

## **Inflammation et alimentation : des pistes intéressantes.**

Knapp E., Guyot H.

Département Clinique des Animaux de Production, Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège, Belgique.

### **Résumé**

Les processus inflammatoires sont déclenchés lors d'une agression et font partie intégrante du système immunitaire. La problématique réside lorsque ces processus inflammatoires ne sont plus contrôlés et provoquent plus de lésions que l'agression elle-même. Cette inadéquation des réactions inflammatoires aggrave souvent des pathologies comme les mammites, les métrites ou les pathologies métaboliques. La quantité et la qualité de l'alimentation, ainsi que le statut métabolique sont des points majeurs de régulation du système inflammatoire. En effet, de nombreuses molécules intervenant dans l'inflammation sont des protéines synthétisées par le foie ou sont dérivés des acides gras alimentaires. En début de lactation, la mobilisation graisseuse et les corps cétoniques ont une action directe sur l'activité inflammatoire ce qui explique l'état de stress oxydatif, la chute d'immunité ainsi que l'état pro-inflammatoire des vaches en post-partum. La digestion ruminale et intestinale des hydrates de carbone et des protéines peuvent également provoquer et réguler l'état inflammatoire systémique du ruminant. L'acidose chronique en est un exemple, cependant, l'alcalose et la mal-digestion des fibres peuvent également provoquer de l'inflammation. En pratique, il existe des paramètres qui permettent d'évaluer l'inflammation d'un animal et d'un troupeau. A l'aide d'une prise de sang et de dosage des protéines totales plasmatiques et sériques on pourra facilement et à des coûts limités, mesurer la présence d'inflammation aiguë ou chronique. La présence d'inflammation chronique est un facteur de risque sous-jacent important dans nos troupeaux de vaches laitières puisqu'il concerne environ 25% des troupeaux qui ont présenté des problèmes de défaut d'efficacité alimentaire. Dans les troupeaux avec des signes cliniques de type amaigrissement, sous-production, mal-digestion des fibres et inflammation chronique, l'acidose chronique n'a été diagnostiquée que sur 5% des vaches alors que l'inactivité ruminale a été montrée sur 40% des animaux. Cette inactivité est souvent liée à un déficit en matière organique fermentescible couplée avec un excès de protéines fermentescibles ce qui entraîne des pH élevés et diminue la multiplication de la flore du rumen. L'analyse du jus de rumen, couplée avec celle des protéines totales permet dans la plupart des cas de poser un diagnostic et de discriminer les cas de SARA des cas de mal-digestion et adapter correctement la ration.

**Mots clés** : vaches laitières, inflammation, nutrition, digestion ruminale.

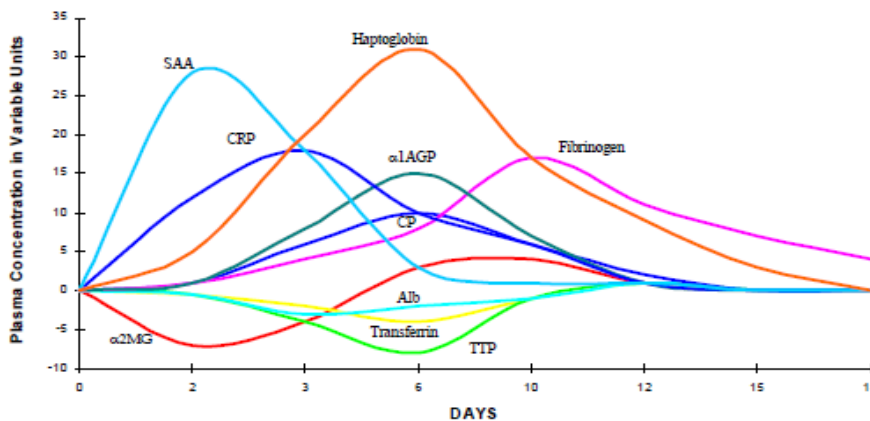
### **Introduction**

L'inflammation est un composant essentiel de l'immunité innée. Via ses médiateurs comme les cytokines et les oxylipides (prostaglandines, leukotriènes, thromboxanes...), elle permet l'amplification des mécanismes de défenses, facilitée par la vasodilatation, la migration des cellules immunitaires et régule l'expression des molécules permettant l'adhésion des neutrophiles. Certains de ses médiateurs ont également comme rôle de résoudre la cascade inflammatoire, à la fin de

l'agression. En fonction du déroulement et de l'amplitude de leur synthèse, ces médiateurs auront donc une action pro ou anti-inflammatoire [31]. L'inflammation a également un rôle dans l'action de l'immunité active puisque les lymphocytes T sont capables de synthétiser des cytokines pour jouer un rôle d'immunomodulateur. Les immunoglobulines (G et M) peuvent également améliorer les capacités de phagocytose des neutrophiles et macrophages [31]. Une réponse inflammatoire adéquate permet donc un système immunitaire fonctionnel. L'agression, qui va déclencher des réactions inflammatoires, peut être endogène ou exogène, liée à un pathogène ou à un autre type d'agression (mécanique ou métabolique). La réaction sera soit aiguë (quelques heures à quelques jours) ou devenir chronique (quelques semaines, mois ou années), dépendant de la résolution de l'inflammation aiguë. La problématique réside lorsque cette inflammation devient incontrôlée et incontrôlable (chocs septiques, allergies, fibroses), chronique (auto-entretien) et provoque des lésions plus importantes que l'agression elle-même [31]. L'inflammation est un facteur majeur et souvent un fil conducteur de nombreuses affections métaboliques et sanitaires, et qui ont une importance économique chez les vaches laitières, comme les mammites, les rétentions placentaires, les métrites ou les déplacements de caillette et les acétonémies ([3]; [31])

## **I. Les marqueurs de l'inflammation en pratique chez les ruminants.**

Il existe de nombreux marqueurs inflammatoires dont la spécificité, la sensibilité et la cinétique diffèrent entre eux et selon les espèces. Seuls les marqueurs intéressants en pratique courante seront abordés. Il existe des marqueurs positifs de l'inflammation (c'est à dire que leur concentration sanguine augmente en cas d'inflammation) comme l'haptoglobine, le fibrinogène, les  $\gamma$ -globulines et des marqueurs négatifs (leur concentration sanguine diminue en cas d'inflammation) comme l'albumine ou la thyroxine (figure 1).



**figure 1 : schéma de la cinétique des marqueurs de l'inflammation chez le bovin.**

### *1.1 Les marqueurs positifs de l'inflammation*

En phase aiguë (quelques jours), les deux principaux marqueurs chez le ruminant sont la SAA (Serum Amyloid A) et l'haptoglobine. Le fibrinogène augmente également en cas d'inflammation aiguë. Par contre, le pic d'augmentation est à 10 jours. L'augmentation de ces marqueurs n'est pas proportionnelle à la gravité de la maladie.

### a. la SAA : serum amyloïd A

C'est le marqueur le plus précoce. C'est une  $\alpha$ -globuline. La SAA diminue assez rapidement et elle est très variable d'un individu à l'autre. En pratique, elle sera donc peu utilisée puisque les valeurs de base de chaque individu sont rarement connues. On retiendra qu'elle augmente physiologiquement autour du part (première semaine *post-partum*) et qu'un animal sain a des valeurs de SAA sous les 8,8 mg/L [16].

### b. L'haptoglobine (Hp)

L'Hp est libérée par le foie lors de dommages des globules rouges afin de protéger les tissus de la toxicité du Fer libre. Elle augmente après 24-48h et peut rester élevée dans le sang jusqu'à 15 jours. C'est une  $\alpha_2$ -globuline. Elle peut augmenter dans le cas d'inflammation de différents organes comme l'utérus, la mamelle, le tractus digestif ou respiratoire et c'est pour cela qu'elle est physiologiquement plus élevée en début de lactation ([12]; figure 2)

Période autour part	Haptoglobine (mg/l)		
	Saines (Hp -)	Inflammation modérée (Hp +)	Forte Inflammation (Hp++)
- 60J à 0J du part	$\leq 30$	30-100	$> 100$
<b>1J à 7J post-partum</b>	<b><math>&lt; 150</math></b>	<b><math>&gt; 150</math></b>	
$> 7$ j post-partum	$\leq 30$	30-100	$> 100$

**figure 2 : valeurs physiologiques de l'haptoglobine chez le bovin (selon [12])**

### c. Le fibrinogène

Le fibrinogène est également un marqueur de l'inflammation aiguë qui augmente après 2 jours de processus inflammatoire quel qu'il soit (trauma, virus, bactérie, chimique). C'est une  $\beta$ -globuline que l'on mesure facilement sur le terrain en mesurant les protéines totales. La différence entre les protéines totales plasmatiques (PTP) et sériques (PTS), mesurées au réfractomètre, permet d'estimer la concentration en fibrinogène (figure 3). Physiologiquement, il se situe entre 3-7g/l. Le fibrinogène augmente également en cas de déshydratation. Afin de mesurer ce biais, on peut réaliser le calcul suivant :  $PTP - \text{fibri}/\text{fibri}$  (figure 3). Les principaux facteurs de diminution du fibrinogène sont l'insuffisance hépatique, un choc ou un trauma grave, l'hémolyse de l'échantillon et la génétique.

### d. les gamma-globulines

Les marqueurs de l'inflammation chronique sont les  $\gamma$ -globulines et leur interprétation sera développée dans le paragraphe suivant sur l'interprétation des protéines totales.

## *1.2 Les marqueurs négatifs de l'inflammation*

### a. l'albumine

L'albumine est le principal marqueur négatif de l'inflammation. Il représente la réserve en acides aminés chez les ruminants. Elle est synthétisée par le foie et est le reflet de deux processus en cas de

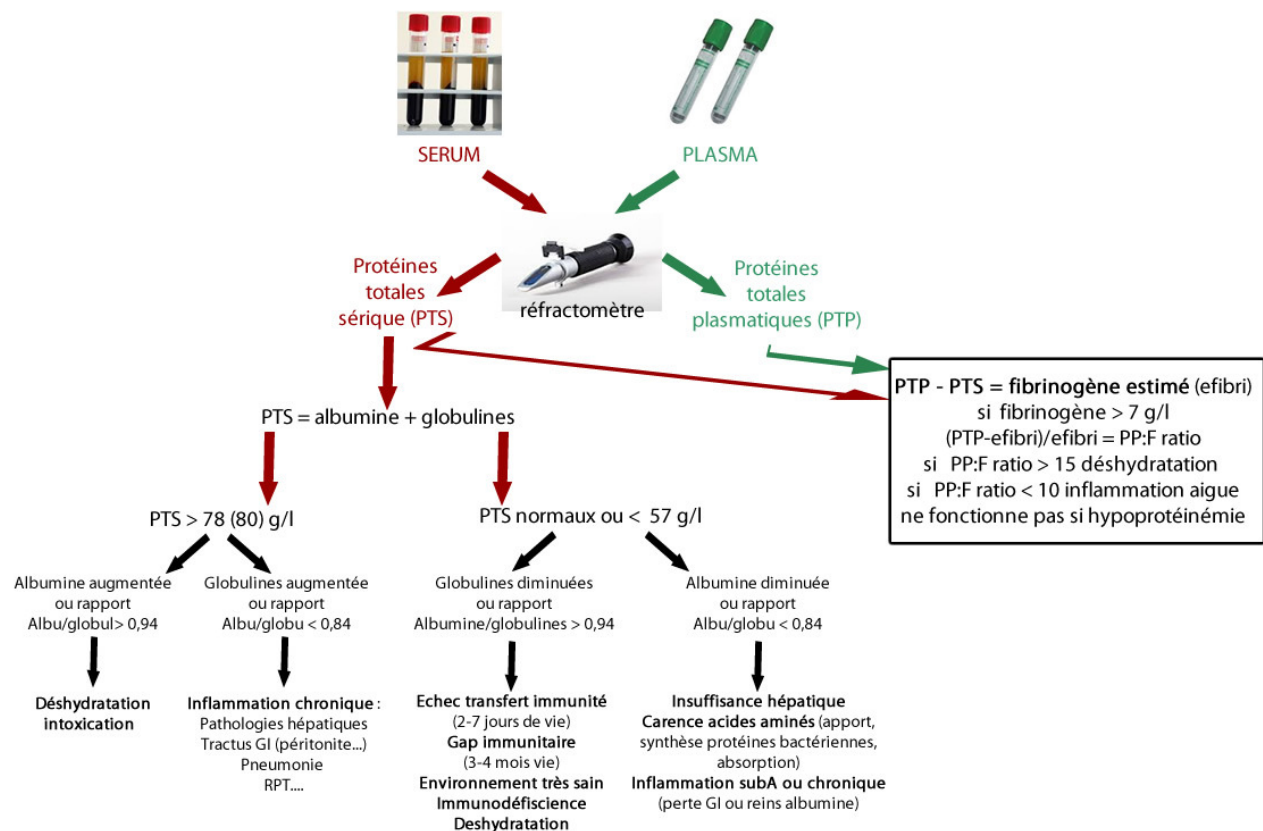
diminution : une inflammation chronique et/ou une hypo-protéinémie (carence, malabsorption ou problème de synthèse). C'est un marqueur négatif de l'inflammation car sa synthèse au niveau du foie est en compétition avec celle des protéines inflammatoires. D'autres protéines comme les enzymes des lipoprotéines (d'où une diminution du transport du cholestérol) ou des protéines de transport (vitamines, oligo-éléments) diminuent également pour cette raison en cas d'inflammation ([29]; [35]).

#### a. la thyroxine

La thyroxine est également un marqueur négatif de l'inflammation car il diminue drastiquement en cas d'inflammation ou d'infection. Il s'agit de l'Euthyroid Sick Syndrome [13].

### *1.3 Intérêt et interprétation des protéines totales sériques (PTS)*

De nombreux marqueurs de l'inflammation (aiguë, chronique, négatifs) sont des protéines (albumine et globuline). La mesure des PTS est donc essentielle pour diagnostiquer et interpréter les phénomènes inflammatoires. Les PT peuvent facilement être déterminées au cabinet par la lecture du sérum et plasma au réfractomètre (optique ou électronique). Les PTS sont normalement comprises entre 57 et 81 g/l ([1]; [26]) (moins de 5% des animaux ont un taux de PT inférieur à 65 g/l et 2,5% ont un taux > 78 g/l) et leur concentration doit être interprétée en fonction du stade physiologique de l'animal (veau nouveau-né, croissance, transition autour du vêlage, lactation). Si les PTS sont supérieures à 78 g/l on suspectera une inflammation. Il conviendra de faire attention au fait que les PT peuvent également augmenter en cas de déshydratation, ictère, hémolyse, hyperglycémie, hyper-urémie ou hypernatrémie. Afin de différencier ces phénomènes d'un processus inflammatoire, on mesurera au minimum l'albumine au laboratoire (1,5 à 5 euros) puisque les PTS sont composées de l'albumine et de globulines. La différence entre les PTS et l'albumine permettra d'estimer les globulines. Les valeurs, ainsi que le rapport albumine/globulines servent à cibler l'origine de la modification (figure 3). Les valeurs absolues varient en fonction des laboratoires et des méthodes de mesures. Cependant, l'albumine devrait être comprise entre 32 et 38 g/l et surtout constituer 41 à 52% des PTS ([26];[1]). Le rapport albumine/globuline devrait être compris entre 0,84 et 0,94.



**Figure 3 : utilisation et interprétation des protéines totales dans le diagnostic de l'inflammation.**

PT : protéines totales; PTS protéines totales sériques et PTP protéines totales plasmatiques. efibri : fibrinogène estimé

Afin d'aller plus loin et de distinguer les globulines, une électrophorèse des PTS peut être réalisée. Elle permet de distinguer l'albumine, les  $\alpha$  et  $\beta$  globulines et les  $\gamma$ -globulines (ou immunoglobulines IgG, IgA, IgM, IgE, IgD). Les causes possibles de leurs modifications sont présentées dans le tableau 1.

**Tableau 1 : causes possibles de modifications de la concentration des globulines dans le sang.**

Globuline	Causes en cas d'augmentation	Causes en cas de diminution
$\alpha_1$	Gestation Inflammation aiguë	Insuffisance hépatique aiguë Malnutrition
$\alpha_2$ (dont l'haptoglobine)	Syndrome néphrotique Inflammation aiguë Hypothyroïdisme	Carence en Cuivre
B (dont le fibrinogène)	Syndrome néphrotique Inflammation aiguë Hypothyroïdisme Parasitisme si seul augmenté	Maladie auto-immune Anémie (carence en fer ou anémie hémolytique)
$\gamma$	Inflammation chronique Pathologies hépatiques Tumeurs	Immunosuppression Physiologique : immunité colostrale (avant prise ou trou immunitaire) ou environnement très sain

## II. Liens entre alimentation et inflammation

### *II.1 Energie et inflammation : les spécificités de la période de transition autour du vêlage.*

L'augmentation des risques d'affections en début de lactation sont liées notamment à une dysfonction du système immunitaire, surtout au niveau des réactions inflammatoires locales et systémiques. On observe à la fois une hypo-réaction du système immunitaire ainsi qu'un problème de balance pro/anti inflammatoire qui provoque de l'inflammation chronique [31]. Les changements hormonaux ainsi que l'augmentation physiologique du cortisol sanguin autour du vêlage altèrent la fonction des neutrophiles [31]. Physiologiquement, et quel que soit la ration, on observe une augmentation de l'haptoglobine et de la SAA (entre -21 et +7 jours en lactation (JEL)), ainsi qu'une diminution de l'albumine et du cholestérol (minimum observé à +7 JEL) et le foie double son activité métabolique. Ces activités augmentent la production de radicaux libres amenant plus d'inflammation et créant chez l'animal un état de stress métabolique [27]. Une autre spécificité de la période de transition autour du part influençant l'état inflammatoire est la balance énergétique négative et la mobilisation graisseuse qui en résulte. En effet, les AGNE (Acides Gras Non Estérifiés dont la présence résulte de la mobilisation graisseuse) sont régulateurs de gènes qui influencent et exacerbent l'action des cytokines [29]. Ils contrôlent également la fluidité membranaire et régulent la synthèse des oxylipides via les médiateurs lipidiques (acide arachidonique). De plus, leur oxydation dans le foie augmente l'état pro-inflammatoire du foie et la présence de radicaux libres. Le niveau énergétique de la ration en tarissement influence la gravité de l'inflammation en *post-partum* ([9]; [35]). En cas de mobilisation excessive en *post-partum*, la vache se retrouve alors dans un cercle vicieux pro-inflammatoire. D'une part, parce que l'activation du système immunitaire et inflammatoire demande de l'énergie (utilisation du glucose, des acides gras) et utilise des protéines, ce qui accentue la balance énergétique négative de l'animal et entraîne encore plus de mobilisation. D'autre part, parce que les réactions inflammatoires produisent eux-mêmes des radicaux libres qui exacerbent la réaction si elle n'est pas régulée. Il faut ajouter que les cytokines sont synthétisées par les graisses. Les vaches grasses au vêlage présentent des risques accrues de résistance à l'insuline et d'hyperglycémie qui sont bien liés chez les humains aux maladies inflammatoires chroniques comme les diabètes et les maladies cardiovasculaires [11]. Ces risques métaboliques sont exacerbés chez les pie-noires Holstein, car le stockage des graisses avec une ration hyper-énergétique en période sèche d'une durée de plus de 6 semaines se réalisera plutôt au niveau viscéral que sous-cutané si bien que la masse de graisse viscérale double par rapport à une ration iso-énergétique ([4]; [14]; [15]). Or, la graisse viscérale et abdominale, par rapport à la graisse sous-cutanée, favorise, chez les humains, les maladies inflammatoires chroniques digestives [2], les maladies métaboliques comme le diabète et les maladies cardiovasculaires. En effet, la graisse abdominale est plus facilement mobilisée et augmente drastiquement les cytokines pro-inflammatoires même chez la vache en *post-partum*, en partie parce qu'elle contient plus de récepteurs à cytokines [4]. La mobilisation de la graisse abdominale va donc augmenter les risques de résistance à l'insuline, de lipidose hépatique et d'état pro-inflammatoire chronique entraînant une exacerbation de la balance énergétique négative et l'augmentation des affections en *post-partum*. En pratique, l'évaluation du risque est complexe en fin de période sèche, puisque le score corporel n'est alors plus corrélé à la masse graisseuse totale ( $R=0,57$ ), qui évalue la graisse sous-cutanée ([4]; [14]; [15]). Heureusement des mécanismes de contrôles existent et l'expression des molécules anti-oxydantes est augmentée autour du part (-7 à

+21 JEL) [7]. Plusieurs études ont porté sur l'utilisation préventive d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pendant la période péri-partale. Les résultats sont relativement controversés : les oxylipides (COX 1 et COX 2) ont en effet un intérêt dans la résolution de l'inflammation ([34]; [22]; [28]). En revanche, leur synthèse (équilibre prostaglandines et thromboxanes) est liée au profil en acides gras des AGNE et le rapport oméga-6/oméga-3 dans l'alimentation peut l'influencer [10]. Certains oxylipides sont issus de la transformation de l'acide arachidonique, qui est un oméga-6, tandis que d'autres proviennent de l'acide éicosapentaénoïque (EPA) qui est un oméga-3. Les oxylipides sont synthétisés en fonction de l'acide d'origine et de la cyclo-oxygénase (COX 1 et COX2). Leur équilibre permet une action soit pro soit anti-inflammatoire. Une étude récente a d'ailleurs montré que la diminution du rapport oméga-6/oméga-3 et donc la supplémentation en oméga-3 de vaches en début de lactation (sans diminution d'ingestion) améliore la néoglucogénèse et diminue la réaction inflammatoire chez des vaches, en post-partum, soumises à des injections intra-mammaires de lipopolysaccharides (LPS) issus de bactéries gram - [10].

Si le niveau énergétique de la ration en période sèche influence le stockage et la mobilisation graisseuse et donc la réaction inflammatoire, il en va de même pour la qualité de la digestion de la ration. En effet, l'incorporation des acides gras dans les adipocytes et l'augmentation de la graisse viscérale sont surtout liées à la disponibilité et l'augmentation du glucose intestinal chez les ruminants [4]. Au même taux de glycémie, une vache qui aura reçue, en période sèche, une ration plus riche en amidon « by-pass » (non fermentescible dans le rumen) et donc plus de glucose intestinal, aura une insulïnémie plus haute et une incorporation exponentielle d'acides gras dans la graisse viscérale en fonction du temps. En revanche, avec une ration fermentescible, et même en excès d'énergie, on observe une augmentation de la masse du rumen et du tube digestif ainsi qu'un dépôt de graisse homogène dans le corps, ce qui permet au score corporel de rester corrélé à la masse graisseuse totale [4]. Les vaches tarées, nourries avec une ration en excès d'énergie à base de maïs avec une proportion d'amidon by-pass importante, auront donc plus de risque de pathologies métaboliques.

Si l'excès d'énergie en période sèche peut créer un état pro-inflammatoire chronique chez les vaches en *post-partum*, il va de soi qu'un déficit énergétique et une hypoglycémie en période sèche sont également dramatiques puisqu'ils augmentent la synthèse de cytokines et de leukocytes avec un système immunitaire est moins efficace. Les lésions des tissus seront plus importantes en cas de d'affections [31].

L'inflammation exacerbée par les périodes de stress métabolique est un facteur majeur de complication des affections en *post-partum* et la santé du foie est extrêmement liée à la participation aux réactions inflammatoires et aux résolutions des pathologies. Une étude a montré l'intérêt des AINS dans le traitement des mammites cliniques pour son impact positif sur la résolution de l'inflammation et pour son amélioration des performances notamment de reproduction [19].

## *II.2 Excès d'énergie et inflammation : cas des génisses en croissance*

L'augmentation de la quantité de graisse et les phénomènes d'oxydation que cela génère, entraînent dans tous les cas une augmentation de la sécrétion et de l'activité des cytokines et provoquent donc un état pro-inflammatoire de l'animal. Les cytokines interfèrent avec la sensibilité à l'insuline dans

tous les tissus et pas seulement en période péri-partale. Ces cytokines interfèrent également avec l'expression de l'hormone de croissance et la réaction des tissus à cette hormone. Il a été démontré qu'une ration qui permet plus de 950 gr de croissance chez les génisses laitières de plus de 300 kg (arrêt de la croissance isométrique de la mamelle) entraîne une diminution du tissu mammaire au profit de la graisse. De nouvelles études montrent que certaines cytokines, présentes en plus grand nombre chez les génisses "grasses", peuvent réduire à elles seules de plus de 50% la prolifération du tissu mammaire et seraient un des facteurs provoquant la diminution du tissu mammaire observée chez ces génisses ([25]; [33]).

### *II.3 Les oligo-éléments et l'inflammation*

Les réactions inflammatoires et les oxydations des acides gras provoquent une augmentation des radicaux libres qui peuvent aggraver les lésions tissulaires et donc exacerber les réactions inflammatoires [31]. De nombreuses études ont montré l'impact des radicaux libres sur l'apparition de cancer, de processus inflammatoires chroniques, de vieillissement des tissus et de maladies cardiovasculaires [36]. L'apport d'antioxydants est donc essentiel lors de maladie et de période de stress oxydatif. La plupart des antioxydants ou des enzymes participant à la régulation des radicaux libres sont des oligo-éléments, des vitamines ou des protéines liées aux oligo-éléments. On peut citer les Vitamines A (sous forme de  $\beta$ -carotène), E, C qui ont des propriétés antioxydantes importantes chez tous les mammifères ([29]; [31]), la glutathion-peroxydase qui comme 25 autres protéines est dépendante du sélénium, ou encore les superoxydes dismutases qui sont dépendantes du Cuivre et du Zinc. La réponse aux thérapies antibiotiques et la durée de traitement lors d'une affection sont donc liées à l'apport en oligo-éléments et vitamines, surtout sur les pathologies autour du part comme les métrites ou les mammites ([18]; [30]). L'apport sanguin en vitamines et en oligo-éléments dépend de la qualité de la ration. Des paramètres comme la qualité des fourrages et l'apport adéquat en énergie et protéines sont essentiels afin d'avoir une ingestion et une absorption correcte des antioxydants.

### *II. 4 Fermentations ruminales et intestinales et inflammation*

De nombreuses études montrent que l'augmentation des fermentations liées à la distribution de concentrés riches en amidon provoque l'augmentation des lipopolysaccharides (LPS) dans le tube digestif, notamment lors d'acidose ruminale chronique (SARA) ([8]; [17]). Les LPS sont des composants de la paroi des bactéries gram négatives et ces petites molécules sont capables de passer dans le sang lorsque la muqueuse est altérée. Elles provoquent alors une forte réaction inflammatoire ([5]; [23]). Afin de provoquer une inflammation chronique, quelques heures ou même quelques jours de ration à risque ne suffisent pas car on observe des adaptations de l'épithélium et il y a une augmentation de la capacité d'élimination des LPS dans le tube digestif. Afin de provoquer une perméabilité aiguë de la barrière, il faut une acidose ruminale avec des pH sous 5,2 [37]. Dans une étude, des veaux ruminants Holstein ont été soumis pendant 21 jours à une ration acidogène modérée (24% amidon). Leur comportement alimentaire a changé durant l'essai et le pH du rumen s'est modifié, ne diminuant que de 0,4 point et restant au-dessus de 6,5 [24]. Beaucoup de recherches, ainsi que les observations de terrain, montrent bien que le pH du rumen seul, n'est pas un bon paramètre pour diagnostiquer des dérives de flore et l'augmentation des risques d'inflammation systémique ([24]; [38]). Lorsqu'on augmente la quantité d'amidon dans la ration, les LPS augmentent de façon linéaire dans le rumen, l'iléum et le caecum puisque ce sont des portions



de l'intestin qui contiennent des bactéries gram négatives. Les essais cliniques montrent que lorsqu'on augmente la quantité d'amidon dans la ration, la proportion d'amidon by-pass (amidon digéré dans l'intestin) augmente significativement, ce qui augmente les fermentations et la concentration en LPS dans le gros intestin ([17]; [24]). Les LPS augmentent dans l'ensemble du tube digestif dès un pH inférieur à 6 et une ration avec un NDF (NDF = cellulose, hémicellulose et lignine (neutral detergent fiber)) inférieur à 39%, ce qui est au-dessus des normes recommandées classiquement pour les risques de SARA (pH 5,5 et NDF inférieur à 35%) [37]. Cependant, le tube digestif a plusieurs mécanismes d'adaptations qui permettent de limiter les translocations de LPS dans le sang. Dans le rumen, c'est la muqueuse qui s'adapte et le ruminant tolère un seuil important de LPS dans le rumen sans qu'il y ait un passage dans le sang (3,9 log 10 EU/ml) et que cela ne déclenche de l'inflammation [37]. Dans le jéjunum, les LPS sont neutralisés par les protéases et les acides biliaires. La capacité d'élimination des LPS par ces molécules est d'ailleurs améliorée lorsque le taux de LPS augmente dans le rumen [24]. Par contre, dans le gros intestin, il y a peu de barrières et le risque de translocation est beaucoup plus grand que dans le rumen ([17];[23]). Une dernière barrière est liée à l'efficacité du foie à éliminer les LPS.

Au niveau de la qualité de la digestion, la quantité et la digestibilité des fibres sont donc des points critiques dans la gestion de l'inflammation du tube digestif. En effet, dans ces dernières études, des paramètres de l'inflammation augmentent sans présence de LPS dans le sang ([17];[23]). La dérive de flore ainsi que la diminution de l'efficacité des fermentations dans le rumen et dans l'intestin diminuent la digestibilité des fibres. Les calculs des besoins des ruminants prennent en compte la digestibilité des fibres car elles modifient les besoins en énergie et surtout en protéines. Par kg de fibres non digérées par jour, les besoins en protéines augmentent de 75 g DVE (Dam Verteerbaar Eiwit = protéines digestibles intestinales) (environ 82g PDI) afin de réparer la muqueuse intestinale, lésée par le passage des fibres [32]. Dans les nouvelles recommandations de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) en matière d'alimentation, ces pertes sont prises en compte et augmentent avec l'ingestion de la vache puisque la digestibilité de la matière organique diminue avec l'augmentation de l'ingestion [6]. Cependant, ces besoins restent théoriques et doivent être mesurés en pratique en réalisant des tamis de bouses et adaptés en fonction. Ainsi, les besoins en protéines peuvent donc être augmentés jusqu'à 40% en cas de présence de plus 50% de fibres non digérées dans les bouses. De plus, il est vraisemblable que ces lésions, qui sont des agressions, peuvent également entraîner des réactions inflammatoires.

## *II. 5 Protéines de la ration et inflammation*

La qualité des protéines de la ration peut également influencer les réactions inflammatoires et surtout la résolution du processus inflammatoire. Les acides aminés essentiels, surtout la méthionine ont un rôle très important. En effet, la méthionine régule l'équilibre entre la synthèse des protéines de l'inflammation, les protéines anti-oxydantes. La glutathion peroxydase, par exemple, qui est la protéine antioxydante la plus importante est dépendante de la présence de cystéine et de méthionine [20]. La méthionine a également un impact sur l'extraction des graisses par le foie par son action sur la synthèse des lipoprotéines contenant les triglycérides. Une supplémentation en méthionine protégée en début de lactation permet l'augmentation des facteurs antioxydants, stimule la néoglucogénèse, la synthèse d'albumine et diminue la lipodose hépatique ([20];[21]). Par contre on notera que la régulation de la synthèse des protéines est également liée à la vitamine B12 qui est synthétisée par le rumen via le Cobalt. En cas de mauvais fonctionnement de la flore

bactérienne du rumen ou de carence en cobalt, la supplémentation de méthionine n'a aucun effet sur la santé du foie ([20];[21]).

### **III. Importance de l'inflammation en pratique**

#### *III. 1 Bilan dans 20 fermes auditées par la Clinique des Ruminants de la Faculté de Médecine Vétérinaire de L'université de Liège en 2014-2015*

L'inflammation aiguë et surtout chronique, par sa compétition avec la synthèse de protéines et l'utilisation de l'énergie, par ses interférences avec le fonctionnement hépatique ainsi que par les lésions tissulaires générées, peut diminuer la production laitière et augmenter les risques de maladies au sein du troupeau. Les réactions sont individuelles mais le diagnostic et la prise en compte de la présence d'inflammation dans les problèmes de troupeau pourraient être relativement utiles. Afin d'évaluer l'importance de l'inflammation dans les troupeaux à problèmes, 7-9 animaux ont été prélevés dans 20 exploitations visitées pour des problèmes de chute d'efficacité alimentaire par la Clinique des Ruminants de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège (2014-2015), soit en tout 131 animaux. Les vaches ont été choisies cliniquement saines, entre 50 et 150 jours en lait afin d'éviter les biais liés au pic de lactation, à la gestation et au début de lactation. Lors de la visite, les scores de santé ont été notés, les jus de rumen prélevés au moyen d'une sonde orale Geishauer "Flora" qui diminue la contamination salivaire, les matières fécales ont été passées au tamis et des prises de sang ont été réalisées. Le scoring des animaux a été réalisé par observation, sur base des critères internationaux connus tels que le score corporel (noté de 1-5), le score de remplissage du rumen (noté de 1-5), le score d'aplombs (noté de 1-3) et le score de jarret (noté de 0-4). Les jus de rumen ont été analysés en ferme en mesurant le pH au moyen d'une sonde à pH (VWR®), les protozoaires ont été observés au microscope (les jus ont été tenu à température de 40-45°C pendant le prélèvement) et le test redox au bleu de méthylène, qui permet d'évaluer l'activité de la flore. Les jus de rumens ont été évalués macroscopiquement pour leur couleur, leur odeur et leur vitesse de sédimentation. Le pH mesuré a été corrigé de -0,35 puisque la partie antérieure du rumen a toujours un pH plus élevé que dans le sac ventral où les normes classiques ont été décrites. Le pH normal d'un jus de rumen prélevé entre 2-5h après la distribution de la ration se situe entre 5,5 et 7. Les protozoaires seront observés au microscope (X 40 et X100) et on évalue la présence de grands, moyens et petits protozoaires ainsi que leur nombre, leur activité et leur coloration (plus noirs ou plus transparents). Le test au bleu de méthylène permet l'interprétation indirect du potentiel d'oxydo-réduction de la flore et donc de son activité. En effet, la flore du rumen est réductrice et le bleu de méthylène est bleu sous sa forme oxydé et incolore sous sa forme réduite. Il suffit donc de chronométrer le temps que prend la flore du rumen à décolorer le bleu de méthylène lorsqu'on les met en contact. Pour cela, 20 ml de jus de rumen est disposé dans un tube à essai dans lequel on ajoute 1 ml de bleu de méthylène dilué à 0,03%, ce qui a pour conséquence d'avoir un jus de rumen bleu. On chronomètre ensuite le temps que le jus de rumen met à reprendre sa couleur d'origine. Si le jus de rumen reprend sa couleur initiale en moins de 1 min 30, la flore est trop rapide, erratique et le rumen est à risque d'acidose chronique sub-clinique (SARA) (trop de concentrés digérés). Entre 1min 30 et 3 min la flore du rumen est rapide, plutôt amylolytique et efficace pour synthétiser des acides gras volatils (AGV) surtout le propionate. C'est ce qu'on attend dans un troupeau de vaches laitières. En 3 et 5 minutes, le rumen est dit "mixte" avec une flore cellulolytique et amylolytique, avec des AGV équilibrés. C'est ce qu'on attend de rumen de vaches en période sèche

ou dans les troupeaux de vaches allaitantes. Entre 5 et 7 minutes, le rumen est lent et la ration très fourragère et permet peu de synthèse d'AGV et surtout plus d'acide acétique (très peu de propionate). Entre 7-10 minutes, la flore du rumen est plutôt inactive et n'est pas efficace pour la synthèse des AGV quels qu'ils soient. On arrête le chronomètre après 10 minutes. Dans ces cas, il y a maldigestion. un mélange de bouse d'au minimum 10 animaux et pesant au minimum 1 kg a été passé au tamis bouse à 2 niveaux (grossiers et fin) (Lesaffre®). La totalité des fibres non digérées ne pourra dépasser les 30% du poids des matières fécales et des études de terrain (non publiées) ont montré une diminution de la production laitière au-dessus de 10% de fibres trouvées dans le premier tamis. Les prises de sang (un tube sec et un tube hépariné) ont été utilisées pour mesurer les protéines totales après la visite au moyen d'un réfractomètre électronique après centrifugation (3500 g pendant 15 min). Un pool des échantillons sanguin a été réalisé et envoyé au laboratoire (Synlab®) afin de doser les oligo-éléments, les vitamines et l'albumine dans le sérum/plasma. Des électrophorèses des protéines (migration sur gel d'agarose au laboratoire) ont été réalisées dans 4 fermes sur 4 animaux ayant des protéines totales sériques augmentées.

La production laitière moyenne des animaux prélevés était de 30,7 kg/j avec un taux de matières grasses (TB) moyen à 36,8 g/l et un taux protéique du lait (TP) moyen à 30,7 g/l ce qui un reflet des problèmes d'efficacité alimentaire rencontrés par ses animaux surtout au niveau énergétique puisque l'urée dans le lait était en moyenne à 242 mg/l. En outre, 28% des animaux présentaient une concentration en protéines totales sériques (PTS) augmentées, 12% avaient un taux sanguin de fibrinogène (estimé au réfractomètre: eFibri) augmenté. Seulement 5% des vaches qui avaient une augmentation de fibrinogène présentaient de la déshydratation (calcul cf figure 3). Cette inflammation n'était ni physiologique, ni liée à la présence de boiterie ou de maladies cliniques puisque toutes les vaches de cette étude étaient cliniquement saines. En mesurant l'albumine et en faisant le rapport albumine/globuline (figure 3), 14 fermes (soit 70%) étaient concernées par des problèmes d'inflammation chronique (albumine/globuline <0,84). Il n'y avait que 5% d'animaux avec des pH ruminiaux < 5,8 donc avec des risques de SARA, par contre 31% présentait des pH ruminiaux >7 donc des risques d'alcalose. Dans 27 % des cas, il manquait la population des grands protozoaires et 57% des vaches présentaient des populations de protozoaires non adéquates, en comptant les jus de rumen dont la population était complète mais peu active ou qui contenait beaucoup de protozoaires morts. Enfin plus de 40% des vaches ont montré des flores peu actives (rédox supérieur à 4 min) et 20% avaient des rumens inactifs (supérieur à 7 min). Seulement 7% des vaches étaient concernées par des flores de rumens "erratique" (redox inférieur à 1'30 min) avec des risques de dérive de flore de type gram négatives potentiellement productrices de LPS. Ensuite, 18 fermes (sur les 20) était concernées par un problème de digestion des fibres avec plus de 30% de fibres non digérées retrouvées dans le tamis, et le souvent plus de 25% dans le tamis du haut (grosses fibres). En termes de qualité de ration, seulement 1% des animaux étaient soumis à une ration qui présentait un défaut de fibrosité (<350 g NDF/kg MS) et la moyenne d'amidon des rations étaient à 15,2% avec 13% des animaux consommaient des rations contenant plus de 20% d'amidon. Les rations belges contiennent souvent du sucre puisqu'elles sont souvent à base d'ensilage d'herbe (préfané ou non). Ainsi, 38% des animaux avaient une ration contenant plus de 6% de sucre et malgré cela, on retrouvait plutôt des défauts de digestion que des excès de fermentescibilité. La seule corrélation significative observée avec l'inflammation et l'alimentation était entre les PTS et le potentiel redox. La corrélation était positive (31%), ce qui signifie que plus la flore du rumen est inactive, plus il y a de risque d'avoir de l'inflammation chronique. Ce risque d'inflammation chronique est multiplié par 3,3 (p <0,05)

lorsque la flore du rumen est lente (redox > 4 minutes). L'inflammation chronique n'est donc pas, dans nos troupeaux, liée à des risques de SARA mais plutôt, au niveau alimentaire à des rumens inactifs. L'inactivité ruminale pourrait être expliquée par l'augmentation du pH du rumen puisque le pH régule l'équilibre entre la flore acétique et propionique et qu'un pH élevé défavorise la multiplication de la flore propionique (amylolytique). La présence d'un pH trop élevé pourrait lui, être expliqué notamment par un défaut de digestibilité des fourrages avec des ruminations excessives. On a en effet, enregistré dans 5 troupeaux avec colliers de rumination (Lely ou Medria), des temps moyen rumination à plus de 520 min (plus de 9h). Le défaut d'énergie fermentescible et donc par conséquent un excès d'azote fermentescible (marqué par une urée élevée dans le lait), augmente encore les risques de pH élevé et d'inactivité de la flore, surtout propionique. Ce défaut d'AGV et cette désynchronisation de l'énergie et de la protéine au niveau ruminal ont pour conséquence une diminution du TB et une diminution de TP. En effet, il y aura moins d'acide acétique utilisable pour la mamelle pour la néosynthèse de matières grasses ainsi que moins d'acides aminés bactériens (flore inactive et déficit d'énergie). Ce déficit en acide aminé aura pour conséquence une synthèse réduite de protéines hépatiques (albumine) qui pourra être aggravée par une compétition avec la synthèse des protéines inflammatoires en cas d'inflammation chronique. Des études ultérieures et l'augmentation de la base de données permettront de préciser ces risques.

### *III. 2 Exemple d'une ferme représentative des observations de troupeau*

Pour illustrer ces propos, voici un exemple concret présentant la même configuration de 7 troupeaux suivis par la Clinique des Ruminants de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège (sur les 20 utilisés dans le paragraphe précédent).

Cette exploitation laitière de 75 vaches en lactation a été référée pour un problème de sous-production et de défaut de taux (chute de TB) durant l'hiver 2015-2016 par rapport à la ration calculée (tableau 2 et 3).

**Tableau 2 : ration hivernale distribuée et ingérée par vache**

Aliments	Quantité frais (kg)	Quantité de MS (kg)
Ensilage de maïs	22	7,5
Ensilage d'herbe préfané	10,5	4,9
Paille de blé	0,9	0,8
Betteraves fourragères	1,2	0,3
Ensilage de pulpes surpressées	8	1,8
Correcteur soja 60%/colza 40%	4,4	3,8
Minéral 5/25/5 (figure 4)	0,2	0,2
Bicarbonate	0,2	0,2
Concentré salle de traite à 21% protéines brute	2,5	2,2
Total	49,9	21,7

## **Semoulette 25/5 + biotine + « methionine de zinc »**

### Mode d'emploi :

Vache laitière : 200 g/j

### Garanties analytiques

Calcium	25%	Magnésium	4%
Phosphore	5%	Sodium	6%

Additifs			
Vitamine A	1000000 UI/kg	Vitamine B12	0,3 mg/kg
Vitamine D3	200000 UI/kg	Vitamine B3 (niacine)	200 mg/kg
Vitamine E	2500 UI/kg	Vitamine B5 (ac. Panthothénique)	80 mg/kg
Vitamine K	7,5 mg/kg	Biotine (Vit. B8)	100 mg/kg
Vitamine B1	50 mg/kg	Vitamine C	1000 mg/kg
Vitamine B2	40 mg/kg	Bétaïnes (choline)	120 mg/kg
Vitamine B6	25 mg/kg		

### Composés oligo-éléments

Iode	500 mg/kg
Cobalt	100 mg/kg
Sélénium (sélénite)	25 mg/kg
Sélénium rumino-protégé (sélénite)	25 mg/kg
Cuivre : sulfate + Chélaté	1980 + 20 mg/kg
Zinc : Sulfate + chélaté	5620 + 1880 mg/kg
Manganèse (sulfate) + chélates	4980 + 40 mg/kg

**Figure 4 :**

**composition du minéral distribué**

**Tableau 3 : qualité nutritionnelle de la ration ingérée. Concentration par kg de matière sèche (MS)**

Cellulose g/kg MS	NDF g/kg MS	ADF g / kgMS	Amidon g/ kgMS	Sucres g/kg MS	DVE g/kg MS	VEM /kg MS	OEB /kg MS	PBT g/kg MS
191,03	396,61	233,56	142,87	48,88	87,35	918,77	14,16	166,09
					≈ 98 g PDI/kg MS	≈0,9 UFL/kg MS	≈ 9 g PDIN- PDIE	

NDF = Neutral Detergent Fiber = cellulose + hémicellulose + lignine = fibres totales (hors pectines)

ADF = Acid Detergent Fiber = cellulose + lignine

DVE = Protéines Digestibles dans l'Intestin (système Hollandais) ≈ PDIE - 0,03\*NDF

VEM = Unité d'Énergie pour les vaches laitières (système hollandais) ≈ UFL

OEB = Bilan Fermentation Ruminales ≈ PDIN-PDIE/0,64

PBT = protéines brutes totales

Cette ration est aux normes pour la fibrosité puisque la cellulose est supérieure à 17%, l'ADF à 21% et les NDF supérieures à 35%. L'amidon est également aux normes avec une concentration inférieure à 20%. En termes d'énergie et de protéines, elle permet 30 L de production et est, théoriquement équilibrée (à 1L près en faveur de la protéine).

Une caractéristique importante est la qualité du maïs. Ce maïs de type "précoce" a été récolté assez mûre puisqu'il est assez sec (34% MS), sa teneur en amidon haute (38,3%), en revanche, sa

fibrosité ainsi que sa Matière Organique Fermentescible (MOF) sont relativement basses. D'ailleurs, la MOF est plus basse que celle de l'herbe (520 gr/kg MS contre 557 g/kg MS) qui n'avait déjà pas une valeur très élevée, puisque les bons ensilages dépassent les 580 g/kg MS de MOF. Le fait que l'ensilage de maïs ait une teneur élevée en amidon associée à une MOF basse montre que l'amidon est lent voir by-pass. L'ensilage d'herbe, par sa MOF relativement basse occasionne également une digestion plutôt lente au niveau du rumen. Les silos sont, par contre, bien conservés (mesures de températures homogènes et inférieures à 20°C et un pH inférieur à 4,5) et leur appétence est correcte (cf valeur d'ingestion).

Malgré cela, depuis 2 mois, l'éleveur ne livre que 25-26L de moyenne pour un troupeau à 182 jours en lait (vêlages réguliers toute l'année). De plus, le TB varie entre 35 et 38 g/l, le TP n'a jamais dépassé les 32g/l alors que le taux d'urée varie fortement entre 250 et 350 mg/dl en fonction des livraisons. Ces valeurs montrent à la fois un excès d'azote soluble par rapport à l'énergie et une grande variabilité de métabolisation de la ration (mélange, ingestion et/ou digestion).

Le scoring de 30% du troupeau a montré des animaux plutôt maigres (28% des animaux sous les 2,5/5), des remplissages du rumen dans les normes (3-4/5) ainsi que peu de lésions de jarrets (moyenne à 1/4). 15% des vaches sont atteintes de boiteries (score locomotion  $\geq 2$ ) qui sont dues principalement à des lésions de dermatite digitée (pour 80%) et de fourchet pour les autres.

Comme décrit dans le paragraphe III.1, 1,5 kg de matières fécales, issues de 15 vaches du troupeau ont été passés au tamis double. La proportion de fibres trouvées dans le premier tamis est de 38% et de 9% dans le deuxième, ce qui est largement au-dessus des normes recommandées de respectivement 10% et 20% dans le 1er et 2ème tamis. Cette maldigestion des fibres, à elle seule, peut expliquer une partie de la chute de production par rapport aux calculs et demande une augmentation des apports réels en protéine intestinaux d'environ 30% (cf paragraphe III.1).

Afin d'expliquer au mieux ce problème d'efficacité alimentaire, 7 vaches sont prélevées comme décrit précédemment afin de mesurer les scores de santé, la qualité de la digestion ruminale, ainsi que la présence d'un processus inflammatoire (Tableau 4). Les prélèvements ont été réalisés 5h après la distribution de la ration.

**Tableau 4 : résultats des prélèvements de jus de rumen ainsi que la présence d'inflammation (prise de sang sur tube sec et sur tube hépariné) sur 7 vaches entre 50-150 JEL**

numéro	pH rumen	proto	Pot. redox (min)	score corporel	PTS (g/l)	PTP (g/l)	efibri
8679	7	GMP+	3,5	2,5	78	80	2
8639	6,98	MP+	10	2	91	97	6
8624	6,98	MP+	5	2,5	87	88	1
8613	7,1	GMP +/-	10	2,25	77	82	5
3906	7,3	GMP++	3,5	3	91	93	2
8635	7,35	GMP +/-	8	2,75	90	92	2
4291	6,95	GMP++	10	3	78	81	3

pH rumen = pH mesuré à la sonde corrigé d'un facteur -0,35

proto = protozoaires = G présence de grands, M moyens et P petits protozoaires. Le + estime la quantité ainsi que la mobilité de la population.

Pot. redox = mesure de l'activité de la flore ruminale par le test du bleu de méthylène. Plus le test est rapide, plus la flore est active (cf paragraphe III.1). Le chronomètre est arrêté à 10 min.

PTS = Protéines Totales Sériques et PTP = Protéines Totales Plasmatiques toutes mesurées par un réfractomètre électronique

efibri = fibrinogène estimé par la différence entre les PTP et les PTS

Les vaches ont des pH ruminaux relativement élevés avec 3 vaches en alcalose (pH > 7). La population de protozoaires observée était très hétérogène, avec seulement 2 vaches qui présentent une faune adéquate en termes de quantité et mouvements. Les grands protozoaires ont disparus sur 2 vaches et sur les autres, beaucoup de protozoaires morts ont été observés. Sur les 7 vaches, 5 vaches avaient des flores relativement lentes (> 5 min) voire inactives ( $\geq 7$  min). Les rumens subissent donc des changements brusques et importants (faune et flore hétérogènes), ont des pH proches de l'alcalose et la flore est plutôt inactive. Compte tenu des jours en lait des animaux, ils sont relativement maigres.

Sur les 7 vaches, 4 vaches présentent des PTS augmentées (> 78 g/l) mais aucune ne présente de l'inflammation aiguë (efibri < 7g/l). L'augmentation des PTS peut être expliquée par la présence d'inflammation chronique et/ou de déshydratation (figure 3). Afin de discriminer ces deux causes possibles, des électrophorèses ont été réalisées sur 3 vaches (figure 5,6 et 7) et montrent le même profil des protéines totales. Ces 3 vaches sont en processus inflammatoire puisque la proportion d'albumine est diminuée au profit des globulines et que leur rapport albumine/globuline est largement en-dessous de 0,85 (tableau 5). Au niveau du profil des globulines, on observe également le même profil pour les 3 vaches, à savoir une fusion Beta-gamma globulines d'où une diminution observée des  $\beta$ -globulines et une augmentation des  $\gamma$ -globulines. Ces profils marquent donc une inflammation chronique. Ces profils, lorsqu'ils sont observés sur plusieurs animaux d'un même troupeau, ont été décrits principalement en cas de maladies des muqueuses (BVD), de paratuberculose ou de parasitisme très intense sans immunité et reflètent l'inflammation des muqueuses intestinales. Si ici le BVD et la paratuberculose est à exclure (indemne), l'inflammation du gros intestin liée à la maldigestion des fibres et la quantité d'amidon by-pass est probable. La présence de parasites intestinaux chez les adultes de cette exploitation est sans doute limitée puisque le test Elisa (recherche anti-corps) réalisé annuellement sur le lait de tank pour la douve et *Ostertagia* montre une faible contamination. Le calcul de la concentration en albumine sanguin (tableau 5), montre la carence en acides aminés hépatique qui pourrait dans notre cas être, lié à la fois à la carence en énergie fermentescible et le défaut d'activité (et donc multiplication) de la flore ruminale (80% de la source en acides aminés intestinaux) ainsi qu'à la compétition hépatique avec la synthèse des protéines inflammatoires. Ce déficit en albumine pourrait expliquer en partie la diminution de production ainsi que (et surtout) le manque de TP dans le lait.

Référence externe				
,Vache laitière en production				
BIOCHIMIE				
Bilan protéique				
Protéines totales	91		56 - 78	g/L
	Valeurs de référence dépendent de l'âge: <56g/l pathologique chez les jeunes veaux (échec transfert colostral) et chez les adultes >78g/l pathologique chez les adultes, augmentation en réponse à un état inflammatoire (maladie chronique: pneumonie? mammite? abcès hépatique? Réticulo péritonite traumatique? maladie hépatique? autre?) et en cas de déshydratation chronique.			
Albumine	28.0		30.5 _ 44.1	%
Alpha-1	5.2		Non définie	%
Alpha-2	13.1		Non définie	%
Bêta	5.3		9 - 15	%
Gamma	48.4		19 - 35	%
Rapport alb./glob.	0.39		Non définie	

**Figure 5** : électrophorèse des protéines totales sériques de la vache numéro 8639

Référence externe				
,Vache laitière en production				
BIOCHIMIE				
Bilan protéique				
Protéines totales	91		56 - 78	g/L
	Valeurs de référence dépendent de l'âge: <56g/l pathologique chez les jeunes veaux (échec transfert colostral) et chez les adultes >78g/l pathologique chez les adultes, augmentation en réponse à un état inflammatoire (maladie chronique: pneumonie? mammite? abcès hépatique? Réticulo péritonite traumatique? maladie hépatique? autre?) et en cas de déshydratation chronique.			
Albumine	27.2		30.5 _ 44.1	%
Alpha-1	6.5		Non définie	%
Alpha-2	19.3		Non définie	%
Bêta	5.8		9 - 15	%
Gamma	41.2		19 - 35	%
Rapport alb./glob.	0.37		Non définie	

**Figure 6** : électrophorèse des protéines totales sériques de la vache numéro 3906



Référence externe				
,Vache laitière en production				
<b>BIOCHIMIE</b>				
<b>Bilan protéique</b>				
Protéines totales	90		56 - 78	g/L
Valeurs de référence dépendent de l'âge: <56g/l pathologique chez les jeunes veaux (échec transfert colostral) et chez les adultes >78g/l pathologique chez les adultes, augmentation en réponse à un état inflammatoire (maladie chronique: pneumonie? mammite? abcès hépatique? Réticulo péritonite traumatique? maladie hépatique? autre?) et en cas de déshydratation chronique.				
Albumine	34.0		30.5 _ 44.1	%
Alpha-1	4.7		Non définie	%
Alpha-2	12.6		Non définie	%
Bêta	7.3		9 - 15	%
Gamma	41.4		19 - 35	%
Rapport alb./glob.	0.52		Non définie	

**Figure 7 : électrophorèse des protéines totales sériques de la vache numéro 8635**

**Tableau 5 : calcul de la concentration en albumine et globuline absolues en utilisant les électrophorèses (figures 4,5 et 6)( proportions de chaque protéines)**

numéro	Albumine absolue	Globuline absolue	Rapport albumine/globuline
8639	= 28% * 91 = 25,5 g/l	= 72% * 91 = 65,5 g/l	0,39
3906	= 27,2% * 91 = 24,8 g/l	= 72,8% * 91 = 66,2 g/l	0,37
8635	= 34% * 90 = 30,6 g/l	= 66% * 90 = 59,4 g/l	0,52

Comme décrit dans le paragraphe III.1, un pool sanguin (mélange des 7 vaches) a été réalisé afin de mesurer différents paramètres métaboliques liés à l'inflammation, la digestion et la santé du foie. L'albumine du pool est basse à 30 g/l pour des PTS à 85 g/L soit un rapport de 0,35, indiquant très probablement de l'inflammation chronique et confirmant l'hypoalbuminémie sur le troupeau. La concentration en cholestérol est très augmentée, à 243 mmol/dl (norme 100-180), ce qui indique une quantité de lipoprotéines importante extraites du foie sans mobilisation graisseuse puisque les AGNE sont relativement bas (figure 8). Ce taux de cholestérol pourrait donc être associé à un apport important de glucose intestinal (amidon by-pass). Les enzymes hépatiques (AST, GLDH et GGT) sont dans les normes (figure 8). La mesure du  $\beta$ -hydroxybutyrate a été demandé afin de vérifier l'acétonémie alimentaire qui aurait pu également expliquer les signes cliniques observés, cependant, il est dans les normes (figure 8).

<b>Enzymes</b>		
TGO (AST)	82	0 - 125 UI/l (boeuf)
GLDH	30.0	< 30 UI/l (bovin) La GLDH augmente de façon spécifique lors d'hépatopathie aigüe. Elle redevient cependant normale lors des hépatopathies chroniques.
<b>Cholestase</b>		
Gamma GT	23	0 - 35 UI/l (boeuf)
Hydroxybutyrate sérum	542	umol/L Vache tarie < 2sem prépartum: <800 micromol/L Vache laitière < 7j postpartum: > 1100 micromol/L Vache laitière < 45j postpartum: 1200 - 1400 micromol/L
<b>Lipides - Risque C.V.</b>		
Cholestérol total	243	mg/dL Début tarissement: >80 mg/dL Transition:> 75mg/dL Début lactation> 100 mg/dL
Acides Gras Non Estérifiés (AGNE)	0.17	0-0.45 mmol/L(bovin)

**Figure 8 : paramètres métaboliques mesurés sur le pool sanguin des 7 vaches prélevées pour le jus de rumen.**

La mesure des oligo-éléments et vitamines a également été réalisé sur le pool sanguin et a montré une carence en vitamine B12, sans doute lié au mauvais fonctionnement de la flore ruminale (figure 9). Une carence en oligo-éléments (sélénium, cuivre, Zinc) est également observée malgré un apport important de minéraux. Cet apport important est illustré par un taux élevé d'iode inorganique qui est directement lié à la quantité de minéral ingéré. L'ingestion calculée en sélénium était de 0,4 ppm soit au-dessus des normes recommandées par l'INRA (0,15-0,3 ppm). La carence observée pourrait être associée à la fois l'inflammation et la consommation excessive d'oligo-éléments. Cette carence pourrait également être liée à un problème d'absorption, surtout pour le sélénium qui s'absorbe en partie au niveau ruminal et qui dépend de son pH. L'inflammation pourrait également permettre un biais d'analyse et sous-estimer la concentration en zinc. Les vitamines A et E sont dans les normes. Ceci peut être expliqué par une bonne absorption de ces vitamines au niveau intestinale avec l'augmentation du glucose et des chylomicrons dans notre cas et d'un apport important via les aliments et les minéraux. Ces déficits en oligo-éléments et vitamine B12 devront être pris en compte dans le traitement de l'ensemble du troupeau.

Référence SYNLAB vété.	2485001 64500			
<b>HEMATOLOGIE</b>				
<b>Fer et vitamines</b>				
Vitamine B12 (cobalamine)	159		187 - 883	ng/L
<b>BIOCHIMIE</b>				
<b>Vitamines</b>				
Vitamine A	216		128 - 380	ug/l
Vitamine E	5.78		0.7-6.3 (bovin)	mg/l
<b>Oligoéléments</b>				
Sélénium	40		70 - 110 ug/l (bovin < 50 insuffisant 50 - 70 taux marginal)	ug/L
Cuivre (tube spécial)	86		90 - 114 ug/dl (bovin)	ug/dLL
Zinc	79		90 - 120 ug/dl(bovin)	ug/dL
<b>HORMONOLOGIE</b>				
<b>Bilan thyroïdien</b>				
T4 totale	55.0		46-70 ug/l (bovin)	microg/l
Iode inorganique	201		50 - 112	ug/L

## **Figure 9 : analyse des oligo-éléments et des vitamines sur le pool sanguin (sec et hépariné)**

Au vu de ces observations, les changements de ration proposés et appliqués ont été :

- la diminution la part d'ensilage de maïs afin de diminuer l'apport d'amidon by-pass
- l'augmentation de l'ensilage d'herbe afin de remplacer le maïs et d'apporter de l'énergie sous forme de cellulose et hémi-cellulose digestible puisque les matières organiques fermentescibles de l'herbe étaient plus hautes que dans le maïs
- le remplacement d'une partie du correcteur protéique (urée entre 250 et 300 mg/dl) par du blé afin de diminuer l'azote soluble et augmenter l'énergie fermentescible et compenser la perte d'amidon avec la diminution du maïs.
- l'arrêt du bicarbonate inutile ici
- un changement du minéral. Dans ce nouveau minéral, une partie du sélénium (20 ppm sur les 50 ppm totaux) se trouve sous forme de sélénium organique (levures vivantes). Les intérêts principaux d'ajouter du sélénium organique sont, de diversifier les sources de sélénium, d'apporter des levures en soutien à la fonction du rumen et de permettre une synthèse plus facile de glutathion peroxydase.
- La sortie en pâture a également permis d'améliorer l'ensemble de la situation.

La plupart des troupeaux ayant des problèmes d'inflammations chroniques et de chute de production ont montré ce profil, à savoir, des animaux relativement hauts producteurs (ration pour 30 L), une grande partie voire la totalité de l'amidon apporté sous forme d'amidon de maïs (donc lent et by-pass), une diminution de l'activité du rumen avec des pH élevés et une digestion des fibres fortement diminuée. La diminution de l'activité ruminale est liée au déficit en MOF et à l'excès en protéine fermentescible qui en découle. Les signes cliniques (chute : TB, TP, production, digestion des fibres) ressemblent fortement à ce qu'on observe dans les cas de SARA et seuls les prélèvements de jus de rumen et de sang peuvent les discriminer. L'apport, dans ces cas et en cas de mauvais diagnostic, de bicarbonate ou d'amidon moins fermentescible, aggrave les symptômes.

## **Conclusion**

Une réaction inflammatoire adéquate est essentielle pour un bon fonctionnement du système immunitaire mais il arrive, dans certains cas, que la réaction soit incontrôlable et provoque plus de dégât que l'agression elle-même. Ces réactions "erratiques" sont incriminées dans de nombreuses et importantes maladies comme les métrites, mammites ou les maladies métaboliques. De nombreux facteurs alimentaires influencent les réactions inflammatoires ainsi que leur résolution. A l'instar des humains, la quantité, la qualité de la graisse chez les vaches laitières, peut augmenter les risques de maladies métaboliques et d'inflammation chronique (diabète, maladies cardiovasculaires, maladies inflammatoires du système digestif chez l'humain). L'apport et la qualité des protéines, des hydrates de carbone ainsi que les antioxydants (vitamines et oligo-éléments) peuvent également influencer les phénomènes inflammatoires.

Par leur compétition avec la synthèse des protéines et leur besoin en énergie, les réactions inflammatoires ont un impact important sur l'efficacité alimentaire d'une ration. En pratique, la présence d'inflammation chronique concerne 70% dans des troupeaux de pie-noires holstein audités par la clinique des animaux de production de la faculté de médecine vétérinaire de Liège (sur 20 troupeaux) dans des cas de sous-production et défaut de taux. Par contre, dans nos troupeaux Belges, seulement 5% des vaches présentent un risque de SARA tandis que 40% des animaux ont des rumens inactifs.

Dans l'exemple présenté et représentatif des troupeaux à problème, une inflammation chronique ( $\gamma$ -globulines augmentées) a été diagnostiquée. Cette inflammation pourrait être liée à un excès d'amidon by-pass marqué par le taux élevé de cholestérol (inflammation gros intestin) ainsi qu'à un défaut de digestion des fibres diagnostiqué par une quantité de fibres non digérée dans les matières fécales à plus 40% (inflammation de la muqueuse intestinale). Un défaut d'amidon fermentescible, couplé à un excès d'azote fermentescible, provoque une alcalose (pH élevé) et une inactivité de la flore du rumen (test au bleu de méthylène). Ceci serait une cause possible des problèmes observés. Il a été montré que lorsque le rumen est inactif ou que l'on augmente le taux d'amidon dans la ration, le taux d'amidon digéré dans l'intestin augmente [24]. Cette inflammation, ainsi que la diminution de l'activité de la flore ruminale entraînent un déficit en acides aminés et une diminution de l'albumine. Cette diminution a pour conséquence une diminution des taux dans le lait ainsi qu'une diminution de la production laitière et au final, un amaigrissement des animaux.

La présence d'inflammation chronique au niveau du troupeau est donc à prendre en considération dans le diagnostic différentiel des mauvaises efficacités alimentaires ou des défauts de taux. Ce diagnostic est d'autant plus important dans le contexte économique actuel où l'efficacité alimentaire a un impact important sur la rentabilité de l'exploitation laitière. Le diagnostic, en pratique, se fait au moyen de prélèvements de jus de rumen et la mesure des protéines totales pour un coût allant de 300 euros à 500 euros par troupeau en fonction des paramètres mesurés (visite et prélèvements compris).

#### **Bibliographie :**

1. Alberghina D, Giannetto CI, Vazzana I, Ferrantelli V, Piccione. Reference Intervals for Total Protein Concentration, Serum Protein Fractions, and Albumin/Globulin Ratios in Clinically Healthy Dairy Cows. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2011; 23: 111-114
2. Batra, A., Siegmund B.. The role of visceral fat. *Dig. Dis*, 2012, 30, 70–74
3. Burvenich C, Bannerman D.D, Lippolis J.D, Peelman L, Nonnecke B.J, Kehrl Jr M.E, Paape MJ,. Cumulative physiological events influence the inflammatory response of the bovine udder to *Escherichia coli* infections during the transition period. *J. Dairy Sci.*, 2007; 90 (suppl. 1): E39–E54
4. Drackley J.K., Wallace R.L., Graugnard D., Vasquez J., Richards B.F., Looor J. Visceral adipose tissue mass in nonlactating dairy cows fed diets differing in energy density. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 3420–3430.
5. Emmanuel D.G, Dunn S.M., Ametaj B.N. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2008; 91: 606–614
6. Engalbert F, Alves de oliveira L,. Un point sur l'évolution des recommandations en alimentation des ruminants. Journées nationales des GTV, Nantes, 2015 : 403-406

7. Gessner D.K, Schlegel G, Keller J, Schwarz F.J, Ringseis R., Eder K. Expression of target genes of nuclear factor E2-related factor 2 in the liver of dairy cows in the transition period and at different stages of lactation. *J. Dairy Sci.*, 2013 ; 96: 1038–1043
8. Gozho, G.N, Krause D.O, Plaizier J.C. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; 90: 856–866
9. Graugnard D.E, Moyes K.M, Trevisi E, Khan M.J, Keisler D, Drackley J.K, Bertoni G, Looor J.J., Liver lipid content and inflammometabolic indices in periparturient dairy cows are altered in response to preparturient energy intake and postparturient intramammary inflammatory challenge. *J. Dairy Sci.*, 2013; 96: 918–935
10. Greco L.F, Neves Neto J.T, Pedrico A, Ferrazza R.A, Lima F.S, Bisinotto R.S, Martinez N, Garcia M, Ribeiro E.S, Gomes G.C, Shin J.H, Ballou M.A, Thatcher W.W., Staples C. R. Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on performance and inflammatory responses to a lipopolysaccharide challenge in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 2015; 98: 602–617
11. Hotamisligil G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 2006; 444: 860-867
12. Humblet M.F, Guyot H, Boudry B, Mbayahi F, Hanzen C, Rollin F, Godeau J.M. Relationship between haptoglobin, serum amyloid A, and clinical status in a survey of dairy herds during a 6-month period. *Vet. Clin. Path.*, 2006; 35: 188-193.
13. Janosi S., Huszenicza G., Kulcsar M., Korodi P. Endocrine and reproductive consequences of certain endotoxin-mediated diseases in farm mammals: a review. *Acta vet. Hung.*, 1998; 46: 71-84.
14. Ji P., Drackley J.K., Khan M.J, Looor J. Overfeeding energy upregulates peroxisome proliferator-activated receptor (*PPAR*)  $\gamma$ -controlled adipogenic and lipolytic gene networks but does not affect proinflammatory markers in visceral and subcutaneous adipose depots of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 3431–3440
15. Ji P., Drackley J.K., Khan M.J, Looor J. Inflammation- and lipid metabolism-related gene network expression in visceral and subcutaneous adipose depots of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 3441–3448
16. Jones M.L, Allison R.W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet. Clinic North Am. Food An. Prac.*, 2007; 23: 77-402.
17. Li S, Khafipour E, Krause D.O, Kroeker A., RodriguezLecompte J.C, Gozho G.N., Plaizier J.C. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2012; 95: 294–303
18. Machado V.S, Bicalho M.L.S, Pereira R.V, Caixeta L.S, Knauer W.A, Oikonomou G, Gilbert R.O, Bicalho R.C. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Vet. J.*, 2013; 197: 451-456
19. McDougall S, Abbeloos E, Piepers S, Rao A.S, Astiz S, Van Werven T, Statham J, Pérez-Villalobos N. Addition of meloxicam to the treatment of clinical mastitis improves subsequent reproductive performance. *J Dairy Sci.*, 2016; 99: 2026-42
20. Osorio J.S, Trevisi E, Ji P ,P.Ji, Drackley J. K, Luchini D, Bertoni G.,, Looor J.J. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better immunometabolic status in periparturient cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 7437–7450

21. Osorio J.S, Ji P, Drackley J. K, Luchini D, Loor J.J. Smartamine M and MetaSmart supplementation during the periparturient period alter hepatic expression of gene networks in 1-carbon metabolism, inflammation, oxidative stress, and the growth hormone–insulin-like growth factor 1 axis pathways. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 7451–7464
22. Oviedo-Boyso J, Valdez-Alarcon J.J, Cajero-Juarez M, OchoaZarzosa A, Lopez-Meza JE, Bravo-Patino A, BaizabalAguirre VM. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infec.*, 2007; 54: 399–409.
23. Plaizier J.C, Krause D.O, Gozho G.N, McBride B.W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.*, 2008; 176: 21–31
24. Plaizier J.C., Li S., Scieallour M.L, Schurmann B.L, Górká P., Penner G.B. Effects of duration of moderate increases in grain feeding on endotoxins in the digestive tract and acute phase proteins in peripheral blood of yearling calves. *J. Dairy Sci.*, 2014; 97: 7076–7084
25. Purup S, Vestergaard M, Sejrsen K. Involvement of growth factors in the regulation of pubertal mammary growth in cattle. *Ad. Exp. Med Bio.*, 2000; 480: 27-43.
26. Russel K.E, Roussel A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet. Clinic North Am. : Food Animal Practice*, 2007; 23: 403-426.
27. Seo J, Osorio J. S, Schmitt E, Corrêa M.N, Bertoni G., Trevisi E., Loor J.J. Hepatic purinergic signaling gene network expression and its relationship with inflammation and oxidative stress biomarkers in blood from periparturient dairy cattle. *J. Dairy. Sci.*, 2014; 97: 861-873
28. Serhan C.N, Chiang N, Van Dyke T.E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Rev. Immuno.*, 2008; 8: 349–361
29. Sordillo L.M, Contreras G.A, Aitken S.L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *An. Health Res.*, 2009; 10(1): 53–63
30. Sordillo L.M. Selenium-Dependent Regulation of Oxidative Stress and Immunity in Periparturient Dairy Cattle. *Vet. Med. Inter.*, 2013; 2013: 154045.
31. Sordillo L.M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *J. Dairy. Sci.*, 2016; 99: 1-16
32. Taminga S., Brandsma G.G, Dijkstra J., Van Duinkerken G, Van Vuuren A.M, Blok M.C.. Protein evaluation for ruminants: the DVE/OEB 2007 system; CVB documentation report 2007; n°53, 57pp
33. Thorn S.R., Purup S., Vestergaard M., Meyer M.J., Van Amburgh M.E., Boisclair Y.R. Regulation of mammary parenchymal growth by the fat pad in prepubertal dairy heifers : role of inflammation-related proteins. *J. Endocrinology*, 2008; 196: 539-546.
34. Trevisi, E., Bertoni G. Attenuation with acetylsalicylate treatments of inflammatory conditions in periparturient dairy cows. 2008; Pages 22–37 in Aspirin and Health Research Progress. P. I.Quinn, ed. Nova Science Publishers, New York
35. Trevisi E, Zecconi A, Bertoni G, Piccinini R. Blood and milk immune and inflammatory profiles in periparturient dairy cows showing a different liver activity index. *J. Dairy Res.*, 2009; 77: 310-317
36. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M.T, Mazur M , Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International J. Biochem. Cell Bio.*, 2007; 39: 44–84.
37. Zebeli Q, Dijkstra J, Tafaj M, Steingass H, Ametaj B.N, Drochner W. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *J. Dairy Sci.* 2008; 91: 2046–2066

38. Zebeli Q, Metzler-Zebeli B.U, Ametaj B.N. Meta-analysis reveals threshold level of rapidly fermentable dietary concentrate that triggers systemic inflammation in cattle. *J. Dairy Sci.*, 2012; 95: 2662–2672.