°C, 15 s à 60°C répétées 40 fois (40 cycles). Enfin, une troisième étape dite de « Melting Curve » permettait de déterminer la spécificité des amorces et de s'assurer que l'on avait bien un seul amplicon.

– **Tests statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant les logiciels Tanagra® et SAS® (Statistical Analysis System). Des tests non-paramétriques (tests de Friedman et Wilcoxon appariés) ont été utilisés sur les données non distribuées normalement (paramètres physiologiques, triglycérides, urée, créatinine, vitamine B9, AOPP, IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15). Des analyses de variance et co-variance ont été réalisées sur les données distribuées normalement (lactate, glucose, vit. A, vit. E, vit. C, vit. B12).

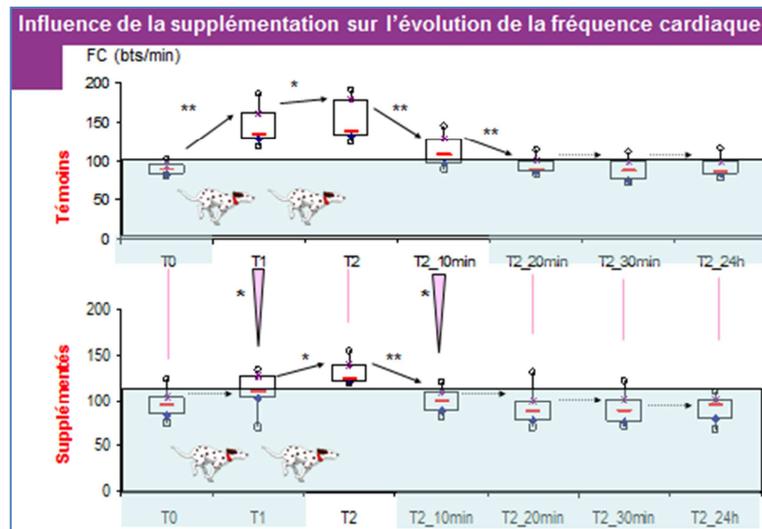
2.4.2. Resultats

- **Paramètres physiologiques**

Une augmentation plus lente de la fréquence cardiaque (figure 14) à l'effort est observée dans le groupe supplémentée par rapport au groupe contrôle (CG vs. SG: 133 vs 110 bts/min à T1; $p < 0,05$). La fréquence cardiaque maximale relevée est identique entre les deux groupes. Durant la récupération, le groupe supplémenté retrouve une fréquence cardiaque

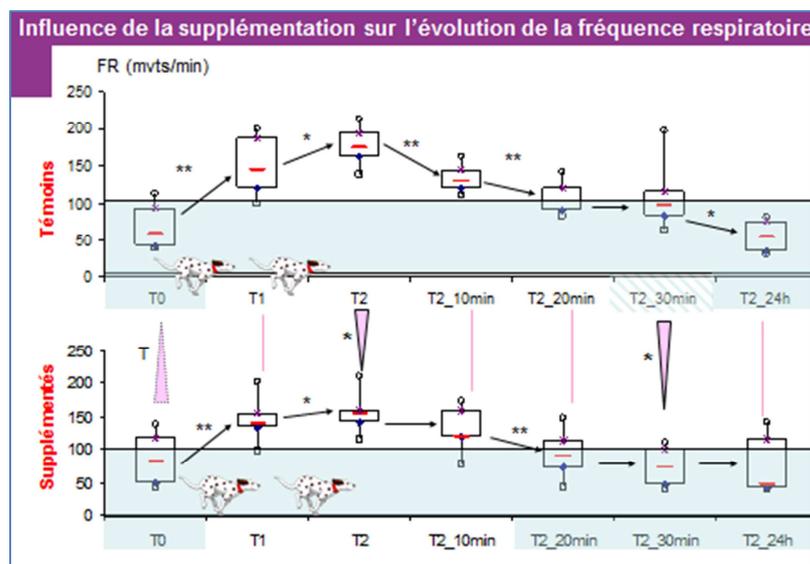
basale au bout de 10 minutes, alors que le groupe témoin retrouve sa fréquence cardiaque basale au bout de 20 minutes.

Figure 14 : évolution de la fréquence cardiaque, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.



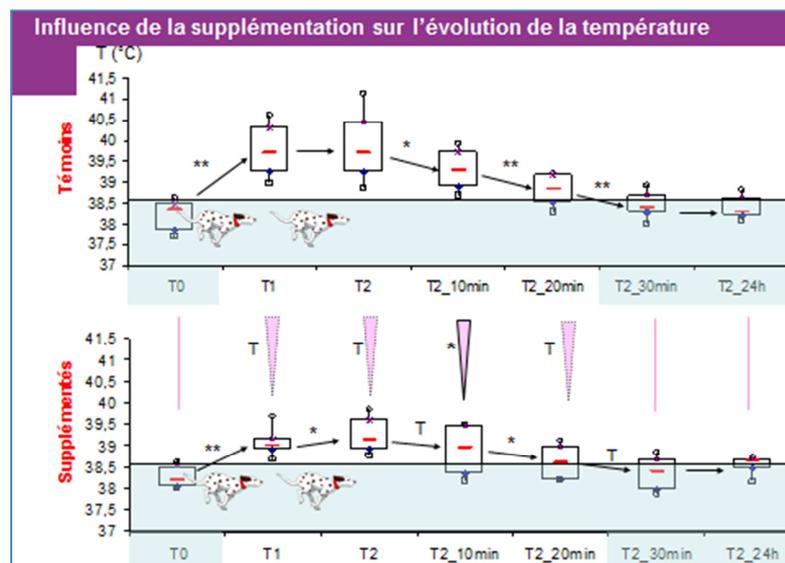
La fréquence respiratoire (figure 15) basale est également récupérée plus rapidement dans le groupe supplémenté (T2+20 min alors qu'elle est encore significativement différente de T0 à T2+30 min dans le groupe contrôle).

Figure 15 : évolution de la fréquence respiratoire, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.



En ce qui concerne la température corporelle, à T2+10 min, la température rectale est significativement inférieure dans le groupe supplémenté comparée au groupe témoin (figure 16). Cependant, aucune différence significative n'est observée entre les deux groupes pour le retour à la température basale.

Figure 16 : évolution de la fréquence respiratoire, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.



- Paramètres biochimiques

La lactatémie reste stable au cours de l'effort, et évolue de manière identique dans les deux groupes. Aucun effet du temps, ou du lot n'est statistiquement significatifs.

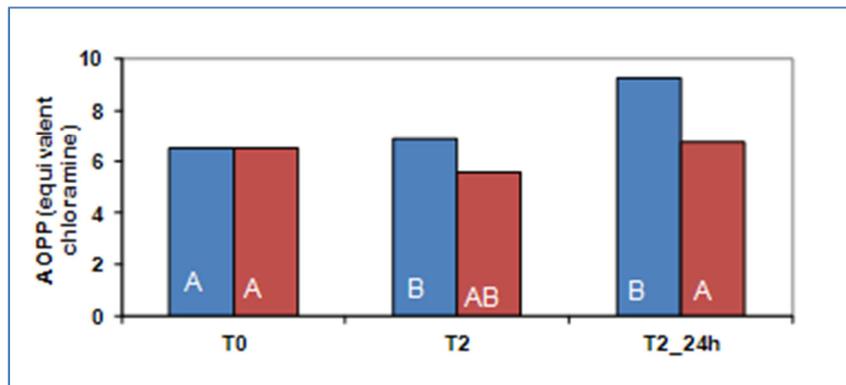
La glycémie augmente entre T0 et T2 dans les deux lots ($p < 0.001$). Cette augmentation n'est plus visible à T3 24 heures après l'arrêt de l'exercice.

A T0, une différence significative entre les triglycérides (figure 17) du lot supplémenté (T0 : 1,05 g/L) et du lot contrôle (T0 : 0,6g/L). Les triglycérides diminuent entre T0 et T2 dans le groupe supplémenté (T0 : 1,05 g/L vs T2 : 0,8g/L ; $p < 0,05$) alors qu'ils augmentent dans le groupe témoin (T0 : 0,6g/L vs T2 : 0,75g/L ; $p < 0,05$). A T2 et T3, aucune différence significative n'est présente entre les deux groupes.

-Marqueurs du stress oxydatif

Les vitamines A, E, C et les isoprostanes (catabolites marqueurs du stress oxydatif) sont en quantité identique quelquesoit le temps dans les deux groupes. Entre T0 et T2, les AOPPs augmentent significativement dans le groupe témoin mais pas dans le groupe supplémenté. Cette différence est encore visible à T3 dans le groupe témoin (figure 19)

Figure 19 : évolution des Advanced Oxygenated Proteins Products dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p < 0.05$.



-Marqueurs de l'inflammation

A T2, l'expression plasmatique des IL1 β (figure 20) et IL8 (figure 21) est augmentée par rapport à T0 dans le groupe contrôle mais pas le groupe supplémenté ($p < 0,05$). Cette différence n'est plus visible à T3. L'expression de l'IL10 et de l'IL15 n'est pas influencée par le temps ou par la supplémentation.

Figure 20 : évolution des IL 1 β dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p < 0.05$.

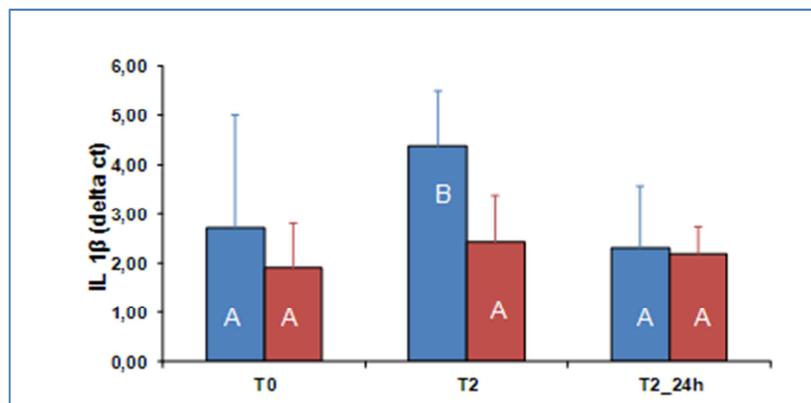
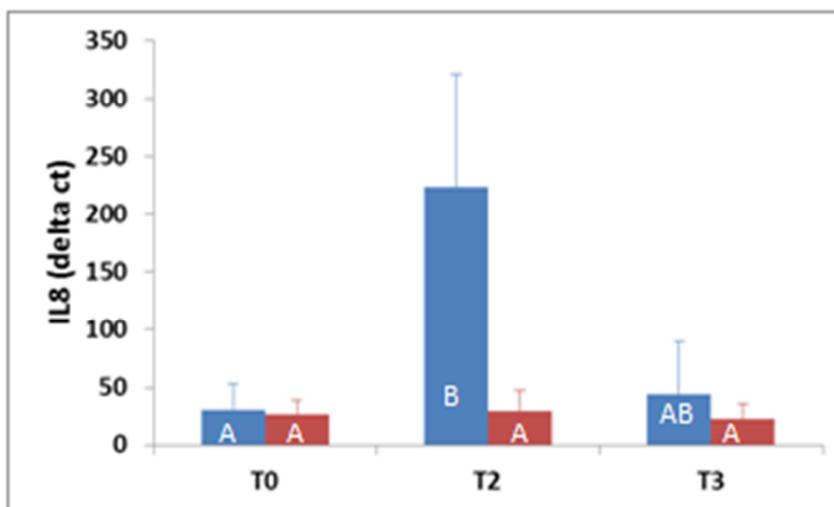


Figure 21 : évolution des IL 8 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, et l'évolution d'un même groupe dans le temps un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p < 0.05$.



2.4.3. Discussion

Les acides gras à chaîne courte et moyenne contiennent 6, 8, ou 12 carbones, et présentent un faible poids moléculaire facilitant l'activité de la lipase pancréatique et leur absorption sans solubilité dans les sels biliaires (Scheig et al., 1968). Ils présentent l'avantage d'être rapidement métabolisés, et oxydés par la mitochondrie sans nécessité la L-carnitine pour traverser la membrane (Groot et al., 1973). Notre étude a été réalisée sur des chiens de service en condition de travail d'endurance, ne valorisant que le métabolisme aérobie, comme le montre la non augmentation des lactates dans les deux groupes. Une augmentation de la glycémie sans augmentation de la lactatémie a été mesurée, ce qui est compatible avec les études antérieures réalisées sur des chiens de traineau (Reynolds et al., 1999). Dans notre étude, nous observons une diminution de la triglycéridémie entre le début de l'exercice physique et la fin de la période d'exercice physique, alors que nous observons une augmentation de la triglycéridémie entre le début et la fin de l'exercice physique dans le groupe contrôle. Les études antérieures réalisées sans supplémentation sur des efforts d'endurance montrent une augmentation des **triglycérides** à l'effort chez le chien (Rovira et al., 2007 ; Reynolds et al., 1994). Notre kit de dosage dosant les triglycérides via le dosage du glycérol, on peut supposer qu'une libération de glycérol a fait augmenter le taux dosés de triglycérides au cours de l'effort. La lipomobilisation induite à l'effort sans supplémentation permet d'apporter au muscle squelettique une source d'énergie oxydable. Cette phase semble

limiter dans notre étude, puisque la triglycéridémie est déjà élevée au début de l'effort suite à l'absorption du supplément une heure avant l'effort, et qu'elle diminue pendant l'effort. L'absorption du supplément entraîne également une augmentation des concentrations circulantes des vitamines B9 et B12 présentes dans le supplément nutritionnel développé.

Aucune douleur abdominale, diarrhée, ou vomissement n'ont été observés pendant cette étude, contrairement à ce qui est parfois rapporté chez l'humain (Jeukendrup et al., 1998). Les questionnaires envoyés aux utilisateurs dans les mois suivant la commercialisation de ce supplément n'ont pas révélé d'effets secondaires digestifs.

Une modification des **paramètres physiologiques** est observée dans le groupe témoin et le groupe supplémenté, ce qui est en adéquation avec l'évolution rapportée dans de précédentes études (Rovira et al. 2007; Ferasin et al., 2009; Baltzer et al. 2012). Cependant, dans le groupe témoin, l'augmentation de la fréquence cardiaque à l'effort se fait plus lentement, et la récupération de la valeur de base plus rapidement que dans le groupe témoin. La température tend également à être inférieure à T2 dans le groupe supplémenté par rapport au groupe témoin ($p < 0,1$). On peut supposer un impact des conséquences de l'ingestion du supplément sur le rendement énergétique de l'exercice, bien que des études complémentaires soient nécessaires pour préciser le mécanisme exact. La présence de lipides circulants au niveau sanguin dès le début de l'effort peut expliquer un gain de temps en évitant une phase de lipomobilisation en début d'effort.

Durant l'exercice, la production de radicaux libres entraîne une situation de **stress oxydatif cellulaire**. Ce phénomène a été décrit chez le chien de chasse (Pasquini et al., 2010), le chien de traîneau (Hinchcliff et al., 2000), et le chien de recherche de personnes (Grandjean et al., 2001). Dans cette étude, l'adjonction de substances antioxydantes ayant une action sur la protection des membranes (vitamine A et E), et les milieux hydrophiles (vitamine C, polyphenol), permet de diminuer le stress oxydatif cellulaire lorsqu'on analyse le marqueur AOPP (Advanced Oxidation Protein Products). La différence entre le groupe supplémenté et le groupe témoin persiste après 24 heures de repos. Une étude réalisée chez le marathonien présente une élévation importante des AOPPs après un marathon (Neubauer et al., 2008). Ce marqueur n'a jamais été utilisé chez le chien, mais indique l'accumulation de toxines urémiques lors de réactions entre les protéines plasmatiques et les agents oxydants chlorinés telle que la chloramine (Witko-Sarrat et al., 2003). Ce même auteur suggère que l'accumulation des AOPPs augmente le statut inflammatoire de l'organisme. Cependant, les autres marqueurs explorés (vitamine A, vitamine E, vitamine C) ne varient pas de manière significative au cours de notre étude. Ceci peut-être dû à un effort d'intensité et de durée modérée, ou à la composition de l'aliment servant à la ration journalière déjà complémentée

en substances anti-oxidantes notamment liposolubles. Cette complémentation journalière en vitamine A, E et C a été étudiée par plusieurs auteurs (Grandjean et al., 2001 ; Hinchcliff et al.,) et présente une bonne efficacité sur la prévention du stress oxydatif induit par l'exercice, mais pas toujours des affections associées (Piercy et al., 2001).

Enfin, l'**inflammation** aiguë induite par l'effort a été observée chez le chien de traîneau (Wakshlag et al., 2010), qui note une augmentation de la C-Reactive Protein après 5 jours de course. Cette élévation significative reste néanmoins dans les normes physiologiques de l'espèce canine. Dans le groupe témoin, l'augmentation des IL1 β , et IL8 suite à l'effort n'est plus présente après 24 heures de repos. Le lot supplémenté ne présente pas d'augmentation de l'expression plasmatique des cytokines. L'IL-6 et le TNF α étaient prévus dans notre étude initiale mais les dosages n'ont pas pu être réalisés pour des raisons techniques. Lors d'un effort musculaire intense, on note une augmentation des cytokines proinflammatoires telles que IL1 β , l'IL8 ou le TNF α (Nieman et al., 2001 ; Chan et al., 2004 ; Ostrowky et al., 1999). L'IL-10 et l'IL-15 sont des cytokines plutôt anti-inflammatoires qui ont la capacité de réduire l'expression d'autres cytokines pro-inflammatoires (Isomaki et al., 1996 ; Riechman et al., 2004). Chez l'humain, l'expression de ces cytokines après un effort est augmentée (Nieman et al., 2011), ou non impactée par l'exercice physique (Inoue et al., 2010). Les IL-10 et IL-15 ne varient pas dans notre étude, l'inflammation générée par cet exercice n'étant s'en doute pas d'intensité suffisante. Au bilan, on retiendra:

- la moindre augmentation de la température corporelle dans le groupe supplémenté (Turnbull et al., 1999) ;
- le soutien métabolique apporté par le supplément lors de l'effort et entraînant semble t'il une moindre lipomobilisation (Jurimae et al., 2006 ; Jurimae et al. 2011).

2.4.4. Conclusion

Cette étude est à notre connaissance la première à avoir analysé l'impact d'une supplémentation nutritionnelle pré- et per-effort chez le chien de travail. Son objectif principal était d'objectiver l'impact d'un supplément contenant des acides gras à chaînes courte et moyenne, contenant de la L-carnitine et des antioxydants sur le chien de recherche de personnes égarées et ensevelies. Nous regrettons de ne pas avoir pu réaliser les dosages de TNF α , IL-6, et acides gras libres plasmatiques qui auraient pus nous donner d'autres informations sur l'impact de ce supplément sur le métabolisme et l'inflammation. Cependant, les résultats de cette étude nous ont permis de voir un impact positif de la supplémentation sur :

-l'augmentation de la fréquence cardiaque (et la température) lors de l'exercice, et lors de la phase de récupération ;

- l'inflammation liée à l'effort ;

- le stress oxydatif cellulaire, avec une élévation des AOPPs encore significative 24 heures après la fin de l'effort.

Ce travail présente un intérêt pour les chiens de recherche de personnes ensevelies qui doivent travailler pendant 40 minutes, et un temps de repos équivalent lors des missions opérationnelles. L'absence de troubles digestifs, et la prise spontanée de ce supplément sont également des éléments importants. Nous avons été surpris d'observer une augmentation des marqueurs de l'inflammation lors de ce protocole terrain, l'exercice étant d'intensité modéré. Etant donné le lien étroit existant entre immunité et inflammation, une meilleure compréhension de ce phénomène chez le chien d'utilité est indispensable pour optimiser la prévention.

2.5. Publications et communications générées

Cette approche expérimentale nous a permis de présenter plusieurs **conférences** lors de congrès internationaux.

1. Conception of a dedicated nutritional supplementation provided to service dogs pre and per operationnal stamina.

2nd Penn Vet Working Dog Conference

University of Pennsylvania ; Pearl River, New-York (USA) ; 7-9/09/2011

2. Preliminary study : interest of a dedicated supplementation before and during exercise on working dog performance during a standardised mid-intensity exercise

7th International Working Dog Conference; International Working Dog Breeding Association Organisation.

Sun City (South Africa) : 4-8/10/2011

3. New developments on stamina induced inflammation of working dogs. Interest of pre/ per exercise nutritional supplementation

International Sled Dog Veterinary Medicine Association Congress

Banff (Canada) ; 26-29/09/2012

4. Interest of pre/ per stamina nutritionnal supplementation in the working dogs
Norwegian annual veterinary congress
Oslo (Norway) ; 3/11/2012
5. Do sled dogs need a pre-exercise nutritionnal supplementation ?
Lecture to students.
University of Alaska ; Fairbanks, Alaska (USA) ; 28/02/2013
6. Interest of pre/ per stamina nutritionnal supplementation in the working dogs
Russian annual veterinary conference
Moscow (Russia) ; 20/04/2013

Nous avons par ailleurs présenté un **poster** (annexe 2):

CLERO D. ; FEUGIER A. ; DRISS F. ; GRANDJEAN D.

Interest of a pre and per-exercise nutritionnal supplementation on working dogs serum inflammatory and oxidative stress markers evolution during a standardised mid-intensity exercise. Waltham International Nutrition Symposium 2013

Portland, Oregon (USA) ; 1-3/10/2013

Deux publications ont été réalisées, l'une en abstract du congrès IWDC de 2011 (annexe 2), l'autre en publication peer-reviewed plus récemment (annexe 3) :

1. CLERO D., GRANDJEAN D.

Influence of high fat/ high antioxidant nutritionnal supplementation before and during exercise on physiological and biochemical responses in physically trained search and rescue dogs.

Journal of Veterinary Behavior 2012; 7 (1) : 56

2. CLERO D. ; FEUGIER A. ; DRISS F. ; GRANDJEAN D.

Influence of pre and per-exercise nutritionnal supplementation on working dogs biological markers evolution during a standardised exercise.

E.C. Veterinary Science 2015; 1 (1) : 5-20

3. Troisième partie : développement et évaluation de l'intérêt d'un supplément nutritionnel post-effort chez le chien d'utilité

Ayant envisagé l'impact d'une supplémentation hyperlipidique et antioxydante sur la biologie du chien de travail à l'exercice, avec des résultats qui apparaissent bénéfiques, il nous semblait important de nous concentrer sur l'optimisation de la phase de récupération.

3.1. Objectif d'un supplément post-effort chez le chien d'utilité

Les objectifs de la conception de ce supplément nutritionnel distribué en phase post-effort de récupération sont avant tout de favoriser une récupération rapide du chien après une période de travail intense, afin de pouvoir si nécessaire réengager au plus vite l'animal dans sa mission opérationnelle au service de l'homme. En référence aux éléments évoqués précédemment, un tel supplément se devra :

- d'être appétent afin de favoriser son absorption rapide, même sur un chien fatigué ;
- de permettre une recharge des réserves énergétiques de l'organisme, en particulier des réserves glycolipidiques qui sont susceptibles d'être diminuées suite à un effort intense ;
- de limiter les conséquences indésirables de l'exercice physique, notamment l'inflammation induite et les lésions musculaires qui en découlent en partie ;
- si possible de soutenir l'immunité et limiter la durée de fatigue ressentie.

3.2. Conception nutritionnelle et sélection des matières premières

En nous basant sur les études antérieures réalisées sur le chien, l'apport de carbohydrates a un intérêt pour aider à la recharge glycolipidique (Reynolds et al., 1997 ; Wakshlag et al., 2002 ; Mc Kenzie et al., 2005). L'adjonction d'acides aminés a été testée dans une étude (Reynolds et al., 1997), mais aux fins d'évaluation de la qualité de la réplétion glycolipidique et non pour favoriser la récupération musculaire, ou freiner l'inflammation. De plus, certains acides aminés, dont la glutamine, jouent un rôle dans le soutien de l'immunité malgré des études contradictoires (Cruzat et al, 2014) et sont des précurseurs de molécules anti-oxydantes (histidine, tyrosine, methionine, cystéine). Nous avons donc choisi de travailler sur un mélange de carbohydrates + protéines, en apportant ce mélange sous forme liquide, l'hydratation en post-effort étant essentielle chez le chien comme nous l'avons vu précédemment. En nous fondant sur les données acquises chez le chien, l'objectif est

d'apporter 1,5 g/kg de poids corporel de carbohydrates, et 0,5g/kg de poids corporel de protéines à haute valeur biologique riches en acides aminés branchés en post-effort immédiat.

L'étude préliminaire a pour but de déterminer les matières premières entrant dans la composition de ce supplément post-effort visant à favoriser la récupération du chien suite à une série d'efforts intensifs qui seront envisagés chez le chien militaire, avec une succession de période de travail de 30 à 40 minutes incluant des phases de course à vitesse maximale, mimant des arrestations d'ennemis.

Les matières premières disponibles pour l'élaboration du supplément sont :

- 2 sources de carbohydrates (maltodextrine IT 12 (M1) et IT19 (M2)). L'IT correspond au DE, c'est-à-dire au dextrose équivalent. Plus le DE est important, plus le degré d'hydrolyse est important et plus la maltodextrine est considérée comme « rapide » (provoque un pic d'insuline plus important dans le sang) ;

- 6 sources de protéines (whey protein (P1), protéine de pois (P2), gluten de blé (P3), lactoserum 25% (P4), hydrolysate de soja (P5), protamine (P6)). Précisons que la protamine est un hydrolysate fin de protéines de plumes de volailles, proposé par la société BCF (Bretagne Chimie Fine).

- Vérification des quantités à distribuer

Ces calculs sont réalisés sur la base des besoins pour un chien de 30kg, correspondant au poids moyen d'un chien Berger Belge Malinois utilisé dans l'armée de terre française. Les quantités de matières premières à distribuer sont variables en fonction des sources utilisées pour les protéines en fonction de la concentration de chaque source en protéine (tableau 6), et de 45g de maltodextrine pour les deux sources disponibles.

Tableau 10 : quantité de matières premières protéiques à consommer à chaque supplémentation pour répondre à la posologie envisagée

		Concentration de protéine dans la matière première (%)	Quantité de matière première à diluer (g)
Whey protein	P1	45	33,3
Protéine de pois	P2	78	19,2
Gluten de blé	P3	78	19,2
Lactoserum 25%	P4	26	57,7
Hydrolysate de soja	P5	60	25
Protamine	P6	82,5	18,2

Les dérivés lactés (whey protein et lactoserum 25%) contenant une plus faible part de protéines dans les matières premières disponibles, la quantité à distribuer est plus importante que pour les quatre autres sources. Ce point seul ne nous amène pas à exclure ces sources

pour les utiliser comme matière première de notre supplément, mais le volume de poudre à diluer dans l'eau paraît déjà très élevé (102,7 grammes pour le lactosérum 25%, et 78.3 grammes pour la whey protein).

- **Sélection des matières premières**

La sélection se fait sur les critères suivants :

1. solubilité aqueuse de la quantité nécessaire de matière première;
2. appétence et tolérance par le chien de la matière première (le chien ne bave pas, ne vomit pas après ingestion de la solution, l'ingère spontanément) ;
3. profil analytique, digestibilité et vitesse de digestion.
4. possibilité d'obtenir facilement la substance (critères réglementaires).

La solubilité

Le but est de vérifier la capacité de chaque matière première à se dissoudre, et être prélevable à la seringue dans 150 mL d'eau froide (15°C). Le test consiste à dissoudre la quantité souhaitée de protéines dans un volume d'eau minimal à 15°C. Le tableau 11 présente les résultats obtenus.

- Carbohydrates :

La maltodextrine IT19 se dissout mieux dans l'eau froide que la maltodextrine IT12, mais la différence est faible (il faut un volume minimum de 44 mL avec la maltodextrine IT19 d'eau froide vs. 50mL d'eau froide pour la maltodextrine IT12 pour obtenir un liquide prélevable à la seringue). Les deux types de maltodextrine peuvent donc convenir pour notre mélange, notre objectif étant une dissolution dans 150mL d'eau du mélange.

- Protéines :

Pour l'ensemble des protéines, une perte non négligeable (de 4 à 15%) se produit entre l'étape de dissolution de la poudre et son prélèvement. Ce problème peut être résolu en effectuant le mélange directement dans la seringue (les pertes sont alors de 1% environ), ou si le chien peut directement consommer la substance sans utilisation d'une seringue. Ce problème est maximal lors de l'utilisation de l'hydrolysate de soja. Il est donc important de sélectionner par la suite une matière première que le chien ingèrera spontanément.

La protamine absorbe une grande quantité d'eau (le volume final de solution après 5 minutes de pause est inférieur au volume initial du mélange eau + source protéique) mais le volume d'eau à mettre pour permettre une bonne seringabilité est important (180mL). Le même type d'inconvénient est observé pour la protéine de pois (126 mL). Cependant, à ce stade, aucune source protéique n'est complètement rejetée.

Tableau 11 : capacité de dissolution et de seringabilité des différentes matières premières étudiées individuellement (les volumes présentés sont ceux nécessaires pour dissoudre la totalité de la matière première à distribuer (les cases vides contiennent des données non transmises par les fabricants). Les chiffres correspondent au codage des sources tel que présenté dans le tableau 10.

	Taille moyenne des particules	Poids moléculaires moyen (Da)	Solubilité annoncée (g/L)	Quantité minimale d'eau pour obtenir la dissolution de la poudre	Type de solution obtenue (liquide/ gel/ pâteux)	Volume d'eau nécessaire pour obtenir un prélèvement à la seringue	Volume finale de solution obtenue (poudre + eau) en mL	Volume de poudre restant dans le fond du flacon de préparation (en % du volume total prélevé)	Quantité de poudre restant dans la seringue
M1	5% max > 500 µm 0.5% max < 40 µm			50 mL	Liquide blanc collant un peu épais	50 mL	74 mL	0.1%	0.1%
M2	200 µm			44 mL	Liquide blanc collant moins épais qu'avec M1	44 mL	64 mL	0.1%	0.1%
P1				60 mL	Gel épais beige clair	70 mL	100 mL	10%	1%
P2	260 µm		Min. 600 g/L	90 mL	Pâte si 45 mL	120 mL (gel suffisamment fluide pour être aspiré)	126 mL	8%	1%
P3				40 mL	Liquide beige assez fluide à dissoudre	60 mL et aspiration très facile	62 mL	8%	1%
P4				50 mL	Liquide beige assez fluide, mais les grumeaux des parois sont difficile	60 mL	94 mL	7%	1%
P5		278		60 mL	Liquide beige épais	70 mL	90 mL	15%	1%
P6		250	Min 200 g/L	40 mL (pâte) à 140 mL (gel)	Pâteux ou gel assez épais	180 mL	160 mL	4%	1%

-Appétence de la substance

L'objectif est de vérifier que l'une des matières premières n'est pas systématiquement rejetée ou partiellement refusée par le chien. La matière première est proposée à 10 chiens. Six coupelles sont présentées à chaque chien lors d'un test en double aveugle. Si l'une des matières premières entraîne une sialorrhée excessive ou des vomissements, elle est considérée comme non utilisable. On note l'ordre de sélection des coupelles par le chien, et la prise spontanée et complète du mélange selon le classement suivant :

+ /- : les chiens mangent sur demande du maître mais ne finissent pas l'assiette seuls ;

+ : ce n'est pas l'aliment choisi tant qu'il reste d'autres choix ;

++ : dès le premier passage, les chiens le consomment en totalité.

Les sources sont ensuite diluées dans 150mL d'eau et distribuées au chien à la seringue, l'objectif de cette distribution forcée étant de permettre une consommation complète systématique du supplément si la consommation spontanée est incomplète. Le tableau 12 présente les résultats observés.

Tableau 12 : appétence des matières premières utilisées

	Odeur	Goût	Le chien ne vomit pas	Le chien ne bave pas	Le chien avale spontanément le liquide distribué à la seringue	Le chien boit spontanément
M1	Neutre	Très légèrement sucré	Non	Non	Oui	+
M2	Neutre	Très légèrement sucré	Non	Non	Oui	++
P1	Lait	Lacté	Non	Non	Oui	++
P2		Très farineux, goût de pois chiche	Non	Non	Oui	+/-
P3	Odeur de pois chiche	Goût peu marqué (pain)	Non	Non	Oui	+
P4		Goût de lait trop concentré	Non	Non	Oui	+
P5	Odeur faible	Goût amer	Non	Non	Oui	+
P6		Faible goût mais très farineux	Non	Non	Oui	+/-

Bilan:

Aucune matière première n'entraîne de rejet complet de la matière première, ni d'effets secondaires immédiats (vomissements ou sialhorée). Certaines sources de protéines (protéine de pois, et Protamine) sont moins facilement consommées spontanément par les chiens. Cependant, sur demande du maître, ces sources de protéines peuvent être

consommées. Il semble donc possible de les inclure dans un mélange qui devra être distribué à la seringue chez le chien fatigué.

- Critères analytiques

-Type de maltodextrine utilisée :

Aucune publication sur l'intérêt d'un DE plus élevé n'existe chez le chien. Chez le sportif humain en revanche, il est conseillé d'utiliser un produit avec un DE élevé (Burke et al., 1993), ou un mélange de plusieurs types de carbohydrates.

-Type de sources protéiques utilisables :

Le tableau 13 récapitule les principales caractéristiques des matières premières utilisables. L'objectif est d'utiliser une source protéique qui soit digestible pour le chien, et contienne un profil intéressant en acides aminés ramifiés et si possible glutamine.

Conclusions :

- Le lactosérum contient du lactose. Chez le chien adulte, il y a très peu de risque d'intolérance au lactose si ce dernier se trouve à une concentration inférieure à 1g/kg de poids corporel dans l'aliment (Cave, 2013). En apportant ce supplément protéique, l'apport en lactose serait de 34.6 grammes environ pour un chien de 30 kg. Nous avons donc exclu cette source de lactosérum pour éviter les troubles diarrhéiques induits. L'autre dérivé lacté (whey protein), contient une concentration inférieure en lactose (maximum 40%), et la quantité distribuée apporte au maximum 14 grammes de lactose à un chien de 30 kg.

- Le soja a une composition analytique intéressante, mais il aurait été important de vérifier l'absence de facteurs anti-nutritionnels (acide phytique), ce qui complique son utilisation par la suite. Nous avons donc exclu cette source protéique.

- En observant la composition en acides aminés ramifiés, nous observons que le gluten de blé est la source la moins intéressante en acides aminés ramifiés, mais présente un intérêt de par sa composition en glutamine. La whey protein et la protéine de pois sont très riches en leucine, décrit dans plusieurs études comme favorisant la récupération musculaire (Kaastra et al., 2006 ; Decombaz, 2004). La protéine présente une composition riche en acides aminés ramifiés également, bien que la quantité de leucine soit inférieure de 30% aux autres sources citées ci-dessus.

- La vitesse d'absorption est variable : il est intéressant pour prolonger le pic d'insulinémie de mélanger deux sources de protéines ayant une vitesse d'absorption différente. Cette donnée n'est disponible que pour deux sources protéiques chez le chien : la whey protein (avec une biodisponibilité en 30 minutes ce qui en fait une protéine dite rapide), et la protamine (biodisponibilité en une 1.5 à 2 heures ce qui en fait une protéine dite lente).

Tableau 13 : caractéristiques des sources de matières premières protéiques utilisables pour le supplément nutritionnel étudié (* : donnée évaluée chez l'humain uniquement).

		P1	P2	P3	P4	P5	P6
ELEMENTS PRINCIPAUX DANS LA COMPOSITION							
Protéines (% MS)		43 à 47	78	78	26	60	82,5
Lactose (%)		34 à 40			62		
Lipides (% MS)		5	0,5	0,2	1		
Valeur énergétique (kcal/kg)		3730		3610			3320
Cendres (% MS) Dont Na		10	4,5 Dont 0.4	7		10,4 Dont 7,2	Dont 2,4
PROFIL EN ACIDES AMINES (g/100g)							
	ROLE DANS L'ORGANISME						
Acide aspartique	Synthèse ADN, ARN, protéines. Intervient dans la production d'énergie à partir des CHO	9,6	11,5		2,3	7,3	6
Glutamine	Soutien l'immunité (cicatrisation cellule intestinale) et favorise le métabolisme des protéines	13,8	16,7		29,8	12,4	9,1
Serine	Agit sur le système immunitaire	3,5	5,1		3,6	2,7	10,6
Glycine	Agit sur la synthèse protéique, et de l'ADN.	1,5	4		2	2,8	6,5
Histidine		1,6	2,5		1,5	1,5	0,6
Arginine	Participe à la synthèse de l'urée Rôle immunitaire Relaxation des vaisseaux sanguins	2,3	8,7		2,7	4,1	5,9
Threonine	Agit en association avec l'acide aspartique et la methionine	4,1	3,8		1,9	2,2	4
Alanine	Rôle important dans le métabolisme du glucose	4,4	4,3		2	2,7	4
Proline	Synthèse du collagène et régénération du tissu musculaire	3,7	4,3		9,8	3	9
Tyrosine	Précurseur des neurotransmetteurs	3	30,8		0,6	2,3	0,9
Valine	Acide aminé ramifié	4,2	5		3,2	2,8	6,9
Methionine	Aa soufré à propriété anti-oxydante	1,9	1,1		1,3	0,8	0,4
Cysteine	Aa soufré à propriété anti-oxydante	1,5	1		1,6	0,9	2,1
Leucine	Acide aminé ramifié	10,5	8,2		5,6	4,2	6,7
Isoleucine	Acide aminé ramifié	4,2	4,7		3	2,6	4,1
Phenylalanine	Rôle dans la synthèse des catécholamines (source de tyrosine)	2,6	5,5		4,2	2,6	4,3
Lysine	Rôle dans la synthèse protéique	8,5	7,1		1,3	3,8	1,5
Tryptophane	Augmenterait la fatigue centrale	1,2	1		1	0,3	-
BCAA (%)		26					21
DIGESTIBILITE							
			95%	96%			
PIC DE CONCENTRATION EN AA DANS LE SANG							
		30mn	1h*				1,5 à 2 heures

- *Critères réglementaires*

Il est possible que les dérivés lactés soient difficilement disponibles pour l'alimentation animale sur le marché. En effet, l'article 3 du règlement européen CE n°1060/2009 définit ces produits comme des « sous-produits animaux » ou « produits dérivés », ce qui complique leur utilisation en alimentation animale au moment de cette étude.

Ce critère a entraîné une non sélection de la whey protein, pourtant très étudiée en médecine humaine.

- *Choix du mélange final*

Le type de maltodextrine retenu est la maltodextrine IT19 (1.5 g/kg), le choix se portant vers une matière première à index glycémique élevé.

En ce qui concerne la source de protéine, nous aurions souhaité mélanger whey protein (absorption rapide-0,3 g/kg) ou protéine de pois, et protamine (absorption plus lente-0,2 g/kg). La fourniture en whey protein étant incertaine pour des raisons réglementaires, nous n'avons pas pu utiliser cette source protéique. Le mélange protéine de pois + protamine se révélant insoluble à température ambiante (formation d'un précipité même avec 300 mL d'eau), nous avons choisi comme source protéique unique la protamine.

3.3. Test d'un supplément nutritionnel post-effort chez le chien d'utilité

La définition de la composition analytique et matières premières du supplément en cause ayant été définies, il devient possible d'envisager le test de validation. Là encore, afin de demeurer le plus proche possible des missions opérationnelles, les tests mis en place sont réalisés sur le terrain et concernent des chiens de l'armée de terre française.

Les photos 13 à 15 illustrent le protocole réalisé.



Photo 13 : Relevé de paramètres physiologiques post-effort



Photo 14: Consommation spontanée du supplément nutritionnel testé en mélange de l'eau d'abreuvement en post-effort

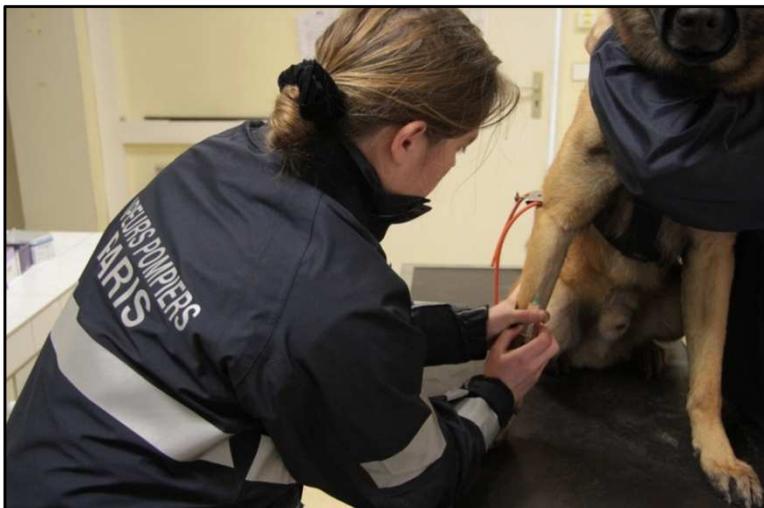


Photo 15 : Prélèvement sanguin 1 heure après la fin de l'épreuve test

3.3.1. Matériel et méthodes

3.3.1.1. Les chiens

Douze chiens Bergers Belges Malinois âgés de 2 à 5 ans (moyenne d'âge : 3,7 ans) sont inclus dans l'étude. Ils appartiennent au 132^{ème} Bataillon cynophile de l'armée de terre basée à Suippes (France). Ils sont logés en chenil, et sont entraînés cinq jours par semaine pour réaliser leurs missions opérationnelles (éclairage et assault). La note d'état corporelle des chiens est de 3 à 4 (moyenne : 3,4) sur une échelle de 9 points, et leur poids moyen de 29kg. Tous sont en bonne santé selon l'examen clinique, et les examens biochimiques pratiqués avant le début de l'étude. Ils sont nourris avec un aliment industriel formulé pour le chien adulte, sans spécificité liée à l'exercice physique (Profine®, Adult dog)

3.3.1.2. Le supplément nutritionnel

Le supplément testé est constitué d'un mélange de 25% de maltodextrine IT19 , et de 75% d'une source de protéine (protamine- BCF®). La dose distribuée par chien est de 2g/ kg de poids corporel du mélange dilué dans 150mL d'eau. La solution est bue spontanément par l'ensemble des chiens sous le contrôle permanent d'un vétérinaire. Ce supplément est distribué cinq minutes après la fin de la période d'exercice physique du chien. Le groupe non-supplémenté consomme 150mL d'eau pure.

3.3.1.3. Le protocole d'exercice physique

Chaque chien effectue deux fois le protocole d'exercice physique (étude en cross-over) : une fois dans le groupe non supplémenté (CG : groupe contrôle), et une fois dans le groupe non supplémenté (SG : groupe supplémenté). Entre les deux sessions d'exercice, une période de washout de 15 jours sans consommation de supplément a eu lieu. La session durant laquelle le chien est supplémenté a été déterminée par table de randomisation.

Le protocole (figure 22) comprend trois périodes d'exercice physique pour le chien séparées entre elles par une heure de récupération. Chaque période inclut : trois allers-retours sur 50 mètres à vitesse maximale (obtenus grâce à un objet de motivation porté par un homme assistant), puis 20 minutes de course à 14km/h (vitesse contrôlée par un GPS fixé sur le vélo du conducteur cynotechnique), puis trois allers-retours à vitesse maximale sur 50 mètres à

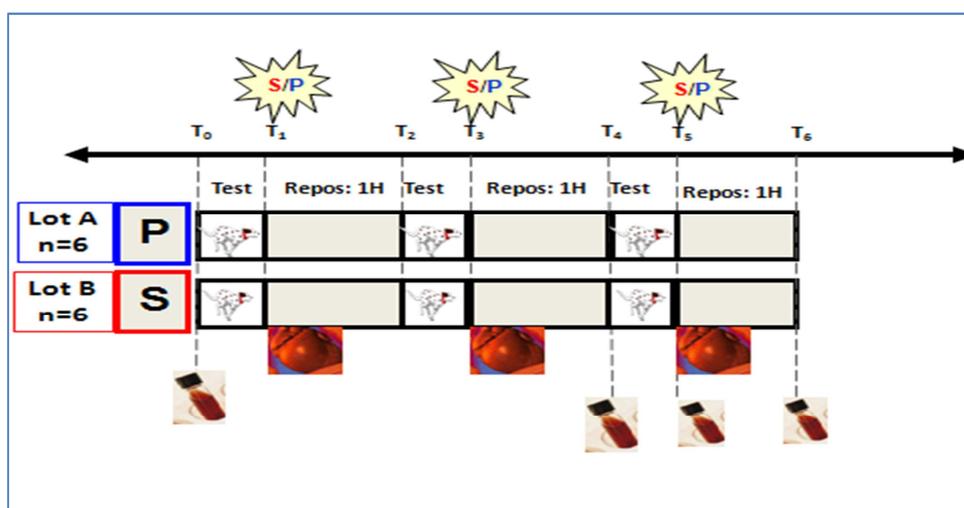
nouveau. Durant la course, les chiens portent un harnais mais n'effectue aucun effort de traction (course au pied, pratiquées de manière hebdomadaire dans les deux mois précédents les tests afin d'habituer les chiens à cette approche).

Figure 22 : protocole d'exercice physique suivi par les chiens.

S/P représente les moments où les chiens consomment le supplément ils sont dans le groupe supplémenté



..suivi des paramètres physiologiques pendant 30 minutes (T_n , $T_n + 10$ min ; $T_n + 20$ min ; $T_n + 30$ min).



Ce protocole a été validé par le comité d'éthique de la société MARS-ROYAL-CANIN, et le comité d'éthique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Outre la présence de 12 personnels cynotechniciens du 132^{ème} BCAT, la présence de quatre vétérinaires aux relevés individuels de paramètres physiologiques et prélèvements sanguins, ainsi que deux vétérinaires en charge du traitement immédiat des prélèvements fut nécessaire.

3.3.1.4. Les paramètres biologiques

Paramètres physiologiques

Les paramètres physiologiques sont relevés :

- avant le début de chaque période d'exercice (T_0 , T_2 , T_4),
- juste après l'exercice avant consommation de la dose de supplément (T_1 , T_3 , T_5) ;

- pendant la phase de récupération immédiate à 10, 20 et 30 minutes après la période d'exercice (T1+10mn, T1+20mn, T1+30mn, T3+10mn, T3+20mn, T3+30mn, T5+10mn, T5+20mn, T5+30mn) ;

- une heure après la fin des trois périodes d'exercice (T6).

Les paramètres physiologiques relevés incluent : la température rectale, la fréquence cardiaque (prise au pouls et au stéthoscope), et la fréquence respiratoire (mesurée gueule fermée).

Prise de sang

Une prise de sang est effectuée à la veine jugulaire droite ou gauche du chien à T0, T4, T5, T6. Le sang est réparti entre deux tubes secs, et un tube hépariné.

Paramètres biochimiques

- Les lactates sont analysés immédiatement après prélèvement sur sang total à l'aide d'un analyseur portatif Accutrend Plus (Roche®).

- Les triglycérides, le cholestérol, la glycémie, l'urée, la créatinine, les protéines totales, le sodium, le potassium, le magnésium, l'insuline, le glucagon, les créatines kinases, et la C-Reactive Protein (CRP) sont analysés. Après centrifugation immédiate des prélèvements et congélation du serum dans de la carboglace, ils sont analysés par un laboratoire vétérinaire (Iddex®) par kit de dosage spécifique de l'espèce canine. Les pro-BNP sont également analysées après prélèvement dans des tubes spécifiques (Cardiopet®) et envoi au laboratoire Iddex®.

Marqueurs de l'inflammation

Les interleukines IL1 β , l'IL6, IL8, IL10, IL15, et le TNF α sont analysés au service de biochimie clinique de l'hôpital Bichat (Paris). Immédiatement après prélèvement, le plasma est récupéré après centrifugation pour isolement des cellules mononuclées périphériques contenues dans le « buffle-coat ». Les cytokines sont ensuite dosées par dosage immunologique « Multiplex » en utilisant des anticorps spécifiques de l'espèce canine (Millipore Canine Cytokine 13-plex (Millipore®, Billerica, MA)).

Marqueurs du stress oxydatif

Le glutathion réduit, glutathion oxydé, les AOPPs (Advanced Oxidation Protein Products), et la MPO plasmatique (myeloperoxydase) sont analysés après congélation du

plasma au laboratoire de l'hôpital Bichat (Paris). Les AOPPs (Advanced Oxidation Proteins Products) ont été dosés selon la méthode décrite par Witko-Sarsat et al (2003). Le glutathion réduit (GSH) est dosé avec un kit canine Reduced Glutathione ELISA Kit (mybiosource®) selon le protocole du fabricant, et le GSSG par le kit Canine Oxidized Glutathione ELISA Kit (mybiosource®). La réaction se déroule à 25 °C pendant 10 min. Les lectures sont réalisées en absorbance ou en dérivée d'ordre deux avec le spectrophotomètre UV-visible Uvikon 860 (Kontron Instruments). Les spectres sont tracés entre 350 et 450 nm, avec une vitesse de balayage de 100 nm/min et un intervalle d'échantillonnage de 2 nm. La MPO est dosée sur un kit immunologique ELISA spécifique de l'espèce canine (MPO ELISA Kit-Cosmobio®).

Tests statistiques

Les tests statistiques ont été réalisés en utilisant les logiciels informatiques Tanagra® et Statistical Analysis System® (SAS). Des tests non paramétriques sont utilisés sur les données ne suivant pas une loi normale (paramètres physiologiques, cholestérol, CK, Mg, urée, glucagon, insuline, AOPP, GSH/GSSG): tests de Friedman et Wilcoxon. Sur les variables suivant une loi normale (lactates, glucose, pro-BNP, fructosamine, log triglycérides, log IL-6, log IL-8, log TNF α), des tests paramétriques (analyse de variance et covariance) sont réalisés. L'analyse de la kaliémie, la triglycéridémie, et de l'IL 10 a nécessité d'intégrer dans l'analyse statistique la valeur de ce paramètre à T0 en covariable, la valeur étant différente entre les lots à T0. Toutes les autres analyses ont inclus en covariable la durée de sprint total des chiens.

3.3.2. Résultats

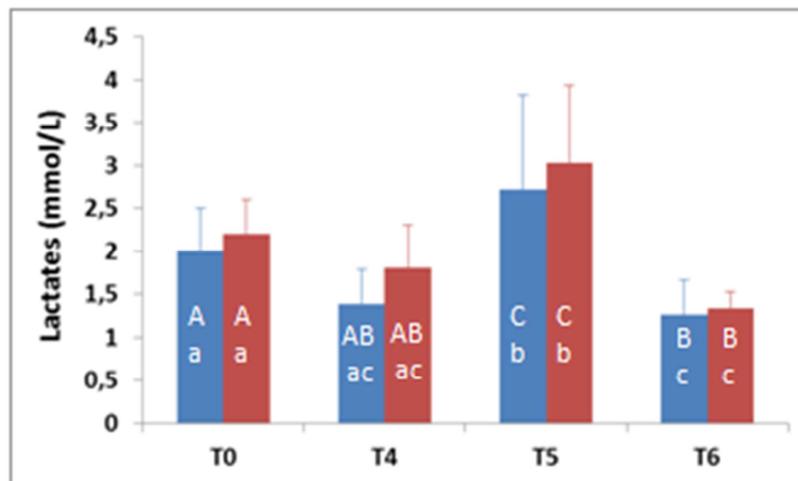
Paramètres physiologiques

L'évolution de la fréquence cardiaque, de la température, et de la fréquence respiratoire sont identiques dans les deux groupes de chien. Une augmentation significative de ces paramètres immédiatement après l'exercice est observée à T1, T3, et T5. Le retour à la valeur de base est observé 20 minutes après l'arrêt de l'exercice physique dans les deux lots. La supplémentation n'a aucun impact sur l'évolution de ces paramètres au cours des trois périodes d'exercice.

Paramètres biochimiques

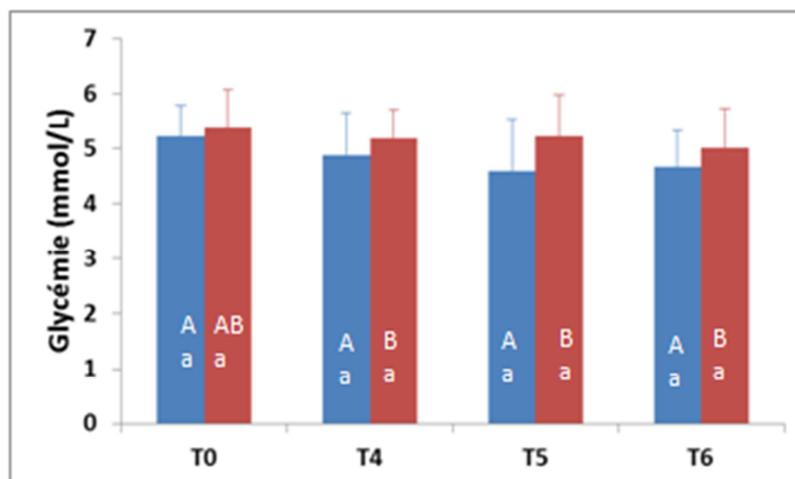
La lactatémie (figure 23) augmente de manière statistiquement significative entre T4 et T5 dans les deux lots ($p=0,01$). La lactatémie à T5, immédiatement après l'exercice, tend à être supérieure dans le groupe supplémenté. A T5, elle est de 2.72 ± 1.1 mmol/L dans le groupe non supplémenté alors qu'elle est de 3.03 ± 0.9 mmol/L dans le groupe supplémenté, sans que cette différence ne soit significative ($p=0,056$). A T6, la lactatémie est identique à T4 dans les deux groupes, mais inférieure à T0.

Figure 23 : évolution de la lactatémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).



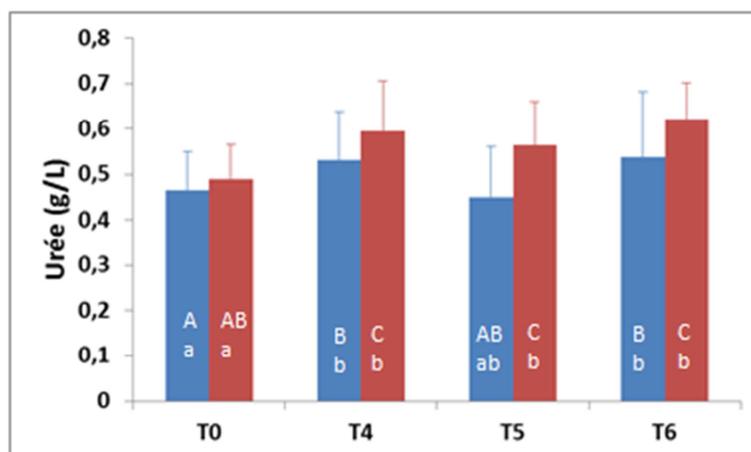
La glycémie est inférieure d'en moyenne 7.4% dans le groupe non supplémenté par rapport au groupe supplémenté à T4, T5, et T6 (figure 24). Aucune évolution de la glycémie dans le temps n'est observée dans chacun des groupes.

Figure 24 : évolution de la glycémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



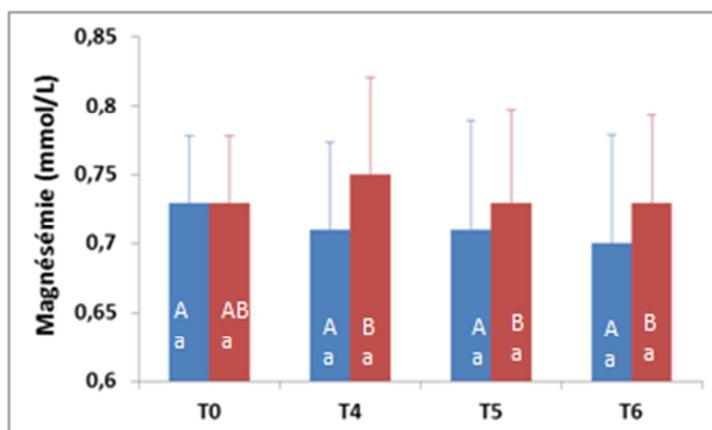
L'urée (figure 25) augmente entre T0 et T4, T0 et T6 ($p = 0,0056$ T0 vs T4, $p = 0,0007$ T0 vs T6). A partir de T4, elle est significativement supérieure dans le groupe supplémenté comparé au groupe contrôle à T4, T5, et T6

Figure 25 : évolution de l'urémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



La magnésémie (figure 26) est supérieure dans le groupe supplémenté à T4, T5, et T6 ($p=0,03$). Aucune évolution dans le temps n'est observée.

Figure 26 : évolution de la magnésémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).



La kaliémie (figure 27), et la triglycéridémie (figure 28) diminue de manière significative entre T0 et T4 (K : $p=0,013$; TG : $p=0,049$), se stabilisent entre T4 et T5, et restent diminué à T6 par rapport à T0 (K : $p=0,02$; TG : $p=0,001$) dans les deux groupes. La valeur à T0 étant différente en fonction du lot, cet élément a été pris en cofacteur dans l'analyse statistique.

Figure 27 : évolution de la kaliémie dans le temps dans les deux groupes. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti au seuil de significativité $p<0,05$).

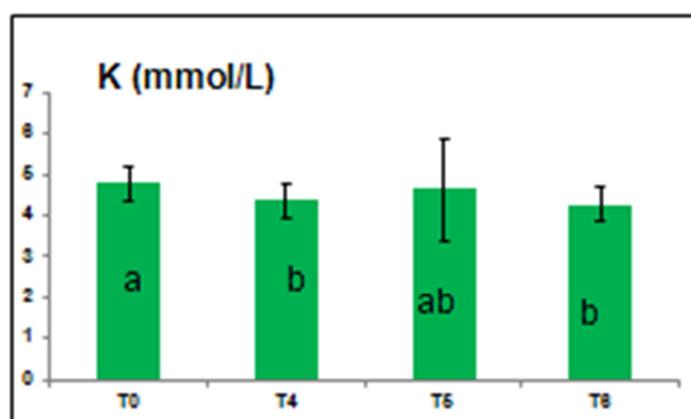
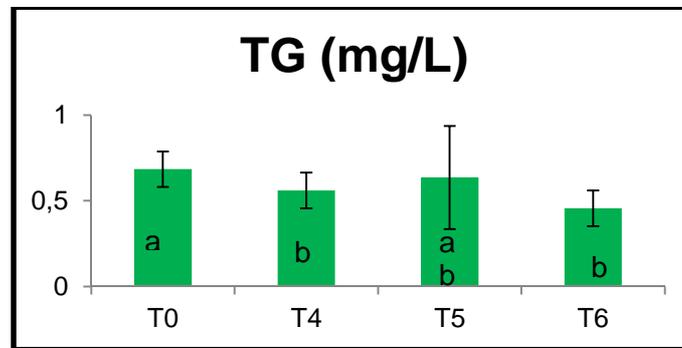


Figure 28 : évolution de la triglycéridémie dans le temps dans les deux groupes. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti au seuil de significativité $p < 0,05$). Les données ont été traitées en logarythme pour être distribuées normalement.

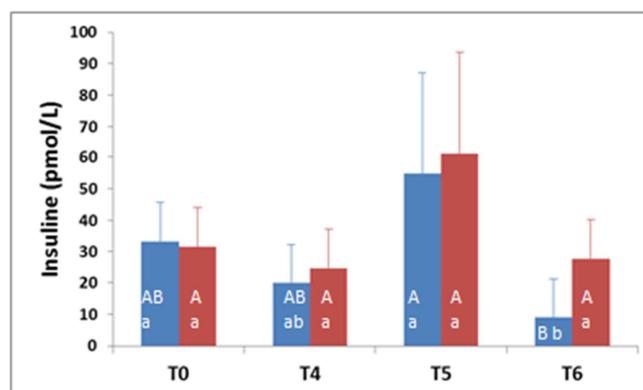


L'ensemble de ces paramètres restent dans les normes physiologiques du chien en bonne santé au repos. La creatinine, les protéines totales, le sodium, les fructosamines, et le cholestérol n'évoluent pas de manière significative durant l'exercice physique.

Evolution de l'insuline et du glucagon

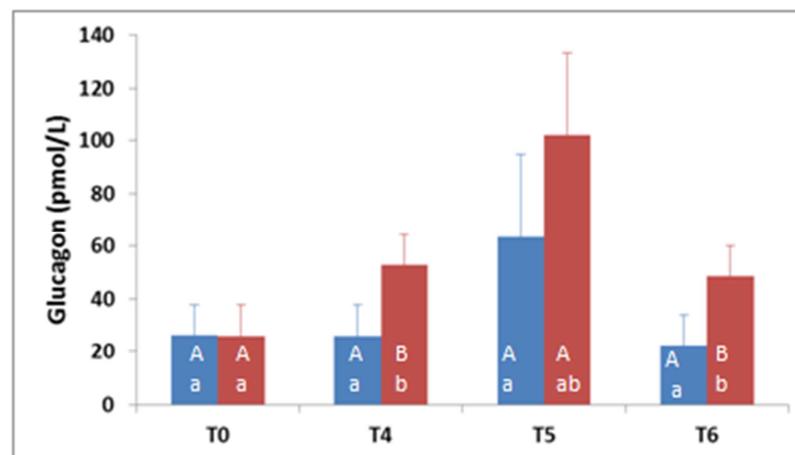
L'insuline (figure 29) n'évolue pas significativement entre T0 et T4, ni entre T4 et T5. Entre T5 et T6 elle diminue dans le groupe contrôle mais pas dans le groupe supplémenté. ($p=0.001$).

Figure 29 : évolution de l'insulinémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



Le glucagon augmente entre T0 et T4 dans le groupe supplémenté, mais pas dans le groupe contrôle ($p < 0,05$). Entre T5 et T6, l'insuline et le glucagon diminuent dans le groupe contrôle ($p = 0,0001$) mais restent élevés dans le groupe supplémenté (figure 30). Le glucagon est significativement plus élevé dans le groupe supplémenté à T6 par rapport au groupe témoin ($p < 0,0001$).

Figure 30 : évolution du glucagon dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).

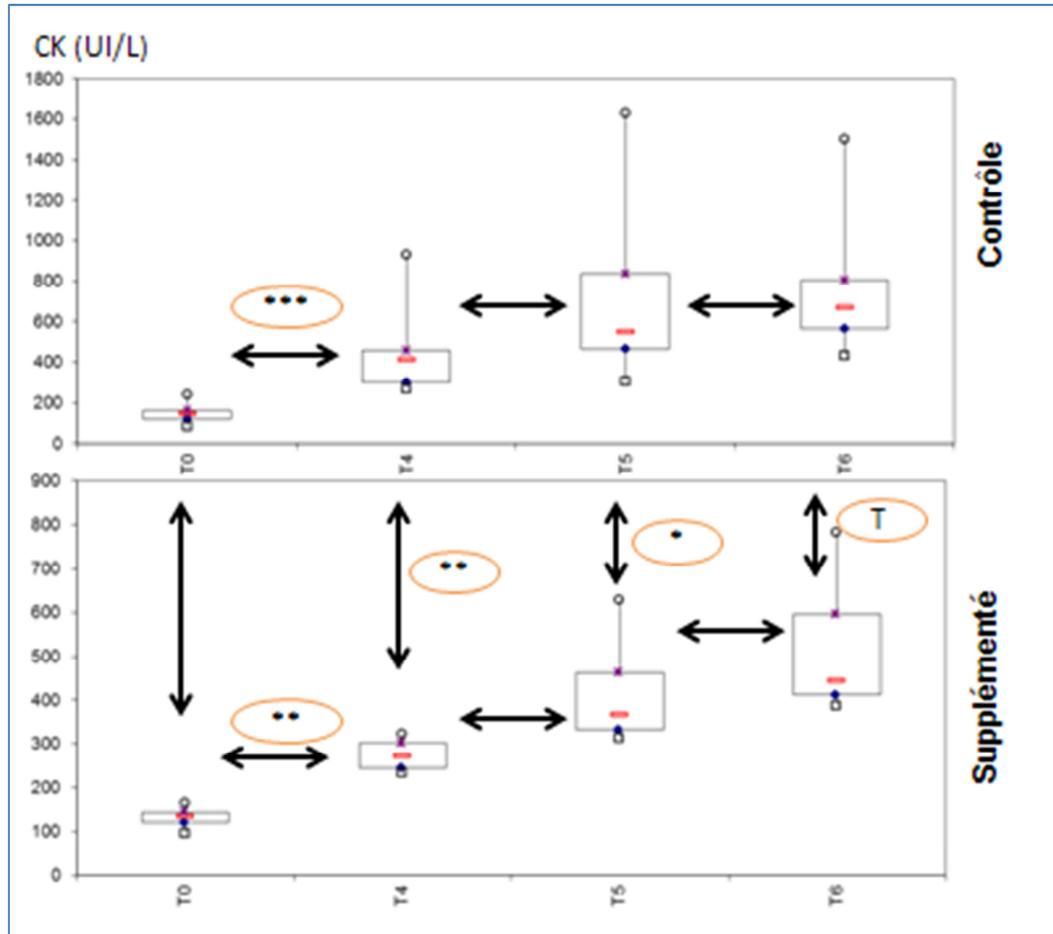


Evolution des marqueurs de l'inflammation et des lésions musculaires

Les créatine-kinases (figure 31) augmentent entre T0 et T4 dans les deux lots (CG : $p = 0,001$; SG : $p = 0,01$). A T4 et T5, les créatines kinases sont inférieures dans le lot supplémenté comparées au lot contrôle ($p = 0,001$ à T4, et $p = 0,01$ à T5). A T6, la différence entre les deux lots n'est plus significative ($p = 0,055$).

Figure 31 : évolution des créatines kinases entre le groupe témoin et le groupe supplémenté (comparaison verticale), et dans le temps (comparaison horizontale).

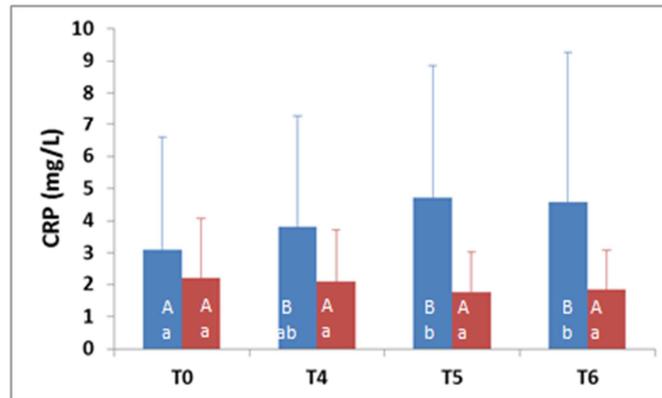
* $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** $p < 0,001$



Les pro-BNPs tendent à être inférieures dans le lot supplémenté mais cette différence est non significative ($p=0,053$). L'effort ne fait pas varier la valeur de pro-BNP.

A T4, T5, et T6 la CRP est supérieure dans le lot contrôle comparé au groupe supplémenté (figure 32). Une augmentation significative au cours de l'effort est observée dans le lot contrôle ($p < 0,05$) mais pas dans le groupe supplémenté.

Figure 32 : évolution de la C-reactive protein dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



A T6, le $\text{TNF}\alpha$ (figure 33) est inférieur dans le groupe supplémenté par rapport au groupe contrôle ($p=0.003$). Entre T0 et T6, la valeur évolue en augmentant significativement dans le groupe contrôle ($p=0.037$ pour T0 vs T6) mais pas dans le groupe supplémenté. La même évolution est observée pour l'IL6 (figure 34).

Figure 33 : évolution du $\text{TNF}\alpha$ dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).

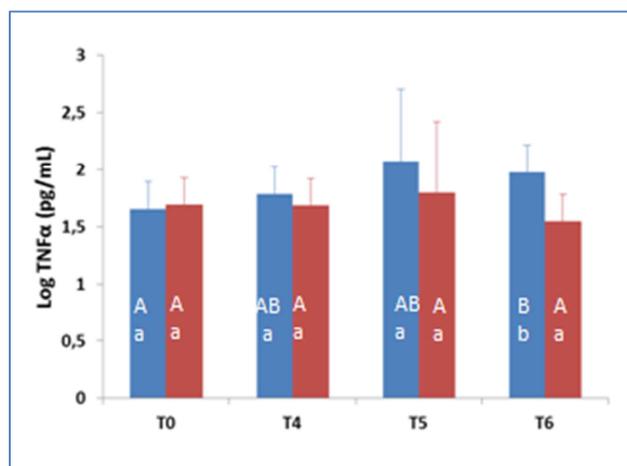
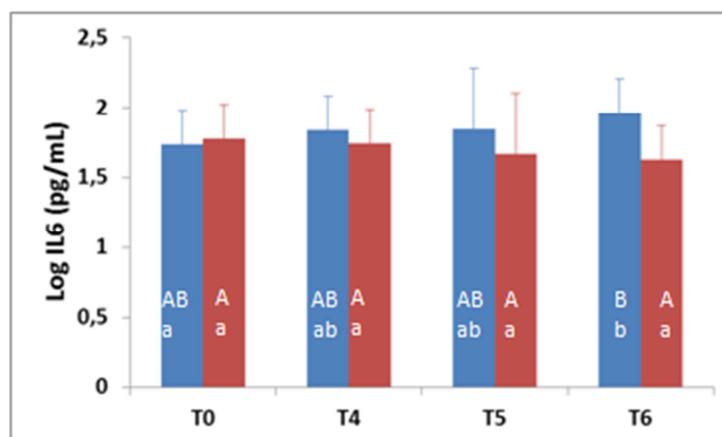
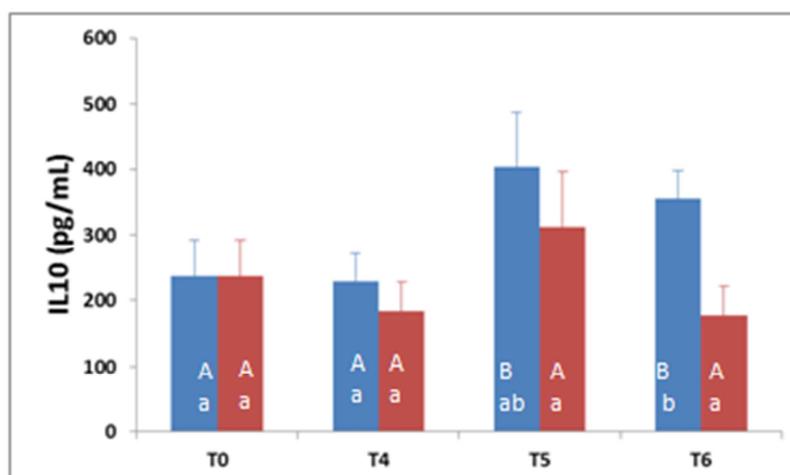


Figure 34 : évolution de l'IL6 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



L'IL10 (figure 35) augmente entre T4 et T6 dans le groupe contrôle 5 ($p=0.023$) mais pas dans le groupe supplémenté. A T5 et T6, l'IL10 est significativement supérieure dans le groupe contrôle.

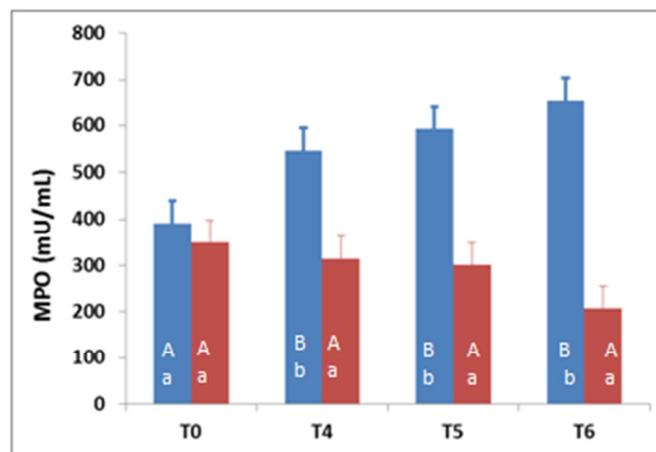
Figure 35 : évolution de l'IL10 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



Marqueurs du stress oxydatif

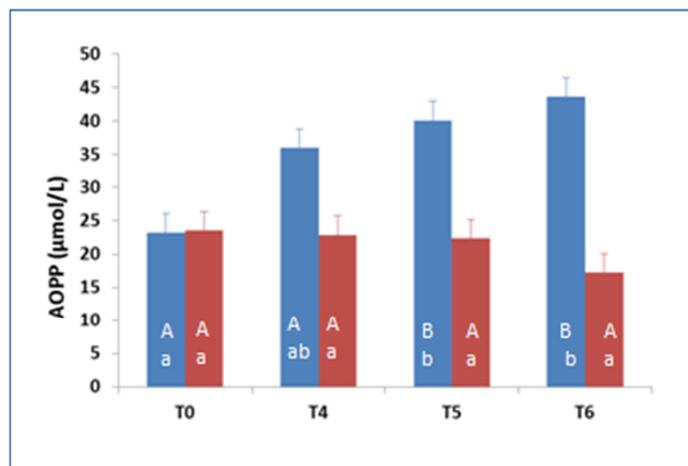
La myeloperoxydase plasmatique (figure 36) est plus élevée à T4, T5, et T6 dans le groupe contrôle (myeloperoxydase SG= 303 ±22.4mU/mL vs myeloperoxydase CG=580 ±19.3 mU/mL ; p<0,05). Elle augmente entre T0, et T4 (T5, T6) au cours de l'effort accumulé dans le groupe contrôle.

Figure 36 : évolution de la myeloperoxydase dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité p<0,05).



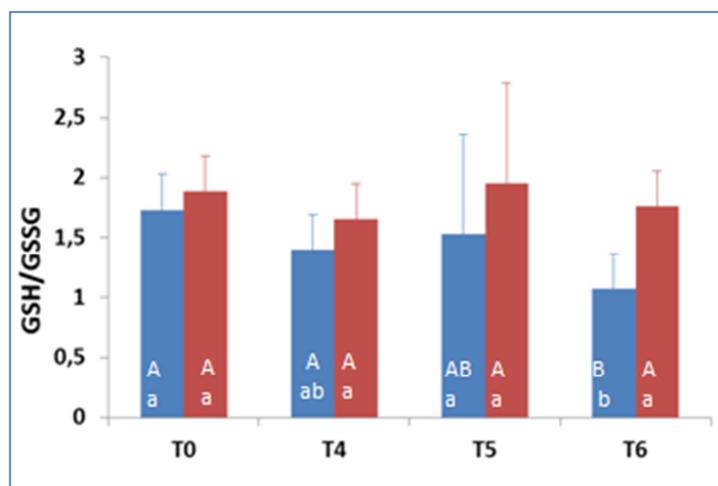
Les AOPPs (figure 37) augmentent entre T0 et T5 dans le groupe non supplémenté mais pas dans le groupe supplémenté. Cette différence persiste une heure après l'effort à T6. A T5, et T6, la quantité d'AOPP est supérieure dans le lot contrôle par rapport au lot supplémenté (p<0,01). A T5 et T6, les AOPPs sont significativement plus élevés dans le groupe contrôle par rapport au groupe supplémenté.

Figure 37 : évolution des AOPPs dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



L'évolution du rapport GSH/GSSG (glutathion réduit par glutathion oxydé) est une diminution de ce paramètre entre T5 et T6 dans le groupe contrôle mais pas dans le groupe supplémenté (figure 38). A T6, le rapport GSH/ GSSG est supérieur dans le groupe supplémenté ($p < 0,01$).

Figure 38 : évolution du rapport GSH/GSSG dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p < 0,05$).



3.3.3. Discussion

Aucun impact de la supplémentation n'a été observé chez le chien militaire au regard de l'évolution des **paramètres physiologiques**. Il est possible que l'attitude des chiens, stressés pour la plupart par la manipulation est limitée la fiabilité de nos paramètres (Angle et al., 2009). Nous aurions aimé développer un matériel permettant une mesure en continu de la fréquence cardiaque, mais les méthodes de télémétrie actuellement disponible chez le chien imposent de raser le chien pour utiliser le dispositif, ce que nous ne pouvions pas faire sur des chiens opérationnels (Vincent et al., 1997).

Une augmentation des lactates plasmatiques, et de la glycémie lors de l'exercice est observée dans les deux groupes de chien, qui fait appel à un métabolisme pour part non négligeable de type anaérobie. Cette évolution est compatible avec le type d'exercice demandé au chien dans cette étude. Aucune donnée spécifique n'existe sur le chien militaire lors de ce type d'exercice. Cependant, une évolution identique est observée après un effort chez le Greyhound de course (Rose et al., 1989), le chien d'agility (Rovira et al., 2006), ou le chien traîneau de sprint sur courte distance (Wakshlag et al., 2002). L'augmentation de l'urée en cours d'effort est rapportée par les auteurs précédents en lien avec un turn-over protéique augmenté. La consommation du supplément augmente l'urémie après effort, ce qui est en lien avec la consommation du supplément une heure avant la prise de sang (Reynolds et al., 1995). L'augmentation de la magnésémie est probablement liée à la consommation de magnésium dans le supplément. Cette augmentation peut présenter un intérêt chez le chien à l'effort sur lequel une diminution du magnésium plasmatique est rapportée (Wolter, 1987). La diminution de la kaliémie lors d'un l'effort a également été rapporté principalement chez le chien de traîneau (Mc Kenzie et al., 2007 ; Hinchcliff et al., 1997). Chez le chien de traîneau, les valeurs au repos de la kaliémie sont dans les valeurs basses des intervalles de référence. L'aldosterone est supposée être à l'origine de la conservation limitée des cations chez ces chiens.

La moindre augmentation des **créatine-kinases** lors du dernier exercice physique dans notre étude suite à une supplémentation en carbohydrates et protéines n'a jamais été décrite chez le chien, les études précédentes s'étant focalisées sur la recharge musculaire des réserves glycogéniques (ce qui nécessitait des biopsies musculaires refusées dans notre cas par le comité d'éthique). La créatine kinase est une enzyme libérée au niveau musculaire, et dont l'augmentation est liée à des dommages musculaires importants (Chanoit et al., 2001). On peut regretter de ne pas avoir pu doser les CK-MB, permettant d'évaluer la part des lésions myocardiques et être plus spécifique sur les impacts au niveau du muscle squelettique dans

cete étude. Cette moindre augmentation suite à une supplémentation en protéines post-effort a été décrite dans d'autres espèces telles que le sportif humain (Salinas-Garcia et al., 2014) ou le cheval (Peters et al., 2013).

L'insuline et le glucagon impactent la recharge en glycogène du muscle squelettique durant la période suivant immédiatement l'effort, mais les corrélations directes entre l'évolution de ces paramètres et la recharge glycogénique effective serait un raccourci non vérifié (Wakshlag et al., 2002). L'insulinémie et le glucagon plasmatique sont inférieurs à T4, et T6 dans le groupe ne consommant pas de supplément. Cet élément est comparable aux résultats des études antérieures chez le chien, la consommation d'un supplément entraînant une augmentation de la glycémie immédiate qui est régulée immédiatement. Cette augmentation persistente du glucagon dure dans les 2 heures suivant l'exercice, et n'impact pas négativement la recharge glycogénique (Reynolds et al., 1999). En revanche, cet auteur rapporte une diminution de l'insulinémie lors de l'effort que nous ne retrouvons pas dans notre étude. Cependant, nos modèles d'étude sont très différents : le chien de traîneau (Reynolds et al., 1997 ; Wakshlag et al., 2002), et un effort mixte aero-anaérobie de 40 minutes. De plus, les études antérieures se sont intéressées à une supplémentation unique en post-effort après une unique période d'exercice. Dans notre étude, nous avons enchaîné trois périodes d'exercice avec une supplémentation systématique en post-effort, et avons réalisé les dosages biochimiques au début des exercices, puis avant et après la troisième période d'exercice. Ainsi, les chiens du groupe supplémenté avaient déjà été supplémentés deux fois dans les quatre dernières heures lors de la prise de sang en post-effort immédiat montrant.

Trois marqueurs du **stress oxydant** dans notre étude (AOPPs, myeloperoxydase, rapport glutathion réduit/ rapport oxydé) sont en faveur d'un moindre stress oxydatif dans le lot supplémenté. La présence de glutamine et d'acides aminés ramifiés (Kerasioti et al., 2004) dans le supplément peut avoir un effet direct sur le stress oxydatif cellulaire en fournissant des précurseurs aux enzymes anti-oxydantes de l'organisme chez l'homme (Cruzat et al., 2014). L'apport de carbohydrates en post-effort immédiat a également entraîné une réduction du stress oxydatif. Un lien est possible entre l'amélioration de la protection des membranes à l'effort, et la moindre augmentation des CKs dans notre étude. Cependant, dans notre étude, les chiens consommant un aliment de base non supplémenté en anti-oxydants, des études seraient nécessaires pour vérifier l'impact d'une supplémentation en carbohydrates et protéines en post-effort sur le stress oxydatif avec un aliment servant de base à la ration dédié au chien de service.

Concernant l'**inflammation**, la CRP augmente à l'effort dans les deux groupes. L'augmentation de l'IL-6, du TNF α , et de l'IL10 est inférieure dans le groupe supplémenté durant l'effort physique, et augmente au cours de l'effort dans le lot contrôle. Cette augmentation a été rapporté chez l'Homme (DRENTH et al., 1985), mais pas chez le chien de traineau longue distance (Wakshlag et al., 2010). L'IL6 est une myokines dont l'augmentation semble être corrélé à une diminution des réserves glycoliques chez l'homme ou le rat (Kilic et al., 2014 ; Bienso et al., 2014). Dans notre étude, aucune variation n'est observée quant à l'expression de cette cytokine entre le début et la fin de l'étude. On peut là-aussi se poser la question d'un exercice d'intensité suffisante pour observer cette évolution.

3.3.4. Conclusion

Au total, il apparaît que cette supplémentation mixte maltodextrines / protéines se révèle avoir un intérêt au plan de la réponse biologique de l'animal au travail :

- amélioration de la réponse au stress oxydatif d'effort, sans doute par une meilleure valorisation de la glycolyse anaérobie au détriment d'une oxydation lipidique très productrice de radicaux libres ;
- génératrice d'une prévention qui semble effective au regard des résultats concernant l'évolution des médiateurs de l'inflammation étudiés ;
- probablement source d'une meilleure recharge glycolique post-effort, même si dans notre cas l'absence de biopsies ne permet pas de quantifier celle-ci, la réponse hormonale étant similaire à celle de précédentes études chez le chien.

Ces résultats demandent bien-sûr à être confirmés en d'autres situations, mais aussi affinés :

- intensification de l'effort réalisé par les chiens, afin d'explorer plus précisément les mécanismes inflammatoires ;
- précision du moment idéal de supplémentation, et du nombre de prise idéale du supplément ;
- examen du devenir des acides aminés fournis.

Il s'agit là d'une étape qui pourrait conduire l'industrie à envisager de nouvelles études.

3.4. Publication et communications générées

Ce travail a fait l'objet d'un dépôt de **brevet industriel** pour la société Royal-Canin, et n'a de ce fait pas encore été publiée (annexe 4).

La **communication** en tant que protocole expérimental détaillé est donc limitée aux présentations suivantes :

1. Interest of a nutritionnal supplementation in working/ sporting dogs.
Possible positive impacts on inflammation, oxidative stress and glycogen replacement.
International Sled Dog Veterinary Medecine Congress
Burlington (USA), 26/09/2014
2. Nutrition and feeding methods as a preventive tool regarding main pathological problems in the working dogs, with a special attention to immediate recovery period.
Royal Canin International Working Dogs Convention
La Grande-Motte (France) ; 6-9/10/2014
3. Pre, per and post work nutritionnal supplementation in the working dog.
Lecture to students. University of Florida ;
College of Veterinary Medecine ; Gainseville, Florida (USA) ; 22/01/2015
4. Nutrition and feeding methods as a preventive tool regarding main pathological problems in the working dogs, with a special attention to immediate recovery period. Internanional working and sporting dogs conference
Helsinki (Finland) ; 25/04/2015

4. Discussion générale

Le travail intense très fréquemment réalisé par les chiens dits « de service » ou « d'utilité » (de même que le chien sportif de compétition) est inducteur, comme chez l'homme ou le cheval, d'une dépense énergétique qui ne peut se résumer à son approche calorique quantitative, mais aussi d'un stress à la fois organique et mental dont les conséquences organiques et cellulaires se cumulent. Il en ressort que l'adaptation nutritionnelle nécessaire se doit de prendre en compte le besoin énergétique spécifique, lié au(x) métabolisme(s) en cause dans le travail musculaire demandé, mais également les besoins nutritionnels engendrés par l'état de stress de l'animal.

Ce faisant, l'alimentation canine constitue l'un des piliers de la performance de travail (ou sportive), au même titre que la génétique, l'entraînement (physique ou spécifique de fonction), ou la « psychologie » (assimilable à la motivation de travail induite chez le chien par les comportements de son conducteur).

Le chien de travail est un athlète de haut niveau dans de très nombreux cas, et à bien des égards il est aussi un modèle d'approche nutritionnelle, les retombées potentielles de cette connaissance étant non négligeables pour les chiens dits « de compagnie » se trouvant dans un environnement strictement affectif.

L'objectif de ce travail de thèse était de rechercher des moyens d'optimisation du plan de nutrition du chien durant l'effort.

La revue de la bibliographie telle que présentée comporte plusieurs études dont la plupart ont été réalisées sur des chiens sportifs, avec le Greyhound (lévrier de course) comme modèle d'effort court et intense, et le chien de traîneau comme modèle d'effort de longue durée à intensité modérée. L'alimentation complète hyperlipidique, contenant de plus une quantité élevée de protéines, et certaines aides ergogènes de l'effort a donc déjà été l'objet de plusieurs études. Certains industriels, tel que la société Royal-Canin®, ont donc déjà utilisé ces données afin de proposer une gamme d'aliment pour les chiens sportifs en se basant sur la typologie d'effort pratiqué par le chien : court et intense, intensité moyenne, endurance, et ultra-marathon. Cet aliment complet, permet d'instaurer une routine alimentaire chez le chien pour qui la routine est signe de confort digestif, et mental. Il doit :

- fournir une énergie de qualité optimale en quantité adéquates ;
- minimiser autant que possible le volume et le poids du bolus intestinal ;
- contribuer à maintenir un état d'hydratation convenable de l'animal ;

-contribuer à optimiser le résultat d'autres actions ergogènes et de l'entraînement physique ;

- combler les vides physiologiques induits par le stress (protéiques en particulier) ;
- permettre de lutter contre l'émergence des conséquences cliniques du stress.

Malgré la grande qualité de ces aliments complets, il est parfois difficile d'adapter les apports en fonction des variations brutales de besoins que peuvent rencontrer les chiens d'utilité lors de leurs missions opérationnelles.

C'est ce constat qui nous a conduits à développer le travail présenté dans ce document, en insistant sur le côté opérationnel de l'approche. Etant par ailleurs vétérinaire capitaine au sein de la Brigade de Sapeurs-Pompiers de Paris, et conseiller technique cynotechnique, il nous est difficile de nous départir de la notion d'amélioration de l'efficacité de chiens engagés dans le sauvetage de vies humaines. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à développer un supplément permettant de fournir rapidement une quantité supplémentaire d'énergie adaptée, et d'aides ergogènes d'effort. L'apport d'acides gras à chaînes courtes et moyennes présente l'intérêt d'une digestion rapide par l'organisme, et d'apporter dans le sang des acides gras libres plasmatiques importants pour fournir un substrat à oxyder par le muscle au cours de l'effort. On pourrait d'ailleurs qualifier ces graisses de « graisses rapides ». Les impacts positifs de cette supplémentation sur les marqueurs physiologiques et biochimiques sanguins examinés indiquent un intérêt de ce type de supplément avant et pendant l'effort chez le chien au travail. Une telle supplémentation avant effort n'avait pas été étudiée chez le chien avant cette première étude. Chez l'homme, les effets bénéfiques potentiels suspectés d'une supplémentation en acides gras à chaînes courtes et moyennes lors des efforts d'endurance n'ont été retrouvés que dans certaines études. La tolérance importante du chien aux lipides aide s'en doute à favoriser l'utilisation et la tolérance de ce type de supplémentation avant et pendant effort. Néanmoins, l'utilisation de ce supplément sous forme d'aliment sec doit être accompagnée d'une hydratation suffisante au cours du travail, surtout lors d'un travail en environnement hostile. Ce premier travail n'est pas resté sans suite puisque la société Royal-Canin® a dès l'obtention des résultats développé une fabrication industrielle débouchant à la mise sur le marché du supplément auquel nous étions parvenus dont le nom commercial est « Energy Booster ». Il ne peut être que satisfaisant de constater qu'un tel produit se trouve aujourd'hui commercialisé dans le monde entier, et donne entière satisfaction aux professionnels du chien de service (armée, police, pompiers, douaniers...) ainsi qu'aux propriétaires de chiens de compétitions incluant de l'endurance.

Dans un second temps, nous avons étudié l'intérêt d'un supplément post-effort riche en carbohydrates et en acides aminés ramifiés. Les études antérieures réalisées sur le chien ont montré un intérêt d'une supplémentation en carbohydrates dans les 30 minutes suivant l'effort pour favoriser la réplétion des réserves glycogéniques (Reynolds et al., 1997 ; Wakshlag et al., 2002 ; Mc Kenzie et al., 2005). Chez l'humain, l'addition acides aminés ramifiés en post-exercice favorisera l'efficacité de la recharge glycogénique post-exercice, et permettra d'améliorer l'anabolisme protéique (Burke et al., 2011) bien que des résultats contradictoires existent encore. Chez le chien, les rares études disponibles dont notre propre travail semblent fournir des résultats encourageants qui nécessitent néanmoins encore d'être approfondis ; l'existence d'un dépôt de brevet augure une possibilité ultérieure d'approfondissement ; nous avons déjà, au sein de l'Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport de l'ENVA, mené une troisième étude de terrain, en Alaska, sur un groupe de 20 chiens de traîneau. L'analyse des prélèvements n'est malheureusement pas terminée faute de financement.

A l'examen des résultats obtenus, des lacunes apparaissent qui touchent à la non réalisation de certains paramètres intéressants (acides gras plasmatiques libres, glycogène musculaire), ou à la non possibilité technique à ce jour de relevé non invasif de données en continue au cours de l'effort (fréquence cardiaque, électrocardiogramme, température corporelle ou mesure de la VO₂max).

La conception en cross over des protocoles systématique, avec randomisation demeure une méthode efficace pour examiner les groupes de petite taille, et en ne subissant pas les aléas des protocoles terrains. Nous sommes néanmoins conscients du fait que nos résultats auraient été plus probants et plus facilement valorisables en utilisant des groupes plus élargis. Il restera de ce travail, outre les présentations, posters et articles, l'existence concrète d'un supplément nutritionnel dont les retours « terrain » sont excellents, et d'un brevet, qui nous l'espérons verra l'émergence d'un second produit qui permettra de couvrir l'ensemble des phases de travail du chien.

Conclusion et perspectives

La nutrition est un élément clé du maintien de la performance chez le chien actif. De nombreuses études se sont intéressées à cette partie de la préparation de l'athlète canin en recherchant la composition idéale d'un aliment complet chez le chien de traineau ou le Greyhound. Chez le chien de service, les progrès en matière d'alimentation ont permis de passer d'une durée moyenne de vingt minutes de travail sur un effondrement pour un chien de recherche en décombre en conditions environnementales favorables à une moyenne de 40 minutes de travail. Cependant, lors de recherches répétées avec une accumulation de fatigue physique et mentale, une diminution des capacités demeure visible. Le développement de suppléments nutritionnels dédiés a pour objectif de prévenir les effets néfastes d'un exercice physique intense pour limiter la fatigue physique et conserver une aptitude opérationnelle optimale. Ce travail a donc permis le développement de deux suppléments nutritionnels dédiés, pré- et per-effort d'une part, ainsi qu'un supplément post-effort d'autre part présentant un intérêt certain pour limiter l'inflammation et le stress-oxydatif induits par l'effort.

Il serait cependant utile de pouvoir tester d'autres compositions suppléments (tel que des dosages différents ou une composition en acides aminés différente), d'autres moments de supplémentation (tel que la répartition de la prise post-effort de carbohydrates), afin d'améliorer la réponse de l'organisme à la prise de supplément. De plus, l'impact des environnements extrêmes, et notamment les températures extérieures élevées, restent peu exploré chez le chien. Si l'alimentation hyperlipidique a fait ses preuves, elle demeure difficile à mettre en œuvre dans un environnement très chaud, problème auquel se heurtent les armées et corps de sécurité civile amenés à projeter des chiens de travail en climats chauds. La mise au point de process de cristallisation des acides gras permettant d'élever le point de fusion des graisses alimentaires est une piste, suite à laquelle il faudra vérifier les capacités de digestion de celles-ci par le chien. Il apparaît également que dans ces conditions, une supplémentation dédiée puisse être développées. Sur un autre plan, et ce même si le côté hyperlipidique d'un aliment apporte une fourniture interne en eau métabolique (107 grammes d'eau produite pour 100 grammes de lipides oxydés), peut-on œuvré via la nutrition vers une meilleure prévention des phénomènes de deshydratation extra-cellulaire induit par l'effort ? Si le glycérol a dans ce cadre montré une efficacité, sa toxicité potentielle mal utilisé réduit considérablement ses applications sur le terrain. Une diminution de la teneur fécale en eau via l'utilisation de certaines fibres est une piste à prendre en compte.

Un autre élément à travailler pour le futur est le niveau maximum de certains micronutriments pour optimiser la prévention. Ainsi, une quantité trop élevée d'anti-oxydants peut être à l'origine d'une amplification de phénomènes inflammatoires par défaut de signalisation cellulaire. Depuis les années 90, les recherches sur le stress oxydatif se sont multipliées, permettant une limitation de la production de radicaux libres à l'effort, sans pour autant réussir à réduire l'incidence de certains signes cliniques. De plus, les molécules produites lors d'une inflammation ont un fort impact sur l'immunité ce qui peut rendre l'individu plus sujet aux infections, problématique d'autant plus importante que les chiens de service sont souvent logés en collectivité de type chenil. Les impacts de ces phénomènes sur le tube digestif et l'arbre respiratoire semblent aussi important à explorer pour prévenir les troubles gastro-entériques et respiratoires (bronchiques notamment). Une meilleure compréhension des mécanismes inflammatoires et de leurs liens avec le stress oxydatif cellulaire est donc essentielle pour l'avenir. Nous avons vu qu'un mélange carbohydate + protéine peut être intéressant pour limiter la réaction inflammatoire en post-effort. Nous avons récemment poursuivi les recherches en collaboration avec la composante vétérinaire du Service de Santé des Armées, en menant une étude pilote avec le 132^{ème} GCAT s'intéressant à l'impact d'une complémentation en levures deshydratées. A ce jour, seule l'étude préliminaire étant réalisée, nous ne l'avons pas présentée dans ce travail. Cette étude a fait l'objet d'un poster et d'une présentation orale au 9th International Working Dog Congress qui s'est déroulé à la Grande Motte (France) en Mars 2015.

Nous souhaitons et espérons pouvoir consacrer à ces possibles perspectives nos années professionnelles à venir, sans jamais déroger à la notion d'application concrète sans laquelle tout ceci ne serait que fumée éphémère.

Bibliographie

AAHA. Journal of the American Animal Hospital Association 2010.

ADKINS T., KRONFELD D. Diet of racing sled dogs affect erythrocytes depression by stress. Canadian Veterinary Journal 1982, 23, 260-263.

AHLSTROM O., SKERDE A, SPEAKMAN J, REDMAN P, VHILE SG, HOVE K. Energy expenditure and water turnover in hunting dogs: a pilot study. Journal of nutrition 2006, 136 (7), 2063-2065S

ALTOM EK, DAVENPORT GM, MYERS LJ, CUMMINS KA. Effect of dietary fat source and exercise on odorant-detecting ability of canine athletes. Research in veterinary Science 2003; 75: 149-155

ANGLE CT, WAKSHLAG JJ, GILLETTE RL, STOKOL T, GESKE S, ADKINS TO. Hematologic, serum biochemical, and cortisol changes associated with anticipation of exercise and short duration high-intensity exercise in sled dogs. Vet Clin Pathol 2009; 38:370–374.

BALTZER WI, FIRSHMAN AM, STANG B, WARNOCK JJ, GORMAN E, MCKENZIE EC. The effect of agility exercise on eicosanoid excretion, oxidant status, and plasma lactate in dogs. BMC Vet Res. 2012; 28 (8) : 249.

BASKIN C., HINCHCLIFF K., DI SILVESTRO R., REINHARD G., HAYEK M., CHEW B., BURR J., SWENSON R. Effects of dietary antioxidant supplementation on oxidative damage and resistance to oxidative damage during prolonged exercise in sled dogs. American Journal of Veterinary Research 2000 61,886-891.

BAUER JE. Facilitative and functional fats in diets of cats and dogs. J Am Vet Med Assoc 2006;229:680–4.

BAVEGEMS V, DUCHATEAU L., HAM LV, RICK AD, SYS SU. Electrocardiographic reference values in whippets. Vet Jour 2009; 182 (2): 369

BEITZ DC. Comparative digestive physiology of dogs and cats. In: National Research Council, Editor. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press; 2006: 5-21

BELOSHAPKA AN, WOLFF AK, SWANSON KS. Effects of feeding polydextrose on faecal characteristics, microbiota and fermentative end products in healthy adult dogs. *Br J Nutr* 2011 ; 16 : 1–7

BERG. Skilanghauf und elektrolytveränderungen. *Z Sportmed* 1977; 25: 185-189

BERGSTROM J., HERMANSEN L., HULTMAN E, SALTIN B. Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiologica Scandinavia* 1967, 71, 140-150

BIENSO RS, KNUDSEN JG, BRANDT N, PEDERSEN PA, PILEGAARD H. Effect of IL-6 on pyruvate dehydrogenase regulation in mouse skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2014; 466 (8): 1647-1657

BLYTHE LL, HANSEN DE. Factors affecting prerace dehydration and performance of racing greyhounds. *Journal of the American Veterinary Medical Association* [1986, 189(12):1572-1574

BONTEMPO V. (2005). Nutrition and health of dogs and cats: evolution of petfood. *Veterinary research communications*, 29, 45-50

BRAUND KG, HOFF EJ, RICHARDSON KEY. Histochemical identification of fiber types in the canine skeletal muscle. *Am J Vet Res* 1978; 39: 561-565

BRZEZINSKA Z., KACIUBA-USCILKO H., NAZAR. Physiological responses to prolonged physical exercise in dogs. *Archives of International Physiology and Biochemistry* 1980, 88, 285-291.

BROWN WY, VANSELOW BA, REDMAN AJ, PLUSKE JR. An experimental meat-free diet maintained haematological characteristics in sprint-racing sled dogs. *British Journal of Nutrition* 2009; 102 (9): 1318-1323

BURGER IH. *The Waltham book of Companion Animal nutrition* 1993. Pergamon press limited, Oxford, UK.

BURROWS C. University of Florida 1977, Gainesville, FL, USA

CALABRESE C., MEYER S., MUNSON, TUNET P., BIRDSALL T. A cross-over study of the effect of a single oral feeding of medium chain triglycerides oil vs. canola oil on post-ingestion plasma triglycerides levels in healthy men. *Alternative Medicine Review* 1999, 4, 1, 23-28.

CAMPBELL IT, DONALDSON J. (1981). Energy requirements of Antartics sledge dogs. *British Journal of Nutrition* 1981. 45 (1), 95-98

CAMPBELL SA., HUGHES HC, GRIFFIN HE, LANDI MS, MALLON FM Some effects of limited exercise on purpose-bred Beagles. *American Journal of Veterinary Association* 1988. 49 (8), 1298-1301.

CAVE. Adverse food reactions. In: *canine and feline gastroenterology* 2013; 31: 398-408

CRUZAT VF, KRAUSE M, NEWSHOLME P. Amino acid supplementation and impact on immune function in the context of exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014; 14;11(1):61.

CHAN M., CAREY A., WATT M., FEBBRAIO M.,. Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction : evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *American Journal of Physiology Regulations and Integrated Comparative Physiology* 2004, 287, R322-R327.

CHANOIT GP, LEFEBVRE HP, ORCEL K., LAROUTE V., TOUTAIN P-L, BRAUN J-P. Use of plasma creatine kinase pharmacokinetics to estimate amount of exercise-induced muscle damage in Beagles. *American Journal of Veterinary Research* 2001. 62, 1375-1380.

CHANOIT GP, CONCORDET D., LEFEBURE HP, ORCEL K., BRAUN JP. Exercise does not induce major changes in plasma muscle enzymes, creatinine, glucose and total proteins concentrations in untrained beagle dogs. *Journal of veterinary Medicine* 2002. 49, 222-224

COLLIARD L. Mesure de la composition corporelle du chien par bioimpédancemétrie : validation d'équations prédictives. Thèse de doctorat de Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique 2015

COMBRISSE H. La carnitine. Physiologie et perspectives d'application. *Rec Med Vet* 1983 ; 159 (9) : 693-700

CONVERTINO VA, GREENLEAF JE, BERNAUER EM. Role of thermal and exercise factors in the mechanism of hypervolemia. *Jour Applied Physiol* 1980; 48: 657-664

CONSTABLE PD, HINCHCLIFF KW, OLSON J, HAMLIN RL. Athletic heart syndrome in dogs competing in a long-distance sled race. *Journal Applied Physiology* (1985; 76 (1): 433-438

CHANDRAN B, GOEL A. A randomized, pilot study to assess the efficacy and safety of curcumin in patients with active rheumatoid arthritis. *Phytother Res* 2012;26:1719–25.

CRIBB PJ, HAYES A. Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38 (11): 1918-1925

CRUZAT VF, KRAUSE M, NEWSHOLME P. Amino-acid supplementation and impact on immune function in the context of exercise. *Journal of the international Society of Sports Nutrition* 2014; 11 (61): 61-74

DAVIDSON MG, GEOLY FJ, GILGER BC, et al. Retinal degeneration associated with vitamin E deficiency in hunting dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 645-651

DAVIS M. Physiological demands and adaptations of working dogs. *Canine ergonomics: the science of working dogs*. W S Helton 2010. P. 245-262.

DAVIS M, DAVIS WC, ENSIGN. Effect of training and strenuous exercise on hematological values and peripheral blood leukocytes subsets in racing sled dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 873-878

DAVIS M, WILLIAMSON K, MCKENZIE E, ROYER C, PAYTON M, NELSON S. Effect of training and rest on respiratory mechanical properties in racing sled dogs. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37(2):337-41.

DIPRAMPERO PE, MEYER, M., CERRETELLI, P, PIIPER J. Efficiency and speed of contraction in the gastrocnemius-muscle in the dog. In : *J Physiol* 1980. p. A48-A48.

DOBSON GP, PARKHOUSE WS, WEBER JM. Metabolic changes in skeletal muscle and blood of Greyhounds during 800m track sprint. *Am Journ Physiol*1988; 255: R513-R519

DRENTH JP, VAN UUM SH, VAN DEUREN M, PESMAN GJ, VAN DER VEN-JONGEKRIJG J, VAN DER MEER JW. Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production. *J Appl Physiol* (1985). 1995 Nov;79(5):1497-503.

DOWNEY RL., KRONFELD DS, BANTA CA. Diet of beagles affects stamina. *Jouyrnal of the American Animal Hospital Association* 1980. 16 (2), 273-277

DUNLAP K., REYNOLDS A., DUFFY L.. Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blackberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1980, 143, 429-434

FERASIN L,MARCORA S (2009) Reliability of an incremental exercise test to evaluate acute blood lactate, heart rate and body temperature responses in Labrador retrievers. *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol* 179:839–845

FINAUD J, LAC G, FILAIRE E. Oxidative stress : relationship with exercise and training. Sports Med. 2006;36(4):327-58

FORTES CMLS, CARCIOFI AC., SAKOMURA NK., KAWAUCHI IM, VASCONCELLOS RS. (2010). Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. Animal Feed Science technology. 156 (3-4), 121-125

FOX EL; MATHEWS D. Bases physiologiques de l'activité physique 1984 . Delarrie ed ; Montreal ; 404.

GAGNE JW, WAKSHLAG JJ, SIMPSON KW. Effects of a synbiotic on fecal quality, short-chain fatty acid concentrations, and the microbiome of healthy racing sled dogs. BMC Vet Res 2013. 9: 246

GANNON J, KENDALL R. A clinical evaluation of NN Dimethylglycine and Diisopropylammonium dichloracetate on the performance of racing Greyhounds. Can Pract 1982; 9 (6): 7-9 et 12-13
GAZIT I, TERKEL J. Explosives detection by sniffer dogs following strenuous physical activity. Applied Animal Behaviour Science, Volume 81, Issue 2, 19 April 2003, Pages 149-161

GAZZOLA A., VALETTE J.P., GRANDJEAN D., WOLTER R. Plasma free fatty acids during prolonged endurance exercise in dogs (in french). Recueil de Medicine Veterinaire 1984, 160, 69-77.

GOLLAND LC, EVANS DL, McGOWAN CM, HODGSON DR, ROSE RJ. The Effects of Overtraining on Blood Volumes in Standardbred Racehorses The Veterinary Journal, Volume 165, Issue 3, May 2003, Pages 228-233

GRANDJEAN D.. High fat nutrition and endurance performance in the dog. (inFrench). PhD thesis 1983, University Paris 6, pp 543.

GRANDJEAN D, PARAGON BM. Nutrition of racing and working dogs part 1: Energy metabolism. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 1992; 14 (12): 1608

GRANDJEAN D. Nutrition for sled dogs. In: DEE JF, BLOOMBERG MS, TAYLOR RA, editors. Canine sports medicine and surgery. Philadelphia: WB Saunders Co; 1998. P.336-347

GRANDJEAN D. Nutritionnal particularities of racing Greyhound. Eastern Veterinary Conference Annual Congress; Orlando; Florida; 6-9 Janvier 1991

GRANDJEAN D. Nutrition of racing and working dogs. Royal-Canin 1993; St-Nolff, Morbihan, France

GRANDJEAN D. (2001). Oxidative stress in working dogs : consequences and nutritional prevention (in french). Bulletin de l'Academie Veterinaire de France, 154, 49-61

GRANDJEAN D, SERGHERAERT R, VALETTE JP, DRISS F. Biological and nutritional consequences of work at high altitude in search and rescue dogs: the scientific expedition Chiens des Cimes-Licancabur 1996. Journal of Nutrition 1998; 128 (12 suppl): 2694-2697.

GRANDJEAN D., VALETTE J.P., JOUGLIN M., GABILLARD C., BACQUE H., BENE M., GUILLAUD P. Dietary supplementation with L-carnitine, vitamin C and Vitamin B12 in sport dogs ; experimental study with sled dogs (in french). Recueil de Medecine Veterinaire, 1993 169, 7, 543-551

GRANDJEAN D., FUKS V. (1977). Physiopathological interests of L.carnitine in the dog (in french). Recueil de Medecine Veterinaire 1977, 173, 95-106.

GRANDJEAN D. Les clés de la performance chez le chien de sport ou d'utilité. Conférence Congrès National Vétérinaire Ukrainien ; Kiev (Ukraine) ; 21-22 février 2013

GROOT P, HULSMANN W. The activation and oxidation of octanoate and palmitate by rat skeletal muscle mitochondria. Biochemical Biophys Acta 1973 ; 316 : 124-135

GUEZENNEC C.. Influence of a diet enriched in polyunsaturated fatty acids on hemorrhagic response to a hypoxic exercise (in french). *Medecine des Armees* 1982. 16, 8, 583-588

GUY PS, SNOW DH. Skeletal muscle fibre composition in the dog and its relationship to athletic ability. *Research Vet Sci* 1981; 31: 244-248

HAMMEL E., KRONFLED D. ;GANJAN Y., DUNLAP H. Metabolic responses to exhaustive exercise in racing sled dogs fed diets containing medium low or zero carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition* 1977, 30, 409-418.

HAMPSON BA. (2007) Physiological responses of the Australian cattle dog to mustering exercise. *Equine and Comparative exercise physiology*. 4 (1), 37-41

HARGREAVES MH, SNOW R. Amino acids and endurance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2001; 11(1):133-45.

HAYEK MG., MASSIMINO SP., CEDDIA MA.. Modulation of immune response through nutraceutical interventions: implications for canine and feline health. *Veterinary Clinics of North America* 2004. 34 (1), 229-247

HEMMELGARN C, GANNON K. Heatstroke: thermoregulation, pathophysiology, and predisposing factors. *Compend Contin Educ Vet*. 2013 Jul;35(7):E4.

HESS TM, REXFORD JK, HANSEN DK, HARRIS M, SCHAUERMANN N, ROSS T, ENGLE TE, ALLEN KG, MULLIGAN CM. Effects of two different dietary sources of long chain omega-3, highly unsaturated fatty acids on incorporation into the plasma, red blood cell, and skeletal muscle in horses. *J Anim Sci*. 2012 Sep;90(9):3023-31.

HILL RC. The nutritional requirements of exercising dogs. *J Nut* 1998; 128 (12 suppl): 2686-2690

HILL RC, LEWIS DD, RANDELL SC, SCOTT KC, OMORI M, SUNDSTROM DA, JONES GL, SPEAKMAN JR, BUTTERWICK. Effect of mild restriction of food intake on the speed of racing Greyhounds. *Am J Vet Res*. 2005;66(6):1065-70.

HILL RC. Physical activity and environment National Research Council (NRC) (Ed.), Nutrient requirements of dogs and cats, National Academy Press, Washington, DC (2006), pp. 258–312

HILL RC., LEWIS DD., SCOTT KC., OMORI M., JACKSON M., SUNDSTROM DA., JONES GL, SPEAKMAN JR., DOYLE CA., BUTTERWICK RF. Effect of increased dietary protein and decreased dietary carbohydrate on performance and body composition in racing Greyhounds. American Journal of Veterinary Research 2001. 62 (3), 440-447

HINCHCLIFF KW, OLSON J., CRUSBERG C., KENYON J., LONG R., ROYLE W., WEBER W., BURR J. Serum biochemical changes in dogs competing in a long distance sled race. Journal of American Veterinary Medical Association 1993. 202, 401-405.

HINCHCLIFF KW., REINHART GA., BURR JR., SCHEIDER CJ., SWENSON RA. Effects of racing on serum sodium and potassium concentrations and acid-base status of Alaskan sled dogs. J Am Vet Med Assoc 1997; 210: 1615-1618

HINCHCLIFF KW., REINHART GA., BURR JR., SCHEIDER CJ., SWENSON RA. Metabolisable energy intake and sustained energy expenditure of Alaskan sled dogs during heavy exertion in the cold. American Journal of veterinary research 1997. 58 (12), 1457-1462

HINCHCLIFF KW., SHAW LC, VUKICH NS., SCHMIDT KE. Effect of distance travelled and speed of racing on body weight and serum enzyme activity of sled dogs competing in a long distance race. Journal of American Veterinary Medical Association 1998; 213, 639-644

HINCHCLIFF K., REINHART G., DI SILVESTRO R., REYNOLDS A., BLOSTEIN-FUJII A., SWENSON R. Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise. American Journal of Veterinary Research 2000, 61, 512-517

HIRCHE H, GRÜN D, WALLER W. Utilization of carbohydrates and free fatty acids by the gastrocnemius of the dog during long lasting rhythmical exercise. Pfluger Arch 1970; 321 (2): 121-132

HOLLEY A. Système olfactif et neurobiology. Terrain, 2006 ; 47 : 107-122

ILKIW JE., DAVIS PE., CHURCH DB.. Hematologic, biochemical, blood gas, and acid base values in Greyhounds before and after exercise. American Journal of Veterinary Research 1989. 50, 583-586.

INOUE S., UNSINGER J., DAVIS C., MUENZER J., FERGUSON T., CHANG K., OSBORNE D., CLARK A., COOPERSMITH C., MAC DUNN J., HOTCHKISS R. IL-15 prevents apoptosis, reverses innate and adaptative immune dysfunction, and improves survival in sepsis. Journal of Immunology 2010; 184 (3):1401-1409.

ISSEKUTZ B. Energy mobilization in exercising dogs. Diabetes 1979, 28, Suppl. 1, 39-4

ISOMAKI P, LUUKKAINEN R, SAARIO R, TOIVANEN P, PUNNONEN J. Interleukin-10 functions as an antiinflammatory cytokine in rheumatoid synovium. Arthritis Rheum 1996; 39(3):386-95.

IVY JL. Regulation of muscle glycogen repletion, muscle protein synthesis and repair following exercise. Journal of Sports Science and Medicine 2004 ; 3, 131-138

JACKSON M. (2008). Free radicals generated by contracting muscle : by-products of metabolism or key regulators of muscle function ? Free radical Biology and Medicine, 44, 132-141

JEUKENDRUP A., THIELEN J., WAGENMAKERS A., BROUNS F., SARIS W. (1998). Effect of medium-chain triacylglycerol and carbohydrate ingestion during exercise on substrate utilization and subsequent cycling performance. American Journal of Clinical Nutrition, 67, 397-404

JURIMAE J., HOFMANN P., JURIMAE T., MAETSUS J., PURGE P., WONISH M. Plasma adiponectine response to sculling exercise at individual anaerobic threshold in college level rowers. International Journal of Sport Medicine 2006; 27: 272-277

JURIMAE J., MAETSU J., JURIMAE T., MANGUS B., VON DUVILLARD S. (2010). Peripheral signals of energy homeostasis as possible markers of training stress in athletes : a review. *Metabolism Clinical and Experimental* 2011; 60(3):335-50.

KALLFETZ FA. Minerals. In: National Research Council (NRC), editor. *Nutrient requirements of dogs and cats*. Washington, DC: National Academy Press; 2006. p. 145–92

KATO H, SUZUKI H, MIMURA M, INOUE Y, SUGITA M, SUZUKI K, KOBAYASHI H. Leucine-enriched essential amino acids attenuate muscle soreness and improve muscle protein synthesis after eccentric contractions in rats. *Amino Acids*. 2015 Jun;47(6):1193-201

KELLEY KM., HAMANN JJ, NAVARRE C., GLADDEN LB.. Lactate metabolism in resting and contracting canine muscle with elevated lactates concentrations. *Journal of Applied Physiology* 2002. 93, 865-872

KENYON CL, BASARABA RJ, BOHN AA. Influence of endurance exercise on serum concentrations of iron and acute phase proteins in racing sled dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2011 Nov 1;239(9):1201-10.

KERASIOTI E, KISKINI A, VESKOUKISA, JAMURTAS A, TSITSIMPIKOU C, ATSATSAKIS AM, KOUTEDAKIS Y, STAGOS D, KOURETAS, KARATHANOS V. Effect of a special carbohydrate–protein cake on oxidative stress markers after exhaustive cycling in humans *Altern. Med. Rev.*, 9 (2004), pp. 136–156

KIENZELE E. Energy. In: National Research Council (NRC), editor. *Nutrient requirements of dogs and cats*. Washington, DC: National Academy Press; 2006. P29-48

KILIC M, ULUSOY O, CIRROK S, HINDISTAN IE, OZKAYA YG. Effect of exercise intensity on cerebrospinal fluid interleukine 6 concentration during recovery of exhaustive exercise in rats. *Acta Physiology Hungaria* 2014; 101 (1): 21-31

KRONFELD D. Diet and the performance of racing sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 1973; 162 (6), 470-473.

KRONFELD D., DOWNEY R.. Nutritional strategies for stamina in dogs and horses. Proceedings of the Nutrition Society of Australie 1981, 6, 21-29.

KRONFELD D., FERRANTE P., GRANDJEAN D. Optimal nutrition for athletic performance, with emphasis on fat adaptation in dogs and horses. Journal of Nutrition 1994, 124, 2745-2753.

KRONFELD DS, ADKINS TO, DOWNEY RL. Nutrition, anaerobic and aerobic exercise and stress. In: Burger IH, Rivers JP, editors. Cambridge (UK): Cambridge University Press; Nutrition of dog and cat: Waltham Symposium. 1989. P. 133-145.

KRONFELD DS, HAMMER EP, RAMBERG CF, Hematological and metabolic responses to training in racing sled dogs containing medium, low, or zero carbohydrates. Am Journ Clin Nut 1977; 30: 419-430

KRUK B, NAZAR K, KACIUBA-UŚCIŁKO H, KOZŁOWSKI S. Enhanced glucose availability for working muscles reduces exercise hyperthermia in dogs. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1987;56(5):577-82.

LAFLAMME DP. Development and validation of a body condition score system for dogs. Can Pract 1997;22:10-5.

LASSEN ED, CRAIG AM, BLYTHE LL. Effects of racing on haematologica and serum biochemical values in Greyhound. J Am Vet Med Assoc 1986; 188 (11): 1299-1303

LAVAU M., HASKIM S. (1978). Effects of medium chain triglycerides on lipogenesis and body fat in the rat. Journal of Nutrition, 108, 613-620

M.S. LIEB. Treatment of chronic idiopathic large bowel diarrhea in dogs with a highly digestible diet and soluble fiber: a retrospective review of 37 cases. J Vet Intern Med, 14 (2000), pp. 27-32

LUMPKIN WL, COKER ME, DEHAVEN WR. Gastric ulcer in a military working dog. Vet Med Small Anim Clin 1979; 74 (9): 1289-1292

MACARTNEY MJ, HINGLEY L, BROWN MA, PEOPLES GE, Mc LENNAN PL. Intrinsic heart rate recovery after dynamic exercise is improved with an increased omega-3 index in healthy male. *British Journal of Nutrition* 2014; 112 (12): 1984-1992.

MARCELLIN-LITTLE DJ., LEVINE D., TAYLOR R.. Rehabilitation and conditioning of sporting dogs. *Veterinary clinics of north America: small animal practice* 2005, 35 (6), 1427

MARSHALL R., SCOTT K., HILL R., LEWIS D. SUNDSTROM D., JONES G., HARPER J. Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *Journal of Nutrition* 2002, 132, Suppl2, 1616S-1621S

MATWICHUK CL., TAYLOR SM., SHMON CL., KASS PH., SHELTON GD.. Changes in rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas and acid base values in healthy Labrador retrievers before and after strenuous exercise. *American Journal of veterinary research* 1999, 60 (1), 85-92

MAZIN RM, FORDYCE HH, OTTO CM. Electrolyte replacement in urban search and rescue dogs: a field study *Vet Ther* 2001; 2: 140–147

Mc CLELLAND G, ZWINGELSTEIN G, TAYLOR CR et al. Increased capacity for circulatory fatty acid transport in a highly aerobic mammal. *Am J Physiol* 1994; 266: R 1280-1286

Mc KEEVER KH, SCHURG WA, CONVERTINO GA. Exercise training induced hypervolemia in Greyhounds: role of water intake and renal mechanisms. *Am Journ Physiol* 1985; 248:R422-R425

MC KENZIE E., HOLBROOK T., WILLIAMSON K., ROYER C., VALBERG S., HINCHCLIFF K., JOSE-CUNILLERAS E., NELSON S., WILLARD M., DAVIS M. Recovery of muscle glycogen concentration in sled dogs during prolonged exercise. *Medicine and science in sports and exercise* 2005, 37 (8): 1307-1312

MC KENZIE EC., JOSE-CUNILLERAS E., HINCHCLIFF KW., HOLDBROOK TC., ROYER C., PAYTON ME., WILLIAMSON K., STUART N., WILLARD MD., DAVIS MS. Serum chemistry alterations in Alaskan sled dogs during five successive days of prolonged endurance exercise. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2007. 230 (10), 1486-1492

MARSHALL RJ, SCOTT KC, HILL RC, et al. Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *J Nut* 2002; 132: 1616S-1621S

MAXWELL LC, BARCLAY JK, MOHRMAN DE et al. Physiological characteristics of skeletal muscles of dogs and cats. *Am J Physiol* 1977; 223: C 14-18

MERO A. Leucine supplementation and intensive training. *Sports Med.* 1999 Jun;27(6):347-58

MICHEL KE, ANDERSON W, CUPP C, LAFLAMME D. Validation of a subjective muscle mass scoring system for dogs and cats. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2009; 93: 806

MICKLEBOROUGH TD. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in physical performance optimization. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2013 Feb;23(1):83-96.

MILLER BF, EHRLICHER SE, DRAKE JC, PEELOR ILL FF, BIELA LM, PRATT-PHILLIPS S, DAVIS M, HAMILTON KL. Assessment of protein synthesis in highly aerobic canine species at the onset and during exercise training. *J Applied Physiology* 2015

MOLDOVEANU A., SHEPHARD R., SHECK P. Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in blood mononuclear cells. *Journal of Applied Physiology* 2000, 89, 1499-1504.

MORGANROTH ML, YOUNG EW, SPARKS HV. Prostaglandin and histaminergic mediation of prolonged vasodilation after exercise. *Am J Physiol* 1977; 233 (1): 27-33

MORRIS JG, VITAMINS NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press; 2006.

MOTT C., SARLES H., TISCORNIA O. Different actions of short, medium or long chains triglycerides on exocrine pancreatic secretion in human (in french). *Biol Gastroentero* 1972; 5, 79-84.

MOTTA S, LETELLIER C, ROPERT M, MOTTA C, THIÉBAULT JJ. Protecting effect of vitamin E supplementation on submaximal exercise-induced oxidative stress in sedentary dogs as assessed by erythrocyte membrane fluidity and paraoxonase-1 activity. *Vet J.* 2009 Sep;181(3):288-95

MURPHY MG, CONROY S., LEWE JA.. Aspects of exercise physiology in the dog. *Irish Vet Journ* 1997; 50 (1), 65.

MURRAY, GRANNER, MAYES et RODWELL. Précis de biochimie de Harper 1995. 23ème édition, De Boeck Université, Les Presses de l'Université de Laval, p919.

MUSCH TL, HAIDET GC, ORDWAY GA, et al. Dynamic exercise training in foxhounds. Oxygen consumption and hemodynamic responses. *J Appl Physiol* 1985;59:183–199

NEUBAUER O, KONIG D, KERN N, NICS L, WAGNER K. No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sport Ex* 2008; 40 (12): 2119-2128

NOSTELL K, ESSEN-GUSTAVSON B, BRÖJER J. Repeated post-exercise administration with a mixture of leucine and glucose alters the plasma amino acid profile in Standardbred trotters. *Acta Vet Scand.* 2012; 54(1): 7

ORDWAY GA, FLOYD DL, LONGHURST JC, et al. Oxygen consumption and hemodynamic responses during graded treadmill exercise in the dog. *J Appl Physiol* 1984;57: 601–7.

OSTROWSKI K, ROHDE T, SVEN ASP, SCHJERLING P., PEDERSEN B.K. .Pro and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans *J Physiol* 1999, 515 (1) : 287–291

PASQUINI A., LUCHETTI E., CARDINI G. Evaluation of oxidative stress in hunting dogs during exercise. *Research in Veterinary Science* 2010, 89, 120-123

PETERS LW, SMIET E, DE SAIN-VAN DER VELDEN MG, VAN DER KOLK JH. Amino acids utilization by the hindlimb of warmblood horses at rest and following low intensity exercise. *Veterinary Q* 2013; 33 (1):20-24

PIERCY RJ, HINCHCLIFF KW, DISILVESTRO RA, REINHART GA, BASKIN CR, HAYEK MG, BURR JR, SWENSON RA. Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage in exercising sled dogs. *American Journal of Veterinary Research* 2000; 61: 1438-1445

PIERCY RJ, HINCHCLIFF KW, MORLEY PS et al. Association between vitamin E and enhanced athletic performance in sled dogs. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33: 826-833

PIERCY RJ, HINCHCLIFF KW, MORLEY PS, DISILVESTRO RA, REINHART GA, NELSON SL, SCHMIDT KE, CRAIG AM. Vitamine E and exertionnal rhabdomyolysis during endurance sled dog racing. *Neuromuscul Disord* 2001; 11: 278-286

POORTMANS J. Influence of physical exercise on proteins in biological fluids. In *biochemistry of exercise*. *Medecine Sport* 1982; Karger ed; Basel; 3; 312-327

POWERS MY. *Exercise physiology: Theory and application to fitness and performance*. New York, McGraw-Hill, 2004

POWERS SK, JI LL, KAVAZIS AN, JACKSON MJ. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol*. 2011 Apr;1(2):941-69

PROSCURSHIM P, RUSSO AK, SILVA AC, PICARRO IC, FREIRE E, TARASANTCHI J. Aerobic training effects on maximum oxygen consumption, lactate threshold and lactate disappearance during exercise recovery in dogs. *Comp Biochem Physiol* 1989; 94 (4): 743-747

PURVIS D, GONSALVES S, DEUSTER PA. Physiological and psychological fatigue in extreme conditions: overtraining and elite athletes. PM R. 2010; 2(5):442-50.

QUERENGAESSER A, IBEN C, LEIBETSEDER J. Blood changes during training and racing in sled dogs. J nut 1994; 124: 2760S-4S

REINHART GA., MOXLEY RA., CLEMENS ET. (1994). Dietary fiber source and its effects on colonic microstructure, function and histopathology of beagle dogs. Journal of nutrition, 124, 2701-2703S.

REYNOLDS AJ., CAREY DP., REINHART GA., SWENSON RA., KALLFELZ FA. (1997). Effect of post-exercise carbohydrate supplementation on muscle glycogen repletion in trained sled dogs. American journal of Veterinary Research, 58 (11), 1252-1256

REYNOLDS A., FUHRER L., DUNLAP H., FINKE MD, KALLFELZ FA (1995). Effect of diet and training on muscle glycogen storage and utilisation in sled dogs. Journal of applied physiology, 79 (5), 1601-1607.

REYNOLDS A., DUNLAP K.. Dietary antioxidants and exercise in sled dogs. Proceedings, Nestle Purina Nutrition Forum 2005, pp41-44

REYNOLDS AJ, REINHART GA, CAREY DP, et al. Effect of protein intake during training on biochemical and performance variables in sled dogs. Am J Vet Res 1999; 60: 789-795.

REYNOLDS AJ, FUHRER L, DUNLAP HL. Lipid metabolites response to diet and training in sled dogs. Journ Nut 1994; 124: 2754-2759

RIECHMAN SE, BALASEKARAN G, ROTH SM, FERRELL RE. Association of interleukin-15 protein and interleukin-15 receptor genetic variation with resistance exercise training responses. J Appl Physiol 2004; 97 (6): 2214-9.

RITCHEY JW, DAVIS MS, BRESHEARS MA, WILLARD MD, WILLIAMSON KK, ROYER CM, PAYTON ME, CRAGUN AS. Gastritis in Alaskan racing sled dogs. J Comp Pathol. 2011 Jul;145(1):68-76.

RIVERO JLL et al. Enzyme-histochemical profiles of fibers type in mature canine appendicular muscles. *Anat Histo Embryol* 1994; 23: 330-336

N.R. RODRIGUEZ, N.M. DI MARCO, S. LANGLEY, American Dietetic Association; Dietitians of Canada; American College of Sports Medicine American College of Sports Medicine position stand. Nutrition and athletic performance *Med Sci Sports Exerc*, 41 (2009), pp. 709–731
RODAHL K. Plasma free fatty acids in exercise. *Journal of Applied Physiology* 1964, 19, 489-492.

ROGERS O. Protein and amino acids. In: National Research Council (NRC), editor. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, DC: National Academy Press; 2006. p. 111–45

ROSE RJ., BLOOMBERG MS. Responses to sprint exercise in the Greyhound: effects on haematology, serum biochemistry and muscle metabolites. *Research in veterinary science* 1989, 47, 212-218.

ROSENBLATT JD., KUZON JR. WM., PYNN BR., PLYLEY MJ., MC KEE NH. (1988). Fiber type, fiber size and capillary geometric features of the semi-tendinous muscle in three types of dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 49 (9), 1573-1576

ROVIRA S, MUÑOZ A, BENITO M. Fluid and electrolytes shifts during and after Agility competitions in dogs. *J Vet Med Sci*. 2007 Jan;69(1):31-5.

ROVIRA S, MUÑOZ A, RIBER C, BENITO M. Heart rate, electrocardiographic parameters and arrhythmias during agility exercises in trained dogs. *Rev Méd Vét* 2010 ; 161:307–313

SALINAS-GARCIA ME, MARTINEZ-SANZ JE, Urdampilleta A, MIELGO-AYUSO J, NORTE NAVARRO A, ORTIZ-MONCADA R. Effects of branched chain amino-acids in endurance sports : a review. *Nut Hospit* 2014; 16: 31 (2): 577-589

SARRET O. Contribution à l'étude des précurseurs d'ATP en médecine sportive canine. Etude de l'inosine lors d'épreuves tests standardisées. *These Doc Vet Alfort* 1991; 92p

SCOTT KC, HILL RC, LEWIS DD,. Effect of oral alpha tocopherol acetate supplementation on vitamin E concentrations in greyhounds before and after a race. *Am J Vet Res* 2001;62:1118–20.

SCOTT KC, HILL RC, LEWIS DD, et al. Serum ascorbic acid concentration in previously unsupplemented greyhounds after administration of a single dose of ascorbic acid intravenously or per-os. *J Anim Physiol Anim Nut* 2002; 86: 222-228

SCHEIG R.. Hepatic and extrahepatic metabolism of medium chain fatty acids. In : Senior J. (ed.). *Medium chain triglycerides*, University of Pennsylvania Press 1968, Philadelphia, PA, USA, pp39-49

SCHEIG R. (1968). Absorption of dietary fat: use of medium chain triglycerides in malabsorption. *American Journal of Clinical Nutrition*, 21, 4, 300-304

SHASKEY DJ, GREEN GA. Sports haematology. *Sports Med* 2000; 29: 27-38

SNOW DH., HARRIS RC., STULTARD E. Changes in haematology and plasma biochemistry during maximal exercise in greyhounds. *Veterinary record* 1998; 123, 487-489

SPOO JW, DOWNEY RL, GRIFFITS C, HORST RJ, LEVINE CB, CHILDS RM, WAKSHLAG JJ. Plasma vitamin D metabolites and C-reactive protein in stage stop racing endurance sled dogs. *Journal of veterinary Internal medicine* 2015; 29: 519-525

STEISS J., AHMAD HA., COOPER P., LEDFORD C. (2004). Physiologic responses in healthy Labrador retrievers during field trial training and competition. *Journal of veterinary Internal Medicine*, 18, 147-151

SUNVOLD GD., FAHEY GC., MERCHEN NR., REINHART GA. (1994). Fermentability of selected fibrous substrates by dog fecal microflora as influenced by diet. *Journal of nutrition*, 124, 2719-2720S.

TAYLOR RA. (1988). Metabolic and physiological effects of athletic competition in Greyhound. *Companion animal practice*, 2 (8): 7-11

TERJUNG RL., BUDOHOSKI L., NAZAR K., KOBRYN A., KACIUBA-VACILKO H. (1982). Chylomicron triglyceride metabolism in resting and exercising fed dogs. *Journal of applied physiology*, 52, 815-820

THARWAT M, FAHD AL-SOBAYIL A, SEBASTIEN BUCZINSKI. Influence of racing on the serum concentrations of the cardiac biomarkers troponin I and creatine kinase myocardial band (CK-MB) in racing greyhounds. *Vet Jour* 2013; 197 : 900–902

TOLL PW., GAEHTGENS P., NEUHAUS D., PIESCHL RL., FEED MP. Fluid, electrolytes and packed cell volume shifts in racing Greyhounds. *Am J Vet Med Res* 1995; 56, 227-232.

TOLL PW, GILLETTE RL. The canine athlete. In: HANDS MS, THATCHER CD, REMILLARD RL et al., editors. *Small animal clinical nutrition*. 5th edition. Marceline (MO): Walsworth Publishing 2010. P.323-357.

TOLL, P. W., PIESCHL, R. L., HAND, M. S. The effect of dietary fat and carbohydrate on sprint performance in racing greyhound dogs. In: *Proceedings of the 8th International Racing Greyhound Symposium 1992* (Anonymous, ed.), pp. 1–3. North American Veterinary Conference, Gainesville, Florida.

TONIOLO L., MACCATROZZO L., PATRUNO M, PAVAN E, CALIARO F., ROSSI R., RINALDI C., CANEPARI M., REGGIANI C., MASCARELLO F. Fiber types in canine muscles: myosin isoform expression and functional characterization. *Am J Phys Cell Physiol* 2007; 292:C1915-C1926

E. TURLEJSKA, I. FAŁĘCKA-WIECZOREK, E. TITOW-STUPNICKA, H.KACIUBA UŚCIŁKO. Hypohydration increases the plasma catecholamine response to moderate exercise in the dog (*Canis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, Volume 106, Issue 2, October 1993, Pages 463-465

TURNBULL A. RIVER C. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines : actions and mechanisms of action. *Physiological reviews* 1999; 79: 1-71

VALLE E1, ZANATTA R, ODETTI P, TRAVERSO N, FURFARO A, BERGERO D, BADINO P, GIRARDI C, MINISCALCO B, BERGAGNA S, TARANTOLA M, INTORRE L, ODORE R. Effects of competition on acute phase proteins and lymphocyte subpopulations - oxidative stress markers in eventing horses. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2015 Jan 28.

VINCENT IC, LEAHY RA. Real-time non-invasive measurement of heart rate in working dogs: a technique with potential applications in the objective assessment of welfare problems *The Veterinary Journal*, Volume 153, Issue 2, March 1997, Pages 179-183

WAGNER D. Hyperhydrating with Glycerol: Implications For Athletic Performance. *Journal of the American Dietetic Association* 1999; 99 (2): 207-212

WAGNER JA, HORVATH SM, DAHMS TE. Cardiovascular, respiratory and metabolic adjustments to exercise. *J Appl Phys* 1977; 42: 403-407

WAKSHLAG JJ, SNEDDEN K, REYNOLDS AJ. Biochemical and metabolic changes due to exercise in sprint-racing sled dogs: implications for postexercise carbohydrate supplements and hydration management. *Vet Ther*. 2004 Spring;5(1):52

WAKSHLAG JJ, KRAUS MS, GELZER AR, DOWNEY RL, VACCHANI P. The influence of high-intensity moderate duration exercise on cardiac troponin I and C-reactive protein in sled dogs. *J Vet Intern Med*. 2010 Nov-Dec;24(6):1388-92.

WAKSHLAG JJ, STOKOL T, GESKE SM, GREGER CE, ANGLE CT, GILLETTE RL. Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *Am J Vet Res*. 2010 Oct;71(10):1207-13

WAKSHLAG J, SHMALBERG J. Nutrition for working and service dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2014;44 (4):719-40

WILLIAMS CA, BURK AO. Nutrient intake during an elite level three-day event competition is correlated to inflammatory markers and antioxidant status. *Equine Vet J Suppl*. 2010 Nov;(38):116-22.

WYATT HT. Further experiment on the nutrition of sledge dogs. *British Journal of Nutrition* 1963; 17 (3): 273-280

WYATT HL., MITCHELL JH. (1974). Influences of physical training on the heart of dogs. *Circulation research*, 35, 883-889.

WEBER JM, HAMAN F. Oxidative fuel selection: adjusting mix and flux to stay alive. *International congress series* 2004; 1275: 22-31

WITKO-SARRAT V., GAUSSON V., DESCAMPS-LATSCHA B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins ?*Kidney International* 2003; 63, Suppl.84, S11-S14

WOLTER R. L'alimentation du chien de sport. *Rec Med Vet* 1989; 165 (6-7): 585-604

WORTINGER A. Nutrition for veterinary Technicians and nurses. Blackwell publishing limited, Iowa, USA, 2007.

YAMADA T., TOHORI M., ASHIDA T., KAJIWARA N., YOSHIMURA H. Comparison of effects of vegetable protein diet and animal protein diet on the initiation of anemia during vigorous physical training (sports anemia) in dogs and rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1987 ; 33:129-149.

YAZWINSKI M, MILIZIO JG, WAKSHLAG. Assessment of serum myokines and markers of inflammation associated with exercise in endurance racing sled dogs. *J Vet Int Med* 2013; 27: 371-376

YOUNG DR, PRICE R, ELDER NE. Energy and electrolyte metabolism and adrenal responses during work in dogs. *Journ Applied Physiol* 1962; 17: 669-674

YOUNG DR., MOSHER R., ERVE P., SPECTOR H.. Temperature and heat exchange during treadmill running in dogs. *Journal of applied Physiology* 1959; 14, 839-843.

YOUNG DR., SCHAFER NS., PRICE R.. Effect of nutrient supplements during work on performance capacity in dogs. *Journal of applied Physiology* 1960, 15 (6), 1022-1026.

YOUNG A. Inhibition of gastric emptying. *Advances in pharmacology* 2005; 52: 99-121

ZUROVSKY Y. Models of glycerol induced acute renal failure in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1993; 4:213-228.

ZANGHI BM, MIDDLETON RP, REYNOLDS AJ. Effects of post-exercise feeding of a supplemental carbohydrate and protein bar with or without astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* to exercise-conditioned dogs. *Am Journ Vet Res* 2015; 76 (4): 338-350

Liste des figures

Figure 1 : schématisation des clés de la performance chez le chien	8
Figure 2 : disposition des myofilaments dans le muscle strié au repos (d'après Murray et al., 1995).....	11
Figure 3 : les filières énergétiques chez le chien (Grandjean et al., 1992) ;	13
Figure 4 : évolution de la concentration en hémoglobine d'un chien au cours de la saison de course selon le pourcentage d'énergie fournit par les protéines	20
Figure 5 : répartition des voies de thermorégulation chez le chien (Grandjean, 1993)	25
Figure 6 : Note d'état corporel du chien sur une échelle de 9 points (1 : chien cachectique ; 3 : chien maigre ; 5 : chien à l'état d'entretien ; 7 : gros chien ; 9 ; chien obèse)- (Laflamme, 1997).....	29
Figure 7 : score de masse musculaire (d'après Michel et al., 2009)	30
Figure 8 : besoin en eau pour un chien de 20kg dans des conditions de neutralité thermique (15°C ; hygrométrie=20%).....	32
Figure 9 : perte de poids chez le Greyhound durant la période d'attente avant la course (Blythe et al., 1986).....	33
Figure 10 : effet de l'ingestion de glycérol sur l'état d'hydratation du chien (Reynolds, 2005) avant effort. La mesure compare l'état d'hydratation 30 minutes avant l'ingestion d'eau ou eau + glycérol, et celui obtenu 30 minutes après la procédure d'hydratation.....	33
Figure 11 : efficacité biologique des différentes aides nutritionnelles ergogènes disponibles sur le marché et destinées au chien de sport ou d'utilité (Grandjean, 2013).....	45
Figure 12 : schéma de la croquette « pillow » utilisée dans l'étude.	51
Figure 13 : présentation du protocole expérimental de supplémentation pré et per-effort, et des moments de réalisation des prélèvements sanguins et mesures des paramètres physiologiques, lors des deux sessions d'exercice.....	54
Figure 14 : évolution de la fréquence cardiaque, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.	62

Figure 15 : évolution de la fréquence respiratoire, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.	62
Figure 16 : évolution de la fréquence respiratoire, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement. Les temps sont surlignés en bleu lorsque la valeur est identique à Tn, et T0.	63
Figure 17 : évolution de la fréquence respiratoire, dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. L'évolution dans le temps est indiquée horizontalement. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement.	64
Figure 18 : évolution de la concentration en vitamine B12 dans le groupe contrôle (témoins) et supplémentés. Les comparaisons entre les deux lots sont indiquées verticalement.....	64
Figure 19 : évolution des Advanced Oxygenated Proteins Products dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p<0.05$	65
Figure 20 : évolution des IL 1 β dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p<0.05$	65
Figure 21 : évolution des IL 8 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn, et l'évolution d'un même groupe dans le temps un changement de lettre correspondant à une différence significative au seuil de probabilité $p<0.05$	66
Figure 22 : protocole d'exercice physique suivi par les chiens.	82
Figure 23 : évolution de la lactatémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	85

Figure 24 : évolution de la glycémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$). 86

Figure 25 : évolution de l'urémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$). 86

Figure 26 : évolution de la magnésémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$). 87

Figure 27 : évolution de la kaliémie dans le temps dans les deux groupes. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti au seuil de significativité $p<0,05$). 87

Figure 28 : évolution de la triglycéridémie dans le temps dans les deux groupes. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti au seuil de significativité $p<0,05$). Les données ont été traitées en logarythme pour être distribuées normalement..... 88

Figure 29 : évolution de l'insulinémie dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$). 88

Figure 30 : évolution du glucagon dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$). 89

Figure 31 : évolution des créatines kinases entre le groupe témoin et le groupe supplémenté (comparaison verticale), et dans le temps (comparaison horizontale).	90
Figure 32 : évolution de la C-reactive protein dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	91
Figure 33 : évolution du TNF α dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	91
Figure 34 : évolution de l'IL6 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	92
Figure 35 : évolution de l'IL10 dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	92
Figure 36 : évolution de la myeloperoxydase dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	93
Figure 37 : évolution des AOPPs dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à Tn. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre Tn et Ti dans un même groupe au seuil de significativité $p<0,05$).	94

Figure 38 : évolution du rapport GSH/GSSG dans le temps. En bleu est représenté le groupe contrôle, et en rouge le groupe supplémenté. Les lettres majuscules comparent le groupe témoin et le groupe supplémenté à T_n. Les lettres minuscules indiquent les évolutions dans le temps (un changement de lettre correspond à une différence significative entre T_n et T_i dans un même groupe au seuil de significativité p<0,05). 94

Liste des tableaux

Tableau 1 : pourcentage de fibres rapides (type II) dans les principaux muscles de trois types de chiens : le lévrier (sprinteur), le chien croisé (intermédiaire), et le chien courant(ou chien de chasse, athlète endurant) (d'après Guy et al., 1981).....	12
Tableau 2 : production d'ATP par unité de substrat consommé selon la voie métabolique concernée (Grandjean et al., 1992).....	15
Tableau 3 : source principale d'énergie utilisée en fonction de l'activité du chien (Grandjean et al., 1992).....	17
Tableau 4 : Approche comparée des consommations maximales d'oxygène à l'effort en fonction du niveau d'entraînement physique de chaque espèce.	18
Tableau 5 : impact du niveau protéique alimentaire sur les facteurs de la performance chez le chien de traîneau (Reynolds, 1999).....	19
Tableau 6 : syndromes de surentrainement rencontrés chez le chien de sport ou d'utilité.....	27
Tableau 7: variations du besoin énergétique avec la température (d'après Hill, 2006).....	31
Tableau 8 : composition analytique du supplément nutritionnel	59
Tableau 9 : quantité de micronutriments apportés par l'aliment complet et le supplément pour un chien de 25 kilogrammes.....	59
Tableau 10 : quantité de matières premières protéiques à consommer à chaque supplémentation pour répondre à la posologie envisagée	72
Tableau 11 : capacité de dissolution et de seringabilité des différentes matières premières étudiées individuellement (les volumes présentés sont ceux nécessaires pour dissoudre la totalité de la matière première à distribuer (les cases vides contiennent des données non transmises par les fabricants). Les chiffres correspondent au codage des sources tel que présenté dans le tableau 10.....	74
Tableau 12 : appétence des matières premières utilisées.....	75
Tableau 13 : caractéristiques des sources de matières premières protéiques utilisables pour le supplément nutritionnel étudié (* : donnée évaluée chez l'humain uniquement).....	77

Glossaire des abbreviations

AGPL: Acides gras plasmatiques libres

AOPP: Advanced Oxydation Proteins Products

ASAT: Aspartate Alanine Transferase

ATP: Adénosine Tri Phosphate

CRP: C-reactive Proteins

CTn1: cardiac-tronin-1

CK: Créatine kinase

CK-MB: fraction MB de la créatine kinase

DEXA: Dual Energy X-Ray Absorption

GSH : glutathion réduit

GSSG : glutathion oxydé

IL : interleukine

Kcal: kilocalories

KJ: kilojoules

Kg PV: par kilogramme de poids vif

LDH : Lactate Deshydrogénase

MPO : myeloperoxydase

% prot EM: pourcentage de l'énergie métabolisable distribué au chien sous forme de protéine

p-ACC : phosphorilated acteylcoenzyme A phosphorylase

p-Rp S6 : phosphorilated S6 ribosomal protein

rt-PCR : reverse transcriptase polymerase chain reaction

TNF : Tumour Necrosis Factor

VCO₂max: volume maximal de CO₂ expiré

ω6: acides gras de la série des omegas six

ω3: acides gras de la série des omegas trois

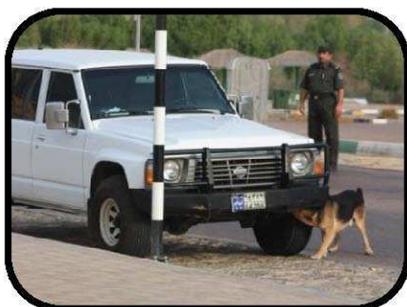
Annexes

Annexe 1 : illustrations des différents types de chien de service dans le monde.....	135
Annexe 2 : Poster présenté en congrès international.....	139
Annexe 3 : abstract publié suite à une présentation orale en congrès international (International Working Dogs Congress ;	141
Annexe 4 : article publié dans E.C. Veterinary Science.....	143
Annexe 5 : copie du dépôt de brevet déposé suite au développement d'un supplément nutritionnel post-effort en collaboration avec la société Royal-Canin®.....	173

**Annexe 1 : illustrations des différents types de chien de service dans
le monde**

TYOLOGIES DE CHIENS DE SERVICE

FONCTIONS MILITAIRES OU DE POLICE/DOUANES



- Garde
- Eclairage
- Accompagnement
- Pistage
- Déminage
- Assaut
- Maintien de l'ordre
- Recherche d'armes
- Recherche d'explosifs
- Recherche de stupéfiants
- Recherche de billets de banque
- Recherche de restes humains
- Recherche de biens interdits à l'importation
- Recherche de portables en milieu carcéral

TYPOLOGIES DE CHIENS DE SERVICE

FONCTIONS DE SECURITE CIVILE

- Recherche de personnes ensevelies sous décomres
- Recherche de personnes égarées en questage
- Recherche de personnes égarées en pistage
- Recherche de personnes ensevelies sous neige
- Recherche de produits incendiaires
- Sauvetage en milieu aquatique
- Détection localisation de produits alimentaires



TYPOLOGIES DE CHIENS DE SERVICE

FONCTIONS D'UTILITE SOCIALE

- Guide de malvoyants et aveugles
- Aide aux personnes handicapées physiques
- Aide aux malentendants et sourds
- Recherche d'éléments allergisants
- Aide au dépistage médical précoce
- Soutien à l'insertion d'enfants autistes
- Détection d'alerte pour personnes diabétiques ou épileptiques
- Soutien thérapeutique aux personnes âgées
- Soutien thérapeutique en stress post-traumatique
- Recherche environnementale



Annexe 2 : Poster présenté en congrès international.

CLERO D ; FEUGIER A ; DRISS F ; GRANDJEAN D.

Interest of a pre and per-exercise nutritional supplementation
on working dogs serum inflammatory and oxidative stress markers
evolution during a standardised mid-intensity exercise.

Waltham International Nutrition Symposium 2013

Portland, Oregon (USA) ; 1-3/10/2013

INTEREST OF A PRE AND PER-EXERCISE NUTRITIONAL SUPPLEMENTATION ON WORKING DOGS SERUM INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS MARKERS EVOLUTION DURING A STANDARDIZED MID-INTENSITY EXERCISE



UNIVERSITÉ
PARIS-EST

D. CLERO¹; A. FEUGIER; F. DRISS; D. GRANDJEAN¹

¹Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France
dclero@vet-alfort.fr



INTRODUCTION

Nutritional evolutions for working and sporting dogs have allowed an increase in performance and improved the prevention of sport related injuries. They have led to an increase in fat, proteins, antioxidants and other ergogenic nutrients in the daily food of athletic dogs. During oxidative metabolism, the ATP used by the working muscle is provided for 80% by lipids oxidation. Short and medium chain fatty acids provide a quick source of energy thanks to their ability to be quickly assimilated in the bowel without pancreatic lipase action, and to cross the mitochondrial membrane without the use of L-Carnitine. The goal of the study was to evaluate the interest of a supplement given before and during stamina in reducing the level of induced oxidative stress and inflammation in working dogs.

MATERIAL AND METHODS

A study was performed on ten search and rescue belgium shepherds of the Paris Fire Brigade, fed and trained the same way (figure 1). Each dog was its own control and performed two exercise sessions (two twenty minutes runs at 14km/h separated by five minutes rest -photo 1-) at a fourteen days interval period, in a cross-over protocole (control group -CG- vs supplemented group -SG-). The groups were randomly chosen. Royal Canin® Energy supplement containing 36% fat based on dry matter (94.5% coming from short and medium chain fatty acids), antioxidants (vitamin A, E, C and green tea polyphenols), B group vitamins and L-carnitine was given one hour before and in the middle of the exercise.

Physiological parameters (temperature, respiratory rate, heart rate) were recorded just before (T0), during (T1), just after (T2), 10, 20 and 30 minutes after the end of the exercise, and 24 hours after the exercise (T2_24). Blood samples were performed at T0, T2, and T2_24. Serum inflammatory markers (IL-1 β , IL-8, IL-10 and IL-15) were assessed by qRT-PCR, and oxidative stress markers (Advanced Oxidation Protein Products, plasmatic and salivary myeloperoxidase, GSH and isoprostanes) by spectrophotometric methods.

Statistical analysis were performed according to data distribution using Tanagra® or Statistical Analysis System® softwares. Non parametric tests were used when data were not normally distributed. Analysis of variance or covariance was performed on normally distributed data.

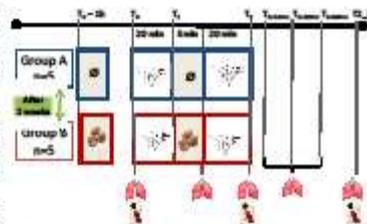


Figure 1: Experimental design

RESULTS



Photo 1: an exercise session

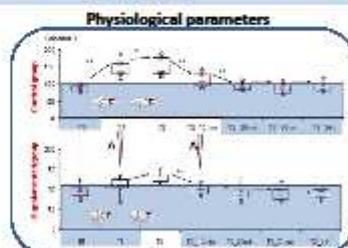


Figure 2: Evolution of heart rate in CG and SG during the time.
*: P<0.05 (T₀ vs T₀₊₁); **: p<0.001 (T₀ vs T₀₊₁); ^: p<0.05 (CG vs SG at T₀); ^: no significant differences between T₀ vs T₀₊₁

A slower increase of the heart rate during exercise and a 10 minutes quicker recovery of basic heart rate were observed in the supplemented group compared to the control group (figure 2). Moreover the highest respiratory rate was 11p100 lower and the recovery of basic respiratory rate was 10 minutes quicker in the supplemented group compared to control group. The temperature tended to be lower at T1, T2, T2+10min and T2+20min in supplemented group compared to control group.

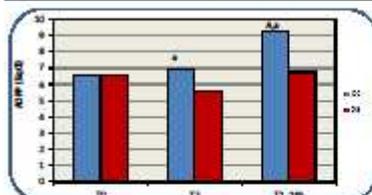


Figure 3: Evolution of AOPP in CG and SG during the time.
*: P<0.05 (T₀ vs T₀); ^: p<0.05 (CG vs SG at T₀).

Antioxidant stress markers

AOPP increase at T2 and T2_24h in the control group but not in the supplemented group. AOPP were higher at T2_24h in the control group compared to the supplemented group (figure 3). No significant differences were observed on isoprostane, plasmatic and salivary MPD and GSH between the two groups.

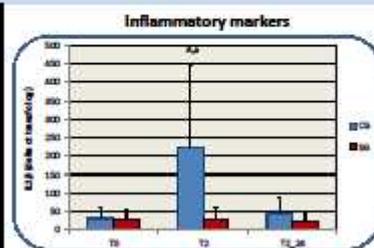


Figure 4: Evolution of IL1 β gene expression in CG and SG during the time.
*: P<0.05 (T₀ vs T₀); ^: p<0.05 (CG vs SG at T₀).

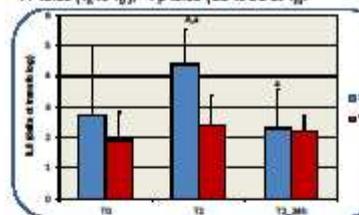


Figure 5: Evolution of IL8 gene expression in CG and SG during the time.
*: P<0.05 (T₀ vs T₀); ^: p<0.05 (CG vs SG at T₀).

IL1 β and IL8 increase at T2 in the control group but not in the supplemented group (figure 4 and 5). IL8 remains higher at T2_24 compared to T0 in the control group. No significant differences were observed on IL-10 and IL-15 between the two groups.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The positive effects on pro-inflammatory cytokines and the quicker recovery of basic heart rate could be related to a mobilisation time sparing or specific nutrients provided by supplementation. The absence of major results on oxidative stress markers may be linked with the intensity of the exercise and/or the high quality basic food used (Royal Canin® Energy 4300) which is already supplemented in antioxidants as it had been advised for active dogs since year. [1] Those results are in agreement with studies performed on human endurance athletes on short and medium chain fatty acids supplementation, except that adverse digestive effects have been reported in humans but not observed on dogs who can tolerate more than 30% of fat in their daily energy intake [2]. This study support the interest of pre and per exercise supplementation in working dogs, but further studies are needed to confirm supplemental benefits on another kind of exercise or precise the best timing for administration.

REFERENCES

- [1] Grandjean D et al., 1998. J Nut: 2694-2697.
- [2] Kronfeld DS et al., 1994. J Nut: 2743-2753

Annexe 3 : abstract publié suite à une présentation orale en congrès international (International Working Dogs Congress ;

CLERO D, GRANDJEAN D.

Influence of high fat/ high antioxidant nutritional supplementation before and during exercise on physiological and biochemical responses in physically trained search and rescue dogs.

Journal of Veterinary Behavior 2012; 7 (1) : 56

Key words: EMPK®; training aids; explosives; vapour source; contamination prevention; safe handling

WHOLE BODY CT, MOTION CAPTURE, AND 3D COMPUTER ANIMATION FINDINGS IN THREE WORKING DOGS WITH EARLY ONSET LOWER BACK PAIN

J.C. Jones^{1,*}, J.C. Tan², T.J. Tucker³, B.J. Pierce⁴, J.L. Foxworth³, B. Long³, T.A.M. Harper⁴

¹West Virginia University, Morgantown, WV, USA

²Wake Forest University, Winston-Salem, NC, USA

³Winston-Salem State University, Winston-Salem, NC, USA

⁴Virginia Tech, Blacksburg, VA, USA

*Corresponding author: Jeryl.jones@mail.wvu.edu

Lower back pain is a common cause of performance deficits in working dogs. Early detection and treatment are critical for minimizing irreversible nerve injury, compensatory gait abnormalities, increased strain on other joints, and loss of muscle mass. Conservative treatments such as physical therapy show promise for helping affected dogs, however more sensitive methods for localizing pain and measuring treatment response are needed so these new treatments can be validated. The purpose of this study was to describe findings from and the diagnostic utility of whole body CT, motion capture, and 3D computer animation for three, active duty police dogs with a clinical diagnosis of lower back pain. An experienced, board-certified, veterinary internist or veterinary surgeon determined the clinical diagnosis for all dogs. Whole-body CT scans for each dog were acquired using a 16-slice CT scanner and interpreted by a board-certified veterinary radiologist who was unaware of clinical findings. Digital motion capture data were acquired as handlers led the dogs through movements typically required for their working tasks. Motion capture data were analyzed using tracking software and interpreted by two gait analysis experts who were also unaware of clinical findings. Two image analysis experts created three-dimensional models of the dogs' skeletal structures from whole body CT data and converted the data to a format that could be linked to the motion capture data. A 3D computer animation expert combined CT and motion capture datasets to create 3D computer animation movie clips of the dogs' skeletal movements during working tasks that could be viewed from multiple angles. Results of the three new tests were presented to the internist and surgeon who performed initial clinical examinations, and they completed a questionnaire on the diagnostic utility of the tests. Clinicians indicated that the new tests identified significant lesions that were not suspected from their initial clinical assessments, were helpful for planning treatment, and showed promise as educational aids for primary care veterinarians, handlers and trainers.

Key words: whole body CT; motion capture; working dog; 3D computer animation

INFLUENCE OF HIGH-FAT/HIGH-ANTIOXIDANT NUTRITIONAL SUPPLEMENTATION BEFORE AND DURING ENDURANCE EXERCISE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES IN PHYSICALLY TRAINED SEARCH AND RESCUE DOGS

D. Clero*, D. Grandjean

Canine Sport and Breeding Medicine Unit, University

Paris-East, Afort National Veterinary School, France

*Corresponding author: dclero@vet-ajfort.fr

We investigated the effects of a pre/exercise nutritional supplementation containing a high level of fat (medium and short chains fatty acids) and anti-oxidants (vitamins E, C and green tea polyphenols) on physiological and biochemical parameters, and on inflammatory and oxidative status of working dogs after exercise. Ten Belgian shepherds dogs, members of the Paris Fire Brigade K9 Search and Rescue Unit were randomly divided into two groups, in a cross-over designed protocol. They consumed 2g/kg body weight of the studied nutritional supplement or nothing, one hour before and in the middle of an endurance run test. After a fifteen day washout period, the trial was repeated by switching the two groups. Endurance test consisted of two times 20 minutes runs at a speed of 14km/h, separated by a passive rest of 5 minutes during which the supplement was provided to the concerned group. Physical parameters were measured before exercise (T0), at the end of the first 20 minutes run (T1), immediately after the end of the test (T2), and then at 10, 20, 30 minutes and 24 hours (T3) later. Blood samples were made at T0, T2 and T3. A smaller increase of the heart rate and a faster return to rest heart rate (10 min vs. 20 min) during and after exercise were observed in the supplemented group (SG) compared to control group (CG). Respiratory rate peak was lower in SG, and return to rest respiratory rate was faster (20 min vs. 30 min) in SG compared to CG. Thermal load tended to be lower after 20 minutes of run and at the end of the trial in SG compared to CG (39.2°C vs. 39.7°C). After supplement ingestion, blood triglycerides were higher and decreased during exercise in SG. Advanced Oxidation Proteins Products (AOPP) were significantly higher at T2 in CG. No statistical difference was found for other oxidative stress related parameters. Interleukins IL1β and IL10 were statistically higher at T2 and T3 for CG. The results of this field study indicate that the tested nutritional supplementation lowers physiological modifications induced by this type of stamina in the dog. A slight decrease in the biological impact of exercise induced oxidative stress is observed through AOPP. Level of pro-inflammatory interleukins is higher post-exercise in the control group. Further experimentation is needed in order to better analyse the positive effect such nutritional supplementation versus exercise induced inflammation and their clinical consequences.

Key words: working dogs; anti-oxidants; nutritional supplements; interleukins

Annexe 4 : article publié dans E.C. Veterinary Science.

CLERO D. ; FEUGIER A. ; DRISS F. ; GRANDJEAN D. Influence of pre and per-exercise nutritional supplementation on working dogs biological markers evolution during a standardised exercise. E.C.

Veterinary Science 2015; 1 (1) : 5-20

**INFLUENCE OF PRE AND PER-EXERCISE NUTRITIONAL
SUPPLEMENTATION ON WORKING DOGS BIOLOGICAL MARKERS
EVOLUTION DURING A STANDARDIZED EXERCISE.**

Research article

Journal

Authors

D. CLERO^{1*}, A. FEUGIER², F. DRISS³and D. GRANDJEAN¹

1Paris-east university, Alfort National Veterinary University, France

2Royal-Canin, France

3CHU Paris-Ouest, France.

***Corresponding author**

D. CLERO, UMES, 7, avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France,
Fax: +33 (0)143967080; Tel: +33 (0)143967204; E-mail: dclero@vet-alfort.fr

Email:

dclero@vet-alfort.fr, alexandre.feugier@royal-canin.fr, fathi.driss@bch.aphp.fr,
dgrandjean@vet-alfort.fr

Abstract

The authors investigated the effects of a pre/per-exercise nutritional supplementation containing fat and anti-oxidants on physiological, biochemical, inflammatory parameters and stress oxidative markers of dogs performing an endurance exercise. Ten working Belgian Shepherds dogs were randomly divided into two groups. They consumed 2g/kg body weight of the supplement (SG), or nothing (CG), one hour before and in the middle of the exercise (two times 20 minutes runs at 14km/h, separated by 5 minutes rest). The trial was repeated fifteen days after by switching the two groups.

Physiological parameters were measured before exercise (T0), at the end of the first

20 minutes run (T1), immediately after the run (T2), and then at 10, 20, 30 minutes and 24 hours (T3) later. Blood samples were performed at T0, T2 and T3.

A slower increase of the heart rate during exercise, and a faster return to rest heart rate (10 min vs 20 min) after exercise were observed in SG vs CG. Respiratory rate peak was lower in SG, and return to rest respiratory rate was faster (20 min vs 30 min) in SG vs CG. Thermal load tended to be lower at T1 and at T2 in SG vs CG (39,2°C vs 39,7°). In SG, blood triglycerides were higher and decreased during exercise. Advanced Oxidation Proteins Products (AOPP) were significantly higher at T2 and T3 in CG. Interleukins IL1 β and IL8 were higher at T2 in CG vs SG, and even at T3 for IL-8. The results tend to indicate a better tolerance to exercise after the supplementation.

Keywords

Working dogs, nutrition, supplementation, oxidative stress, cytokines, short and medium-chain fatty acids.

Abbreviations

SG: supplemented group

CG: control group

FFA: Free Fatty Acids

ROS: Reactive Oxygen Species

H₂O₂: hydrogen peroxyde

GSH-PX: glutathione peroxidase

SOD: superoxide dismutase

SMCT: short and medium chains triglycerids

AOPP: Advanced Oxidation Protein Product

1. Introduction

Mild intensity endurance exercise induces an increase in energy consumption, mainly covered in dogs by lipid oxidation (Kronfeld, 1973 ;Kronfeld, Ferrante and Grandjean, 1994). In addition to having a direct effect on the quantity and quality of energy requirements, muscle work also has a great influence on the nutritional balance of food intake via induced stress. When exercise is prolonged (more than a few minutes) and of a moderate intensity (50 to 70 p100 of the maximal oxygen consumption, still poorly quantified in dogs but very higher than in humans (Grandjean, 1994), aerobiosis is the metabolic pathway that covers 90p100 of the muscular energy requirements. Prolonged muscle work is therefore responsible for a marked increase in plasma FFA (Rodahl, 1964 ;Issekutz, 1979 ; Brzezinska,Kaciuba-Uscilko and Nazar, 1980), and both FFA mobilization ability and the level of fat in the diet are directly correlated to endurance performance in the dog (Kronfeld, 1973 ; Hammel, Kronfeld, Ganjan and Dunlap, 1977 ; Kronfeld and Downey, 1981 ; Grandjean, 1983 ; Gazzola, 1984 ; Reynold, 1994). Inflammation and ROS productions are also increased during such exercise.

The quality of the energy supplied to dogs during an effort is therefore of primary importance, and, hence, optimum energy criteria have been defined for racing/working dogs :

- The energy (fat) must be readily and rapidly available at the site of use (muscle) ;
- The balance of the energy components must be such that their combustion is accomplished with a maximum efficiency, minimum waste, and without a risk of metabolic blockade.

For this purpose, short or medium chain fatty acids (copherol and palm fats, etc...), have been extensively used for their qualitative advantages in the dog : their digestion is enhanced since it occurs passively and without the need of bile salts solubilisation (Kronfeld et al, 1981), and the digestive action of pancreatic lipase is facilitated by their low molecular weight. Triglycerides containing short or medium chain fatty acids are thus hydrolysed more rapidly and more completely than those with long chains, and they are even released preferentially if the triglyceride is mixed (Mott, Sarles and Tisconia, 1972). In metabolic terms, a second advantage comes from the low incorporation of these fatty acids into adipose tissue (Scheig, 1968). In addition, they do

not require L.carnitine to penetrate through mitochondrial membranes (Groot and Hulsmann, 1973) ; intramuscular oxidation is then faster and easier for short than for long chain fatty acids.

But in such a case of high lipid oxidation during stamina in the dog, high oxygen intake and the important increase in free fatty acids oxidation are responsible for a high level of production of free radicals (ROS)

ROS, such as the superoxide anion, the hydroxyl radical, H₂O₂ and many others, are constantly produced by metabolic reactions (Halliwell, 1994). When they are not « removed » through the action of biological antioxidants, they are harmful to cells, induce membrane lipid peroxidation and damage proteins and nucleic acids. ROS are counteracted by a wide range of antioxidants synthesized in the cell, including glutathione peroxidase (GSH-PX) and reductase, superoxide dismutase (SOD) and catalase, or supplied by the diet (vitamins E and C, polyphenols, flavonoids, etc...). Antioxidant adjunction in the working dog food has already been shown as an effective limiting factor of oxidative stress cellular consequences (Grandjean, Driss, Sergheraert, Valette, Michel and Luigi, 1996 ; Grandjean, Sergheraert, Valette and Driss, 1998 ; Reynolds and Dunlap, 2005 ; Dunlap, Reynolds and Duffy, 2006). However, other studies did not demonstrate any protective effect of nutritional antioxidants on the contracting muscle (Jackson, 2008).

The aim of this study was to measure the effects of a nutritional supplement containing SMCT, anti-oxidants, and group B vitamins, on physiological and biological markers of mild-intensity endurance exercise in working dogs.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Ten Belgian Shepherds Malinois, members of the Paris Fire Brigade k9 Search and Rescue Unit, were included in the study and divided into two groups according to body weight and age. They were all males, with similar Body Condition Scores ranging from 2 to 3 on a 5 degrees scale, aged from 3 to 7 years. The animals were in perfect health condition (with a regular clinical and biochemical routine survey as for all military service dogs in France), followed the same daily physical training program including

endurance training for one year, and were all fed the same specialized complete balanced dry food (« 4300 », Royal Canin®, table 1).

Table 1 : Analytic composition of the daily food (Royal-Canin 4300®) (vs crude matter).

Humidity	8 p100	Vitamin A	2500 UI/kg
Crudeproteins	28 p100	Vitamin E	650 mg/kg
Crude fat	21 p100	Vitamin C	1000 mg/kg
Crudefibers	2.9 p100	Vitamin B9	20.3mg/kg
Ash	7.5 p100	Vitamin B12	0.09 mg/kg
Nitrogen Free Extract	32.6 p100	L-carnitine	150 mg/kg
Energeticdensity	4140 kcal/kg		

During the whole study, all the dogs were housed in the same kennel and had exactly the same physical activity program. During resting days, a basic clinical examination was performed daily, including heart and respiratory rates, body temperature control and paw-check.

2.2. Nutritional Supplement

In the supplemented group (SG), each dog received a nutritional supplement at two different times during the exercise day:

- One hour before the start of the test run
- During the 5 minutes break period after 20 minutes of run (corresponding to half-time of the total running test).

The supplement (copyright Royal Canin®) contains 40p100 of fat based on dry matter (short and medium chain fatty acids extracted from coprah), a mixt of anti-oxidants (vitamin A, E, C and green tea polyphenols), B group vitamins and L.carnitine. Its energy content is 5300 kcal/kg (table 2). It is processed as a “pillow”, so that active nutrients are protected by an external layer of extruded starch, and tested for palatability in the dog.

Water is provided as usual ad-libitum for the two groups during the test period.

Table 2 : Analytic composition of the tested supplement (vs crude matter).

Humidity	7p100	Vitamin A	26600 IU/kg
Crudeproteins	27 p100	Vitamin E	1400 mg/kg
Crude fat	36p100	Vitamin C	1600 mg/kg
Crudefibers	2p100	Vitamin B9	45 mg/kg
Ash	3.6 p100	Vitamin B12	30 mg/kg
Nitrogen Free Extract	24.4 p100	L-carnitine	400ppm
Energeticdensity	5296 kcal/kg	Polyphenols	150 mg/ kg

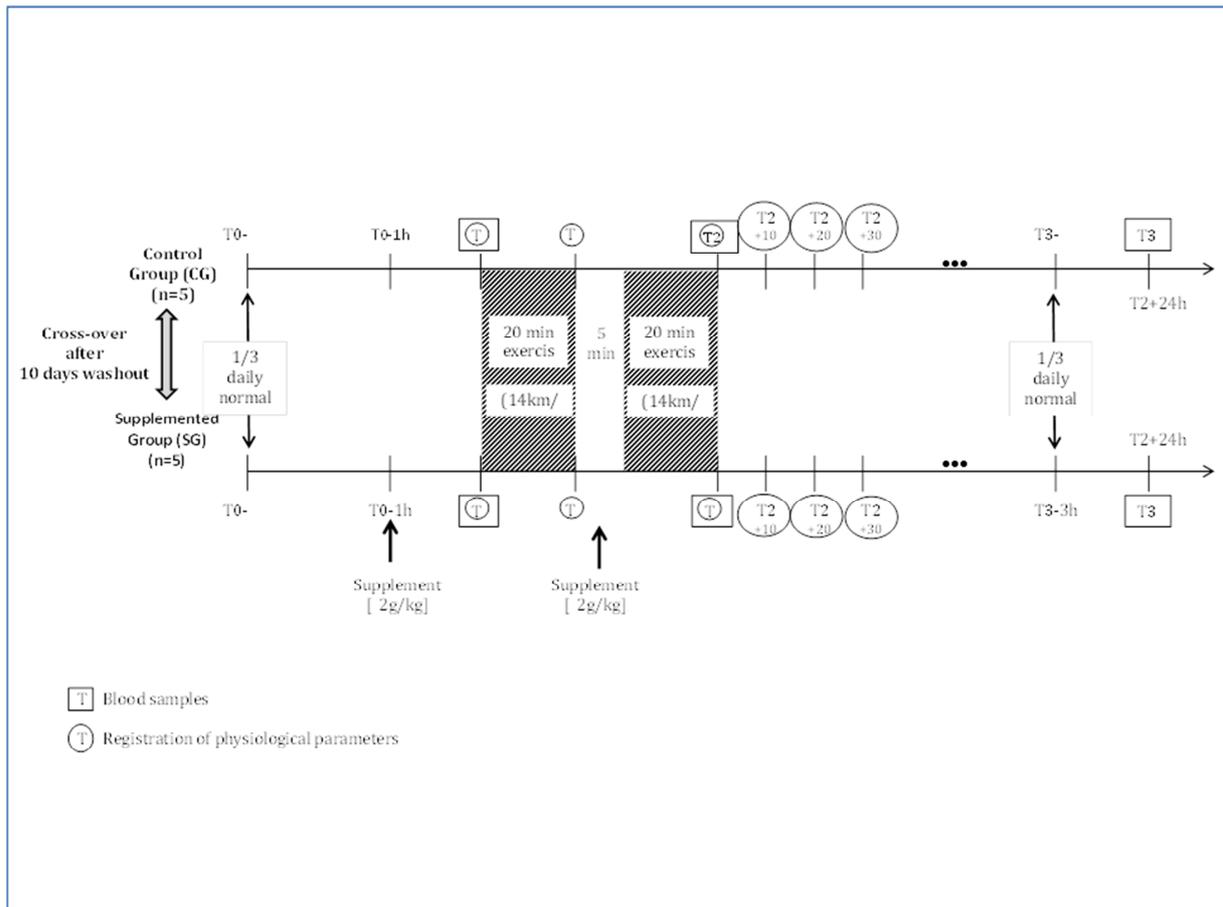
2.3. Endurance Test

The test is made of two times twenty minutes of run, separated by five minutes of passive recovery. The speed of each dog during the test is constant : 14km/h. Each dog runs aside of his handler, laterally linked to a bicycle, without ever pulling, and speed is maintained constant by using a portable GPS device (KeymazeKalenji 7000). In order to perform the test without pulling or being pulled, the dogs have been trained this way twice weekly during one year.

2.4. Experimental design

The protocol is designed as a cross-over study so that each dog is his own control, and performs the run test twice, once in the supplemented group (SG), once in the control group (CG). The two tests were performed at fourteen days of interval in order to respect a washout period.

Figure 1: design expérimental



On the test day, all dogs were fed precisely three hours prior to their own test-starting time, receiving one third of their regular daily intake (« 4300 », Royal Canin®). They received (SG), or not (CG), the supplement one hour before their starting time, and during the five minutes stop at half-run after twenty minutes (figure 1). The last two third of the daily intake was given 7 hours after the exercise. The day after the endurance trial, dogs were fed exactly three hours before T3.

Registration of physiological parameters, blood sampling, and on site treatments of blood samples were performed in standardized conditions by five veterinarians of UMES-ENVA (Unite de Medecine de l'Eleveet du Sport – EcoleNationaleVeterinaired'Alfort).

2.5. Biological parameters

2.5.1. Physiological parameters (table 1)

Heart rate, respiratory rate and rectal temperature were registered three minutes prior to the test start (T0), immediately after the first twenty minutes run (T1), immediately after finishing the second twenty minutes run (T2) and during the recovery period at 10, 20, 30 minutes and 24 hours (T3) post run.

All measurements were obtained directly, and by the same veterinarian for each of the three parameters: heart rate (stethoscope and femoral pulse), respiratory rate (count of thoracic respiratory movements), body temperature (rectal, at the same depth).

2.5.2. Blood samples

Venous blood samples were collected from the jugular vein (easy, quick, and without risk of hematoma when samples are repeated), five minutes prior to test start (T0), immediately after the whole test (T2) and 24 hours post-test (T3). Three tubes were collected at each time (dry, heparined and EDTA).

Dry tubes were centrifuged on site, thirty minutes after sampling (1500 rpm x 10 minutes), and stored in an ice-cooler. Heparin tubes were immediately centrifuged (1500 rpm x 10 minutes).

Plasma was aliquoted in Eppendorf tubes protected from UV rays and stored in an ice-cooler.

One aliquot of each sample was treated on site for further plasma vitamin C analysis, with 1.2 ml of a 10p100 trichloroacetic acid solution added to 0.3 ml of plasma ; after gently shaking, it was centrifuged again (1500 rpm x 20 minutes), protected from UV rays and stored in an ice-cooler.

EDTA tubes were simply immediately stored in an ice-cooler.

- Lactates were analysed on site, as poorly reliable results are obtained when analysis are delayed, immediately after blood sampling, with a Lactate Pro Analyser (Roche®).

- Standard blood biochemical parameters including glucose, triglycerides, vitamins B₉ and B₁₂, were measured with an automatic analyser (Vista 2, Siemens healthcare Diagnosis).
- Blood vitamins A, E and C were measured using High Performance Liquid Chromatography with spectrofluorometric detection.
- Advanced Oxidation Proteins Products (AOPP), reduced glutathione (GSH), isoprostanes were analysed by colorimetric reactions in order to evaluate induced oxidative stress.
- Interleukins IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15 were assessed by q RT-PCR.

2.5.3. Statistical analysis

Statistical analysis was performed according to data distribution using Tanagra® and Statistical Analysis System® (SAS) softwares. Non parametric tests (Friedman and paired Wilcoxon tests) were used when data were not normally distributed (Physiological parameters, triglycerides, urea, creatinine, vitamin B₉, AOPP, IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15). Variance or covariance analysis was performed on normally distributed data (Lactates, glucose, vitamins A, E, C and B₁₂).

3. Results and Discussion

3.1. Results

3.1.1. Physiological parameters (table 3)

A lower increase of the heart rate during exercise was observed for SG (CG vs SG : 133 vs 110 median values in beats/min at T1 ; $p < 0.05$). No difference between the groups was recorded on the maximum heart rates measured at the end of the test.

A ten minutes faster recovery time (to rest heart frequency) was observed in the supplemented group compared to the control group.

Table 3: Evolution of physiological parameters during exercise and during the recovery period in the two groups. Results are presented as: Q1: quartile 1, M: Mean, Q3: Quartile

3.

Evaluation of time effect within groups and group effect within time :

^a : P<0.05 (T_nvs T_{n-1})

^A : p<0.01 (T_nvs T_{n-1})

^b : p<0.05 (CG vs SG).

	Control group (n=10)	Supplemented group (n=10)
	M (Q1-Q3)	M (Q1-Q3)
HR		
(beats/min)		
T0	87.5 (81-93.5)	94 (82.2-103.7)
T1	133 (128-160) ^A	110 (102-126.7) ^b
T2	136 (130-177.5) ^a	122.5 (120-140) ^a
T2+10min	106 (94.5-127.7) ^A	100 (87.2-110) ^{A, b}
T2+20min	88 (84-99) ^a	87.5 (77-98.7)
T2+30min	86 (74-98.5)	87 (75.5-100.5)
T3	85 (81-98.5)	93 (78.7-100.5)
RR		
(beats/min)		
T0	58 (42.5-93.5)	80 (49-117.5)
T1	145 (121-188.5) ^A	140 (134-155) ^A
T2	174 (162-195) ^a	155 (142.5-160) ^{a, b}
T2+10min	130 (120-144.5) ^A	120 (120-160)
T2+20min	102 (90-120) ^A	90 (72.5-115) ^A
T2+30min	98 (82.5-116)	72 (46.7-100) ^b
T3	54 (34.5-75.5) ^a	48 (42-115.5)
T (°C)		
T0	38.3 (37.9-38.5)	38.2 (38.0-38.5)
T1	39.7 (39.3-40.3) ^A	39 (38.9-39.2) ^A
T2	39.7 (39.2-40.4)	39.1 (38.9-39.6) ^a
T2+10min	39.3 (38.9-39.7) ^a	38.9 (38.3-39.5) ^b
T2+20min	38.8 (38.5-39.2) ^A	38.6 (38.2-39) ^a
T2+30min	38.4 (38.3-38.7) ^A	38.4 (38-38.7)
T3	38.3 (38.2-38.6)	38.6 (38.4-38.7)

Return to basic respiratory rate was 10 minutes faster in SG than in CG group. Consequently, thermal load tended to be lower at T1, T2, T2 + 10 min and T2 + 20 min in SG compared to CG group.

3.1.2. Energy utilization related biochemical parameters (table 4)

Table 4: Evolution of biochemical parameters during exercise and during the recovery period in the two groups.

Results are presented as M (Q1-Q3) for triglycerids and vitamin B9 .

Q1: quartile 1, M:Mean, Q3: Quartile 3

Results are presented as M (+/-SD) for vitamin B12, lactates and glucose.

Evaluation of time effect within groups and group effect within time :

^a: P<0.05 (T_nvs T_{n-1})

^A: p<0.01 (T_nvs T_{n-1})

^b: p<0.05 (CG vs SG).

^B: p<0.05 (CG vs SG).

	Control group (n=10)	Supplemented group (n=10)
	M (Q1-Q3))	M (Q1-Q3))
Triglycerids		
(g/L)		
T0	0.61 (0.4-0.8)	1.05 (1-1.1) ^b
T2	0.75 (0.4-1.5) ^a	0.8 (0.5-1.1) ^a
T3	0.65 (0.4-1.1)	0.5 (0.4-1.6)
Vitamin B9		
(ng/mL)		
T0	426 (417-531)	617.5 (604-649.7) ^B
T2	471 (425-543)	622.5 (600.7-658.7) ^B
T3	527 (456.2-602.7)	610 (601.2-638.7)
	M ±SD	M ±SD
Vitamin B12		
(pg/L)		
T0	497.1±90.4	671±80.3 ^B
T2	503.4±100.7	638±74.3 ^B
T3	532.5±87.8	568.7±97.6
Lactates		
(mmol/L)		
T0	1.3±0.8	1.3±0.7
T2	2.0±1.1	2.1±1.1
T3	1.5±1.1	497.1±90.4
Glucose		
(mmol/L)		
T0	5.1±0.7	4.6±0.9
T2	5.7±0.6 ^A	6.0±0.9 ^A
T3	5.0±1.1 ^A	4.9±0.4 ^A

3.1.2.1. Glucose

No statistically significant difference was observed between CG and SG groups concerning glycemia. Therefore, glycemia of the two groups were compiled at T0, T2 and T3. A significant increase of blood glucose was observed at T2 compared to T1 (increase) or T3 (return to basic levels) ($p < 0.001$) in both groups.

3.1.2.2. Lactates

The median value of blood lactates before exercise was 1.3 mmol/L in both groups. No significant differences were observed at any time between SG and CG

3.1.2.3. Triglycerides

Triglycerides blood concentration was significantly higher in SG before exercise (SG vs CG :1.05 g/L vs 0.6 g/L at T0 ($p < 0.05$)). During exercise, their concentration increased in CG (0.75 g/L at T2 vs 0.6 g/L at T0 ($p < 0.05$)), whereas it decreased in SG (0.8 g/L at T2 vs 1.05 g/L at T0 ($p < 0.05$)). At T3 (24 hours post exercise) both groups were back to the basic value.

3.1.2.4. Vitamins B9 and B12

At T0 and T2, vitamins B9 and B12 blood concentrations were statistically higher ($p < 0.05$) in SG than in CG (table 4). No significant differences between groups were observed at T3.

3.1.3. Oxidative stress parameters (table 5, and figure 2)

Table 5: Evolution of stress oxidative markers during exercise and during the recovery period in the two groups
Results are presented as M (+/-SD).
Evaluation of time effect within groups and group effect within time.

	Control group (n=10)	Supplemented group (n=10)
	M ±SD	M ±SD
Vitamin A (µmol/L)		
T0	6.57±0.29	6.10±0.29
T2	6.34±0.29	6.27±0.29
T3	6.57±0.29	6.59±0.29
Vitamin E (µmol/L)		
T0	113.37±2.98	103.35±2.98
T2	104.63±2.98	110.29±2.98
T3	105.84±2.98	110.83±2.98
Vitamin C (µmol/L)		
T0	1270.70±506.4	591.4±506.4
T2	1147.3±506.4	612±506.4
T3	1188.2±506.4	1763.7±506.4
GSH (µmol/mL)		
T0	1036.85±44.45	1006.02±44.45
T2	1033.1±44.45	983.45±44.45
T3	959.61±44.45	911.84±44.45
Isoprostane (ng/L)		
T0	55.24±3.66	51.78±3.66
T2	53.16±3.66	51.17±3.66
T3	64.65±3.66	57.49±3.66

- 4.
- 5.

Among the analysed oxidative stress related parameters, only AOPP (figure 2) showed statistically significant variations (figure 2). It was higher at T2 (6.3 Chloramine equivalent (Cl.eq)) and T3 (8.5 Cl.eq) than at T0 (5.4 Cl.eq) in CG ($p < 0.05$), and statistically lower in SG than in CG at T2 (5.7 Cl.eq vs 6.3 Cl.eq ($p < 0.05$)) and T3.

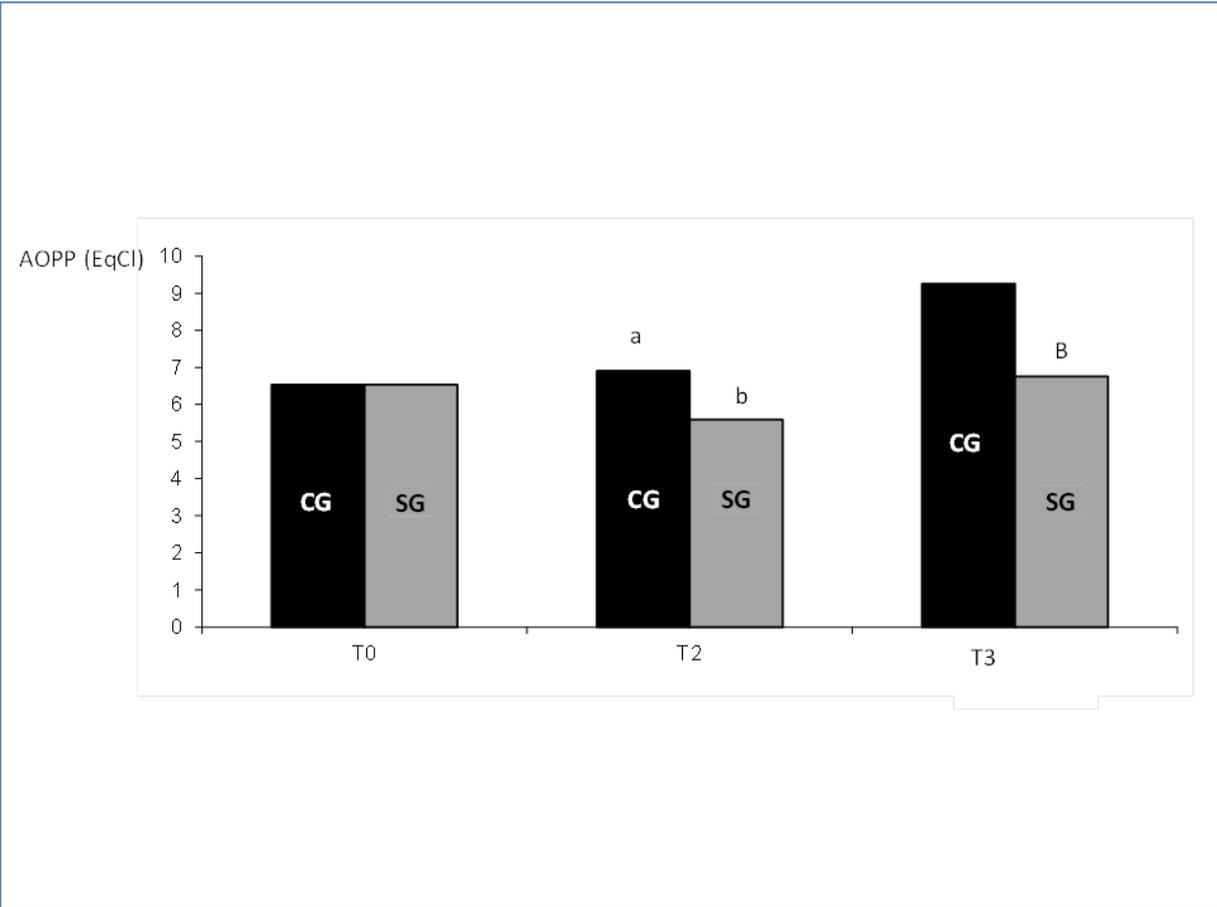
Figure 2: Evolution of AOPP during exercise and during the recovery period in the control group (CG in black) and the supplemented group (SG in grey).

Evaluation of time effect within groups and group effect within time was performed after a log transformation :

^a : $P < 0.05$ (T_n vs T_{n-1})

^b : $p < 0.05$ (CG vs SG).

^B : $p < 0.01$ (CG vs SG).



5.1.1. Inflammatory markers

Table 6 regroups the results for IL-1 β , IL8, IL10 and IL15 gene expressions.

Table 6: Evolution of inflammatory markers during exercise and during the recovery period in the two groups.

Results are presented as M (+/-SD).

Evaluation of time effect within groups and group effect within time was performed after a log transformation :

^a : P<0.05 (T_nvs T_{n-1})

^b : p<0.05 (CG vs SG).

	Control group (n=10)	Supplemented group (n=10)
	M \pm SD	M \pm SD
IL8 (Δct)		
T0	30.9 \pm 22.4	26.7 \pm 12.6
T2	223.6 \pm 97.9 ^a	30.3 \pm 17.3 ^b
T3	44.4 \pm 45.5	23.4 \pm 12.6
IL1β (Δct)		
T0	2.7 \pm 1.9	2.3 \pm 0.9
T2	4.4 \pm 2.4 ^a	1.1 \pm 0.9 ^b
T3	2.3 \pm 2.2	1.3 \pm 0.5
IL10 (Δct)		
T0	0.27 \pm 0.49	0.15 \pm 0.11
T2	0.15 \pm 0.15	0.16 \pm 0.11
T3	0.1 \pm 0.08	0.14 \pm 0.10
IL15 (Δct)		
T0	0.21 \pm 0.11	0.24 \pm 0.09
T2	0.24 \pm 0.06	0.22 \pm 0.4
T3	0.23 \pm 0.08	0.24 \pm 0.4

IL10 and IL15 were not affected by exercise test nor by supplement intake.

IL-1 β (figures 3) and IL-8 gene expressions were statistically (p<0.05) increased in CG compared to SG post-stamina at T2. No significant differences were observed at T3 between the two groups, and to T0.

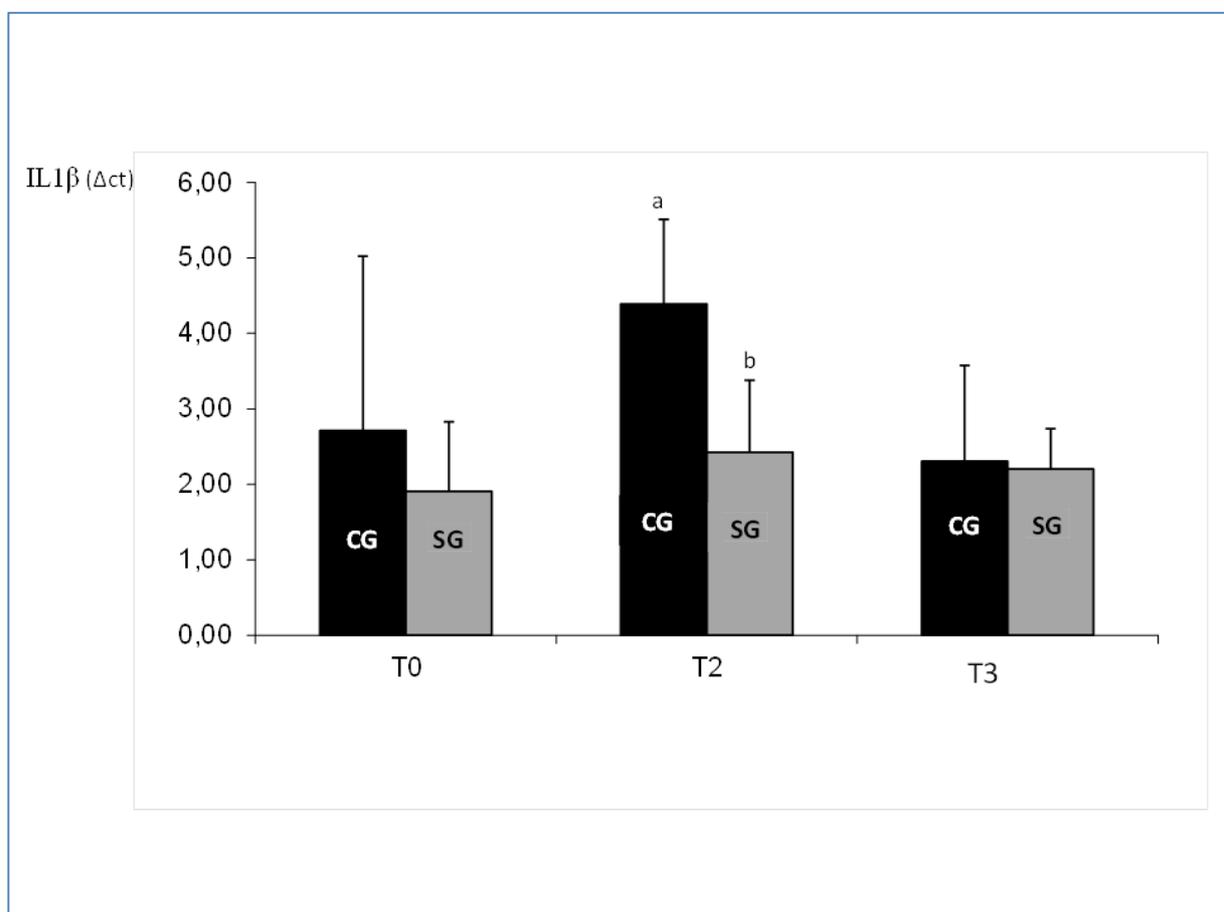
Figure 3: Evolution of IL1 β during exercise and during the recovery period in the control group (CG in black) and the supplemented group (SG in grey).

Results are presented as M (+/-SD).

Evaluation of time effect within groups and group effect within time was performed after a log transformation.

a: P<0.05 (T_nvs T_{n-1})

b: p<0.05 (CG vs SG).



5.2. Discussion

The result obtained in our field cross-over study can be discussed in relation with three metabolic areas deeply involved in the exercise performance and eventual clinical consequences in the dog :

- Nutritional quality of the energy provided in the food

- Nutritional management of exercise induced oxidative stress
- Possible impact of nutrition on post exercise induced inflammation consequences.

5.2.1. Interest of short and medium chain fatty acids

The energy supplied to a working dog must be qualitatively adjusted to the required physiologic goal and the type of energy involved. Likewise, the muscle energy yield can be considerably reduced by an accumulation of metabolic waste or by metabolic blockade. Adjustment of qualitative energy intake should offset these risks, and the use of certain nutrients, present in the complete balanced diet or in the studied supplement in our study, improves the muscle energy yield :

- L. carnitine transports long-chain fatty acids across the mitochondrial membrane and did show efficiency in racing sled dogs (Grandjean, Valette, Jouglin, Gabillard, Bacque, Bene and Guillaud, 1993 ;Grandjean and Fuks, 1997)
- (n-3) fatty acids improve erythrocyte deformability and the permeability of the cell membrane to oxygen(Guezennec, 1982) ;
- B complex vitamins play a recognized role in the correct functioning of the cell energy mechanisms (Grandjean and Paragon1992, 1993).

A high concentration of saturated long-chain fatty acids in the diet allows the dog to build or to rebuild stores of adipose tissue from empty calories. Activation of aerobic metabolism during endurance exercise leads to adipolysis ; this increases plasma triglycerides and free fatty acids concentrations, which are finally oxidized in the muscle cells.

Short and medium chain fatty acids (SMCT) can be defined as a mixture of fatty acids with 6, 8 and 12 carbon (Bach and Babayan, 1982), and are of obvious value to working dogs (Grandjean and al 1993). The low molecular weight of SMCT facilitates the digestive action of pancreatic lipase, and they can be absorbed without solubilisation by bile (Scheig R., 1968). Triglycerides containing SMCT are more rapidly and more completely hydrolysed than those with long-chain fatty acids. They are released preferentially if the triglyceride is mixed (Mott and al, 1972). In metabolic terms, another advantage is that SMCT are minimally incorporated into adipose tissue (Scheig,

1968), and they do not require carnitine to penetrate mitochondrial membranes (Groot and al, 1973), and thus generate a faster muscular oxidation.

Finally, SMCT have a restraining effect on the de novo synthesis of fatty acids in adipose tissue (Lavau and Haskim, 1978).

This explains why the tested nutritional supplement is formulated with a large proportion of SMCT (90p100 of fat content, in order to spare L. carnitine and thus improve the global energy yield while also preventing certain forms of exercise inducing muscle problems, frequently found in working dogs. The results of our study clearly demonstrate that :

- The choice of physically trained search and rescue dogs lead, for such an inframaximal exercise, to an almost exclusive use of lipids oxidation to cover muscles energy requirements (no increase in blood lactates, statistically significant increase of glycemia) ;
- The distribution of SMCT to the SG dogs induces a normal increase of blood triglycerides at T0 (Calabrese, Myer, Munson, Taret and Birdsall, 1998). But their drop during exercise in this group shows the preferential use of SMCT by muscle, confirming previous work attesting that at least 25p100 of the energy required by exercise comes, in the dog, from circulating lipids (Weber, Brichon, Zwingelstein, Mac Clelland, Saucedo, Weibel and Taylor, 1996).
- In the CG dogs, an increase in blood triglycerides was observed, confirming other studies already performed on dogs (Rovira, Munoz and Benito, 2007) ; metabolic fuels are supplied to locomotory muscles mitochondrias from nearby intramuscular stores and from remote stores via the circulation ;
- No digestive adverse effect was observed in our dogs, where some abdominal cramping and intestinal complains were observed on exercising humans ingesting MSCT (Jeukendrup, Thielen, Wagenmakers, Brouns and Saris 1998) ;
- The consumed B complex vitamins, in the SG group (B9 and B12) showed blood concentrations correlated to their ingestion, attesting no alteration of digestive functions in the supplemented dogs.

5.2.2. Management of induced oxidative stress

During exercise a number of potential sources exist for the production of reactive oxygen species such superoxide anions, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals, can be triggered. This overproduction can exceed antioxidant defences, to cause oxidative stress. Oxidative stress has been defined as a disturbance in the pro-oxidant-antioxidant balance in favour of the former, leading to potential cellular damages (Sies, 1991). Oxidative stress does not always result in clinical damages, but it may however result in oxidative damages to membrane lipids, proteins and DNA, and consequently alter athletic performance (Deaton and Marlin, 2003). Oxidative stress has already been described in the exercising dog, particularly sled dogs (Hinchcliff, Reinhart, Di Silvestro, Reynolds, Blostein-Fujii and Swenson, 2000), hunting dogs (Pasquini, Luchetti and Cardini, 2010) and search and rescue dogs (Grandjean, 2001). Numerous studies had been conducted in the past on working dogs (Kronfeld, Hammel, Ramberg and Dunlap, 1976) and demonstrated that stress is linked to the appearance of anemia (Adkins T., Kronfeld D., 1982), which can sometimes be serious, stress-diarrhea-dehydration (Hinchcliff, 2000), or even sudden death syndrom (Piercy, Hinchcliff, Di Silvestro, Reinhart, Baskin, Hayek, Burr and Swenson, 2000).

As a result from these study the content in antioxidant has been increased in complete balanced dry foods dedicated to working dogs, through adjunctions of vitamin E, vitamin C, selenium and numerous other antioxidant sources (Baskin,Hinchcliff, Di Silvestro, Reinhart, Hayek, Chew, Burr and Swenson, 2000; Scott K., Hill R., Lewis D., Boning A., Sundstrom D., 2001). Only Marshall, Scott, Hill, Lewis, Sundstrom, Jones and Harper (2002) stated that supplemented vitamin C could reduce the speed of racing Greyhounds.

In our study,, daily consumption of antioxidants was elevated, and might be sufficient to prevent their degradation during the test. Indeed, we have found any significant variation in blood parameters as vitamin E, vitamin C, and reduced glutathione.To better explore a suspected oxidative stress in performing dogs we measured another plasma marker such as AOPP (Advance Oxidation Protein Products). Elevated levels of oxidized protein have been descibed in animals following their exposure to various conditions of oxidative stress, including physical exercise., AOPP had never been studied in exercising dogs but has been shown as increased in humans after endurance stamina (Neubauer,

Konig, Kern, Nies and Wagner, 2008), and appears to be an interesting parameter, as it increased in both groups during stamina, and even 24 hours post-exercise. Advanced oxidation protein products are uremic toxins created during oxidative stress through the reaction of plasma proteins with chlorinated oxidants such as chloramine (Witko-Sarsat, Friedlands, Capeillere-Blandin, Nguyen-Khoa, Nguyen-Thu, Zingraff, Jungers and Descamps-Latscha, 1996). Regarding the mechanism of generation of AOPP, Witko-Sarsat, Gausson and Deschamps-Latscha (2003) also pointed out the importance of myeloperoxidase and the subsequent generation of chlorinated oxidants in the formation of AOPP. For these authors, AOPP appear to act as true inflammatory mediators since they are able to trigger the oxidative burst and the synthesis of inflammatory cytokines in neutrophils, as well as in monocytes.

In our study, the differences observed between the two groups show statistically significant lower levels of AOPP after exercise in SG than in CG indicating that diet supplementation with MCT during the race might confer some degree of protection towards oxidative stress. This protective effect could be due to increased yield of energy transformation within the mitochondria, and to the immediate delivery of ergogenic antioxidants.

5.2.3. Impact on post exercise induced inflammation

The relationship between exercise and inflammation can undergo lots of variations. Epidemiological studies (Abramson and Vaccarino, 2002 ; Ford, 2002 ; Mora, Cook, Buring, Ridker and Lee 2007), and meta-analysis (Cesari, Penninx and Newman, 2003 ; Karapis and Thomson, 2005) have demonstrated a relationship between physical exercise and anti-inflammatory effects. But exercise can also initiate an acute inflammatory response in the short term, known in working dogs where it cumulates with induced oxidative stress to result in muscular affections. C-reactive protein (CRP), for example, may serve as potential marker for exercise-induced inflammation. In a recent study performed on sled dog, Wakshlag, Stokol, Geske, Greger, Angle and Gillette (2010) conclude that CRP concentrations may serve as a potential marker for exercise-induced inflammation. According to these authors, the exact amount of exercise required to induce such a response is unknown, but dogs apparently have a more robust acute-phase response than do humans. Working on dogs after a strenuous exercise of

short duration, Wakshlag, Kraus, Gelzer, Downey and Vacchani (2010) did not find cardiac troponin values above the reference range for healthy dogs ; and although increased after two days of short-duration strenuous exercise, CRP did not reach concentrations suggestive of inflammation, as reported previously in the endurance sled-dogs.

For these reasons we chose in our study to focus on the genes expressions of some pro and anti-inflammatory cytokines, such as

- IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α (pro-inflammatory cytokines)
- IL-10 and IL-15 (anti-inflammatory cytokines)

Research through the past twenty years has demonstrated that exercise induces considerable changes in the immune system, and authors like Pedersen and Hoffman-Goetz (2000), and others, focused on cytokines and their possible roles as a link between muscle contractions and cellular immune changes. This research led to the discovery that exercise provokes an increase in a number of cytokines (Pedersen, Steenberg and Schjerling, 2001). Thus, skeletal muscle has the capacity to express cytokines like IL-6, IL-8 and IL-15 (Nieman, Davis, Henson, Walberg-Ramkin, Shute, Dunke, Utter, Vinci, Carson, Brown, Lee and Mac Anulty, 2003 ; Chan, Carey, Watt and Febbraio, 2004) and muscle contractions play a regulatory role in the muscular expression of these cytokines. Pedersen, Akerstrom, Nielsen, Fischer (2007) even proposed to call them myokines for these reasons.

Endurance exercise upregulates the production of IL-6 and IL-8, which leads to elevated circulating concentration of these myokines following exercise (Tamura, Watanabe, Kantani, Hayashi, Ishida and Kaneki, 2011). In our study, we unfortunately could not have IL-6 analyzed as scheduled, but IL-8 is highly increased by exercise in CG, where it stays constant in SG (figure 11). The same statistically different result is obtained for IL-1 β , confirming similar data obtained on humans (Moldoveanu, Shephard and Sheck, 2000). TNF α could not be analysed as scheduled either, but is documented as usually increased following an endurance exercise in humans (Andersson, Jansson, Hellsten, Nilsson, Hallmans and Boman, (2010). Concerning pro-inflammatory cytokines genes expressions, our results show a statistically significant positive effect (no variations induced by exercise in SG) ; this result is probably linked

- to the lower increase of body temperature during exercise observed in the supplemented group SG (Turnbull and River, 1999)
- to the relationship, not yet clearly explained, of adiponectine (that plays an important role in the hormonal regulation in response to energy expenditure during exercise) with pro-inflammatory cytokines (Jurimae , Hofmann, Jurimae, Maetsu, Purge and Wonish,et al., 2006 ; Jurimae 2011), as in our study, the provided supplementation decreases exercise induced lipolysis.

Concerning anti-inflammatory cytokines, we did not observe any statistical variation in the genes expressions of IL-10 and IL-15, where increases were found by authors working on human athletes (Nieman, Konrad, Henson, Kennerly, Shanely and Wallner-Liebmann2011) for IL-10, and no or little effects of endurance exercise on IL-15 by others (Inoue ,Unsinger, Davis, Muenzer, Ferguson, Chang, Osborne, Clark, Coopersmith, Mac Dunn and Hotchkiss, 2010). The question of the sufficiency of duration and intensity of the proposed exercise in our study remains.

The present study was the first one, to our knowledge, examining the interest of a pre-work nutritional supplementation in the working dog. Its primary goal was to evaluate the eventual interest of SMCT and extra-antioxidants at such times in the search and rescue dog, a category of dogs always subject to exercise periods repetitions in highly stressful conditions. The protocol itself could be handled in optimal conditions due to the high level of professionalism of the Paris Fire Brigade dog handlers, and the choice of a cross-over design that made statistical approach possible.

Nevertheless, a field protocol is often submitted to hazards, and a serie of aliquots was destroyed, unabling some of the scheduled analysis, including for example interleukin IL-6, TNF α and plasma free fatty acids that were for us quite important to examine.

The results of the study are very encouraging, as the distribution of the tested nutritional supplement to a group of highly professional trained search and rescue dogs showed positive effects

- on the induced modifications of physiological parameters, especially body temperature, a strong limiting factor of stamina in the working dog (highly sensible to heat-stroke)
- on exercise related oxidative stress, acting for a better prevention of related post stressful exercise clinical consequences

- on the potential appearance of post-exercise acute inflammation.

6. Conclusion

Dietary supplementation improved physiological parameters such as temperature load, respiratory rate peak, in supplemented dogs compared to no supplemented dogs. Plasma cytokines IL 1 B and IL 8, as well as AOPP levels were lower in the supplemented group than in the control group. All together these results show that the test supplement may increase dog's endurance and recovery. This practical approach is of a major importance in search and rescue dogs, usually working by shifts of 20 to 40 minutes, and for which a longer « strait » working period can save human lives. It seems possible to consider that the distribution of short and medium chain triglycerides and selected anti-oxidants, before and during exercise, can be beneficial for the working dog. Further experiments are needed in order to determine more precisely the impact of exercise and related nutrition on potentially induced exercise inflammation.

7. Acknowledgements

Authors thank the dog handlers and the dogs of the Paris Fire Brigade for their active participation, and CassandreBoogaerts, AurélienGrellet, Laure Boutigny and Hélène Bacque for their help.

8. Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest in the present study.

References

1. Abramson J., Vaccarino V. (2002). Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. *Archives of Internal Medicine*, 162, 1286-1292.
2. Adkins T., Kronfeld D. (1982). Diet of racing sled dogs affect erythrocytes depression by stress. *Canadian Veterinary Journal*, 23, 260-263.
3. Andersson J., Jansson J. Hellsten G., Nilsson T., Hallmans G., Boman K. (2010).

- Effects of heavy endurance physical exercise on inflammatory markers in non-athletes. *Atherosclerosis*, 209, 601-605
4. Bach A., Babayan V. (1982). Medium-chain triglycerides : an update. *American Journal of Clinical Nutrition*, 36, 950-962
 5. Baskin C., Hinchcliff K., Di Silvestro R., Reinhard G., Hayek M., Chew B., Burr J., Swenson R. (2000). Effects of dietary antioxidant supplementation on oxidative damage and resistance to oxidative damage during prolonged exercise in sled dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61,886-891.
 6. Brzezinska Z., Kaciuba-Uscilko H., Nazar (1980). Physiological responses to prolonged physical exercise in dogs. *Archives of International Physiology and Biochemistry*, 88, 285-291.
 7. Calabrese C., Meyer S., Munson, Tunet P., Birdsall T. (1999). A cross-over study of the effect of a single oral feeding of medium chain triglycerides oil vs. canola oil on post-ingestion plasma triglycerides levels in healthy men. *Alternative Medicine Review*, 4, 1, 23-28.
 8. Cesari M., Penninx B., Newman A. (2003). Inflammatory markers and onset of cardiovascular events : results from the health abc study. *Circulation*, 108, 2317-2322.
 9. Chan M., Carey A., Watt M., Febbraio M., (2004). Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction : evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *American Journal of Physiology Regulations and Integrated Comparative Physiology*, 287, R322-R327.
 10. Deaton C., Marlin D., (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in equine practice*, 2, 3, 278-291
 11. Dunlap K., Reynolds A., Duffy L. (2006). Total antioxidant power in sled dogs supplemented with blackberries and the comparison of blood parameters associated with exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143, 429-434;
 12. Ford E. (2002). Does exercise reduce inflammation? Physical activity and c-reactive protein among U.S. adults. *Epidemiology*, 13, 561-568.
 13. Gazzola A., Valette J.P., Grandjean D., Wolter R. (1984). Plasma free fatty acids during prolonged endurance exercise in dogs (in french). *Recueil de Medicine Veterinaire*, 160, 69-77.

14. Grandjean D. (1983). High fat nutrition and endurance performance in the dog. (inFrench). PhD thesis, University Paris 6, pp 543.
15. Grandjean D. (1994). Nutrition of racing sled dogs. *Wiener TierarztlicheWochenschrift*, 81. 329-343.
16. Grandjean D. (2001). Oxidative stress in working dogs : consequences and nutritional prevention (in french). *Bulletin de l'AcademieVeterinaire de France*, 154, 49-61
17. Grandjean D., Driss F., Sergheraert R., Valette J.P., Michel A., Luigi R. (1996). Biological consequences of hypoxic stress in working dogs (in french). *Recueil de MedecineVeterinaire*, 172, 11, 601-621
18. Grandjean D., Fuks V. (1977). Physiopathological interests of L.carnitine in the dog (in french). *Recueil de MedecineVeterinaire*, 173, 95-106.
19. Grandjean D., Paragon B.M. (1992). Nutrition of racing and working dogs. I : Energy metabolism of dogs. *Compendium for Continuing Education*, 14, 12, 1608-1615
20. Grandjean D., Paragon B.M. (1993). Nutrition of racing and working dogs. II : Determination of energy requirements and nutritional impact of stress. *Compendium for Continuing Education*, 15, 1, 45-53
21. Grandjean D., Sergheraert R., Valette J.P., Driss F. (1998). Biological and nutritional consequences of work at high altitude in search and rescue dogs : the scientific expedition « Chiens des Cimes-Licancabur 1996”. *Journal of Nutrition*, 128, 12S, 2694-2697.
22. Grandjean D., Valette J.P., Jouglin M., Gabillard C., Bacque H., Bene M., Guillaud P. (1993). Dietary supplementation with L-carnitine, vitamin C and Vitamin B12 in sport dogs ; experimental study with sled dogs (in french). *Recueil de MedecineVeterinaire*, 169, 7, 543-551
23. Groot P., Hulsmann W. (1973). The activation and oxidation of octanoate and palmitate by rat skeletal muscle mitochondria. *Biochemical Biophysical Acta*, 316, 124-135.
24. Guezennec C. (1982). Influence of a diet enriched in polyunsaturated fatty acids on hemorrhagic response to a hypoxic exercise (in french). *Medecine des Armees*. 16, 8, 583-588

25. Halliwell B. (1994). Free radicals and antioxidants : a personal review. *Nutrition Reviews*, 52, 8, 253-265.
26. Hammel E., Kronfeld D. ; Ganjan Y., Dunlap H. (1977). Metabolic responses to exhaustive exercise in racing sled dogs fed diets containing medium low or zero carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*, 30, 409-418.
27. Hinchcliff K., Reinhart G., Di Silvestro R., Reynolds A., Blostein-Fujii A., Swenson R. (2000). Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 512-517
28. Inoue S., Unsinger J., Davis C., Muenzer J., Ferguson T., Chang K., Osborne D., Clark A., Coopersmith C., Mac Dunn J., Hotchkiss R., (2010). IL-15 prevents apoptosis, reverses innate and adaptive immune dysfunction, and improves survival in sepsis. *Journal of Immunology*, 184, 3, 1401-1409.
29. Issekutz B. (1979). Energy mobilization in exercising dogs. *Diabetes*, 28, Suppl. 1, 39-44.
30. Jackson M. (2008). Free radicals generated by contracting muscle : by-products of metabolism or key regulators of muscle function ? *Free radical Biology and Medicine*, 44, 132-141
31. Jeukendrup A., Thielen J., Wagenmakers A., Brouns F., Saris W. (1998). Effect of medium-chain triacylglycerol and carbohydrate ingestion during exercise on substrate utilization and subsequent cycling performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67, 397-404
32. Jurimae J., Hofmann P., Jurimae T., Maetsus J., Purge P., Wonish M. (2006). Plasma adiponectin response to sculling exercise at individual anaerobic threshold in college level rowers. *International Journal of Sport Medicine*, 27, 272-277
33. Jurimae J., Maetsu J., Jurimae T., Mangus B., Von Duvillard S. (2010). Peripheral signals of energy homeostasis as possible markers of training stress in athletes : a review. *Metabolism Clinical and Experimental*,
34. Kasapis C., Thompson P. The effects of physical activity on serum c-reactive protein and inflammatory markers : a systematic review. *Journal of the American College of Cardiology*, 45, 10, 1563-1569.
35. Kronfeld D. (1973). Diet and the performance of racing sled dogs. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 1962, 470-473.

36. Kronfeld D., Downey R. (1981). Nutritional strategies for stamina in dogs and horses. *Proceedings of the Nutrition Society of Australie*, 6, 21-29.
37. Kronfeld D., Ferrante P., Grandjean D. (1994). Optimal nutrition for athletic performance, with emphasis on fat adaptation in dogs and horses. *Journal of Nutrition*, 124, 2745-2753.
38. Kronfeld D., Hammel E., Ramberg C. Dunlap H. (1976). Hemathological and metabolic responses to training in sled dogs fed diets containing medium, low and zero carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*, 30, 419-430
39. Lavau M., Haskim S. (1978). Effects of medium chain triglycerides on lipogenesis and body fat in the rat. *Journal of Nutrition*, 108, 613-620
40. Marshall R., Scott K., Hill R., Lewis D. Sundstrom D., Jones G., Harper J. (2002). Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *Journal of Nutrition*, 132, Suppl2, 1616S-1621S
41. Moldoveanu A., Shephard R., Sheck P. (2000). Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in blood mononuclear cells. *Journal of Applied Physiology*, 89, 1499-1504.
42. Mora S., Cook N., Buring J., Ridker P., Lee I. (2007). Physical activity and reduced risk of cardiovascular events : potential mediating mechanisms. *Circulation*, 116, 2110-2118
43. Mott C., Sarles H., Tiscornia O. (1972). Different actions of short, medium or long chains triglycerides on exocrine pancreatic secretion in human (in french). *BiologieGastroenterologie*, 5, 79-84.
44. Neubauer O., Konig D., Kern N., Nics L., Wagner K. (2008).No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40, 12, 2119-2128
45. Nieman D., Davis J., Henson D., Walberg-Ramkin J., Shute M., Dunke C., Utter A., Vinci D., Carson J., Brown A., Lee W., Mc Anulty S., Mac Anulty L. (2003). Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3 hours run. *Journal of Applied Physiology*, 94, 1917-1925.
46. Nieman D., Konrad M., Henson D., Kennerly K., Shanely R., Wallner-Liebmann S. (2011). Variance in acute inflammatory response to prolonged cycling is linked to exercise intensity. *Journal of Interferon and Cytokines*, 14, 9, 123-131

47. Pasquini A., Luchetti E., Cardini G. (2010). Evaluation of oxidative stress in hunting dogs during exercise. *Research in Veterinary Science*, 89, 120-123
48. Pedersen B., Akerstrom T., Nielsen A., Fischer C. (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *Journal of Applied Physiology*, 103, 1093-1098.
49. Pedersen B., Hoffman-Goetz L. (2000). Exercise and the immune system : regulation, integration and adaptation. *Physiological Review*, 80, 1055-1081.
50. Pedersen B., Steenberg A., Schjerling (2001). Muscle-derived interleukine-6 : possible biological effects. *Journal of Physiology*, 536,329-3337.
51. Piercy R., Hinchliff K., Di Silvestro R., Reinhart G., Baskin C., Hayek M., Burr J., Swenson R. (2000). Effect of dietary supplements containing antioxidants on attenuation of muscle damage on exercising dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61, 1438-1445.
52. Reynolds A., Dunlap K., (2005). Dietary antioxidants and exercise in sled dogs. *Proceedings, Nestle Purina Nutrition Forum*, pp41-44
53. Reynolds A., Fuhrer L., Dunlap H., (1994). Lipid metabolite responses to diet and training in sled dogs. *Journal of Nutrition*, 124, 2754S-2759S
54. Rodahl K. (1964). Plasma free fatty acids in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 19, 489-492.
55. Rovira S., Munoz A., Benito M. (2007). Hematologic and biochemical changes during canine agility competitions. *Veterinary Clinical Pathology*, 36, 30-35.
56. Scheig R. (1968). Hepatic and extrahepatic metabolism of medium chain fatty acids. In : Senior J. (ed.). *Medium chain triglycerides*, University of Pennsylvania Press, Philadelphia, PA, USA, pp39-49
57. Scheig R. (1968). Absorption of dietary fat : use of medium chain triglycerides in malabsorption. *American Journal of Clinical Nutrition*, 21, 4, 300-304
58. Scott K., Hill R., Lewis D., Boning A., Sundstrom D. (2001). Effect of alphatocopheryl acetate supplementation on vitamin E concentrations in Greyhounds before and after a race. *American Journal of Veterinary Research*, 62, 7, 1118-1120
59. Sies H. (1991). *Oxidative stress, oxidants and antioxidants*. Academic Press, San Diego, CA, USA.

60. Tamura Y., Watanabe K., Kantani T., Hayashi J., Ishida N., Kaneki M. (2011). Upregulation of circulating IL-15 by treadmill running in the healthy individuals : is IL-15 an endocrine mediator of the beneficial effects of endurance exercise ? *Endocrine Journal*, 58, 3, 211-215
61. Turnbull A. River C. (1999). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines : actions and mechanisms of action. *Physiological reviews*, 79, 1-71
62. Wakshlag J., Kraus M., Gelzer R., Downey R., Vacchani P. (2010). The influence of high-intensity moderate duration exercise on cardiac tropine I and c-reactive protein in sled dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 1388-1392.
63. Weber J., Brichon G., Zwingelstein G., Mc Clelland G., Saucedo C., Weibel E., Taylor R., (1996). *The Journal of Experimental Biology*, 199, 1667-1674.
64. Witko-Sarrat V., Friedlanger M., Capeillere-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen-Thu A., Zingraff J., Jungers P., Descamps-Latscha B. (1996). Advanced Oxidative Protein Products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, 49, 1304-1313
65. Witko-Sarrat V., Gausson V., Descamps-Latscha B. (2003). Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins ? *Kidney International*, 63, Suppl.84, S11-S14

Annexe 5 : copie du dépôt de brevet déposé suite au développement d'un supplément nutritionnel post-effort en collaboration avec la société Royal-Canin®.



Acknowledgement of receipt

We hereby acknowledge receipt of the following subsequently filed document(s):

Submission number	2722510	
Application number	EP13305838.8	
Date of receipt	23 April 2014	
Receiving Office	European Patent Office, The Hague	
Your reference	P57593EP	
Applicant	All applicants as on file	
Documents submitted	package-data.xml epf1038.pdf (1 p.)	ep-sfd-request.xml F1002-1.pdf\Designation of Inventor form.pdf (1 p.)
Submitted by	CN=Cecilia Ruiz Antoli 21979	
Method of submission	Online	
Date and time receipt generated	23 April 2014, 18:22 (CEST)	
Message Digest	D7:D2:9A:7F:21:77:F6:6B:F9:92:B2:A6:43:98:57:BC:9D:56:B3:E0	

Correction by the EPO of errors in debit instructions filed by eOLF
 Errors in debit instructions filed by eOLF that are caused by the editing of Form 1038E entries or the continued use of outdated software (all forms) may be corrected automatically by the EPO, leaving the payment date unchanged (see decision T 152/82, OJ EPO 1984, 301 and point 6.3 ff ADA, Supplement to OJ EPO 10/2007).

/European Patent Office/



Letter accompanying subsequently filed items

Representative:
Kristina Victoria Joy CORNISH
Kilburn & Strode LLP
20 Red Lion Street
LONDON WC1R 4PJ
United Kingdom

Phone: +44 020 7539 4200
Fax: +44 020 7539 4299
E-mail: docketing@kilburnstrode.com

80298 Munich
Germany
Tel. +49(0)89 2399-0 | Fax -4465

P.O. Box 5818
NL-2280 HV Rijswijk
Netherlands
Tel. +31(0)70 340-2040 | Fax -3016

10958 Berlin
Germany
Tel. +49(0)30 25901-0 | Fax -840

The document(s) listed below is (are) subsequently filed documents pertaining to the following application:

Application number

13305838.8

Applicant's or representative's reference

P57593EP

	Description of document	Original file name	Assigned file name
1	Designation of inventor	Designation of Inventor form.pdf	F1002-1.pdf

Signatures

Place: London, UK
Date: 23 April 2014
Signed by: Cecilia Ruiz Antoll 21979
Capacity: (Representative)

P57593EP



**Erfindernennung
Designation of inventor
Désignation de l'inventeur**

(falls Anmelder nicht oder nicht allein der Erfinder ist) /
(where the applicant is not the inventor or is not the sole inventor) /
(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Zeichen des Anmelders / Applicant's reference /
Référence du demandeur
(max. 15 Positionen / max. 15 spaces / 15 caractères au maximum)

P57593EP/KVC/SCR

Anmeldenummer oder, falls noch nicht bekannt, Bezeichnung der Erfindung: /
Application No. or, if not yet known, title of the invention: /
N° de la demande ou, s'il n'est pas encore connu, titre de l'invention :

EP13305838.8

In Sachen der oben bezeichneten europäischen Patentanmeldung nennt (nennen) der (die) Unterzeichnete(n)¹ / In respect of the above European patent application I (we), the undersigned¹ / En ce qui concerne la demande de brevet européen susmentionnée, le(s) soussigné(s)¹

Mars, Incorporated
6885 Elm Street
Virginia VA 22102
United States of America

als Erfinder²: / do hereby designate as inventor(s)²: / désigne(nt) en tant qu'inventeur(s)²:

FEUGIER Alexandre
CLERO Delphine
GRANDJEAN Dominique

Weitere Erfinder sind auf einem gesonderten Blatt angegeben. / Additional inventors are indicated on a supplementary sheet. /
D'autres inventeurs sont mentionnés sur une feuille supplémentaire.

Der (Die) Anmelder hat (haben) das Recht auf das europäische Patent erlangt³ / The applicant(s) has (have) acquired the right to the European patent³ /
Le(s) demandeur(s) a (ont) acquis le droit au brevet européen³

gemäß Vertrag vom /
by an agreement dated /
en vertu du contrat passé le

17 July 2012

als Arbeitgeber /
as employer(s) /
en qualité d'employeur(s)

durch Erbfolge /
as successor(s) in title /
par succession

Ort / Place / Lieu

London

Datum / Date

23 April 2014

Unterschrift(en) des (der) Anmelder(s) oder Vertreter(s): /
Signature(s) of applicant(s) or representative(s): /
Signature(s) du (des) demandeur(s) ou du (des) mandataire(s) :

CORNISH Kristina Victoria Joy
Authorised Representative
For and on behalf of Kilburn & Strode LLP

Name des (der) Unterzeichneten bitte in Druckschrift wiederholen. Bei juristischen Personen bitte die Stellung des (der) Unterzeichneten innerhalb der Gesellschaft in Druckschrift angeben. / Please print name(s) under signature(s). In the case of legal persons, the position of the signatory within the company should also be printed. / Le ou les noms des signataires doivent être indiqués en caractères d'imprimerie. S'il s'agit d'une personne morale, la position occupée au sein de celle-ci par le ou les signataires doit également être indiquée en caractères d'imprimerie.

EPA/EPO/OEB 1002 12.07

bitte wenden / P.T.O. / T.S.V.P.

Résumé :

La nutrition est un élément clé du maintien de la performance opérationnelle chez le chien de service, lequel fait souvent face à des périodes de travail intense suivies de périodes de récupération de courte durée, l'enchaînement des efforts se répétant fréquemment sur plusieurs jours. Afin d'optimiser la performance, d'éviter l'émergence de pathologies liées à l'effort physique et aux contraintes mentales, et d'améliorer la récupération, l'alimentation est maintenant intégrée de manière prépondérante dans la préparation des athlètes de haut niveau que sont ces chiens. Les objectifs de ce travail furent de : (1) concevoir un supplément nutritionnel de mise/maintien en condition et en étudier les impacts biologiques lorsqu'il est distribué avant et pendant l'effort physique, en s'intéressant plus particulièrement à son adaptation au métabolisme spécifique de l'effort demandé ; (2) concevoir un supplément nutritionnel de récupération et en étudier les impacts biologiques lorsque distribué après l'effort physique en s'axant sur les capacités de récupération à court terme.

Le premier supplément développé dans cette thèse se présente sous forme extrudée spécialement conçu, et contenant des acides gras à chaînes courtes et moyennes, associés à un complexe antioxydant. Distribué une heure avant, et au bout de vingt minutes d'effort dans un protocole de course en continu chez le chien de recherche de personnes, il a généré une amélioration de la réponse de l'organisme à l'exercice via un impact positif sur les paramètres physiologiques cardiovasculaires, l'augmentation des triglycérides circulants en début d'effort, et la moindre expression plasmatique de marqueurs pro-inflammatoires et du stress oxydatif dans le groupe supplémenté. Notre deuxième étude, portant sur une supplémentation post-effort chez le chien militaire, a pour objectif d'observer l'impact d'un mélange de maltodextrines (1,5g/kg de poids corporel) et protéines auparavant sélectionnée (0,3g/kg de poids corporel) distribué immédiatement après effort, durant trois périodes d'exercice intense séparées par une heure de repos au cours d'une même journée. Nos résultats montrent une moindre augmentation plasmatique des marqueurs de l'inflammation et des témoins de lésions musculaires dans le groupe supplémenté.

Des études complémentaires sont indispensables à envisager pour adapter la supplémentation à chaque typologie d'effort (endurance, mixte, résistance), en testant différents apports qualitatifs et quantitatifs. Elles permettront également de préciser les moments optimaux de distribution de celle-ci (prise unique ou fractionnée, délai par rapport à l'effort), et de l'adapter aux conditions environnementales (en particulier les climats chauds, sources de nombreux problèmes chez les chiens de service projetés en opérations extérieures).

Mots clés : [Supplémentation nutritionnelle; chien de service ; acides gras à chaînes courtes et moyennes; acides aminés branchés; inflammation ; stress oxydatif]

[Interest of a dedicated nutritional supplementation in service dog physical performance during work]

Abstract :

Nutrition is a key point in order to maintain performance during operational missions in the service dog, who often faces intense periods of work, followed by short resting periods, with a high number of working periods during several consecutive days. To optimise performance, reduce pathologies related to an intense physical exercise and mental stress and improve recovery, nutrition is now considered as one of the most important point in those elite athletes. This work objective were : (1) to develop a nutritional supplementation to set and maintain physical conditions when distributed before and during physical exercise, focusing our approach on the necessary adaptation to the specific metabolism involved during the exercise ; (2) to develop a nutritional supplementation for the recovery period, distributed just after the exercise and study the consequences of its distribution on biological markers during short term recovery period.

The first supplement develop in this work contain short and medium chains fatty acids associated with an antioxidant complex. Given one hour before the work, and after a twenty minutes run during a continuous running test performed on search and rescue dogs, this supplement shows positive impacts on cardiovascular parameters, an increase of triglycerids at the onset of exercise, a reduction of plasmatic expression of pro-inflammatory and oxidative stress markers in the supplemented group. Our second study focusses on post-exercise nutritional supplementation in the military dog, in order to observe impacts on a mix of maltodextrins (1.5g/kg body weight) and proteins (0.3g/kg body weight) provided just after the exercise, during three periods of intense exercise separated by one hour rest periods during a single day. Our results include a reduction of plasmatic inflammatory markers production and of muscular lesions markers in the supplemented group.

Further studies are required in order to adapt nutritional supplementation to each type of exercise (endurance, mix, resistance), by testing different qualitative and quantitative inputs. They will also permit to precise optimal timing for its distribution (single or fractionned inputs, timing before or after the exercise), and to adapt it to environmental conditions (especially hot climate, that is a cause of numerous problems for service dogs sent to overseas operations).

Keywords : [nutritional supplementation ; service dogs ; short and medium chain fatty acids ; branched chain amino-acids ; inflammation ; oxidative stress]