



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 12293

To cite this version :

Ribeiro, Claudia. *Évaluation expérimentale des conséquences d'une restriction énergétique en début de lactation sur la réponse inflammatoire mammaire chez la brebis laitière*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 102 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

EVALUATION EXPÉRIMENTALE DES CONSÉQUENCES D'UNE RESTRICTION ENERGÉTIQUE EN DÉBUT DE LACTATION SUR LA RÉPONSE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE CHEZ LA BREBIS LAITIÈRE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

RIBEIRO Claudia

Née le 19 Août 1988 à Brive la Gaillarde (19)

Directeur de thèse : M. Gilles FOUCRAS

JURY

PRESIDENT :

M. Antoine BLANCHER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Gilles FOUCRAS

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

M. Sylvie CHASTANT-MAILLARD

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. Alain MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*
- Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

REMERCIEMENTS

A notre jury de thèse,

A Monsieur Antoine BLANCHER,

Professeur à la Faculté de Médecine Toulouse-Rangueil,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse,

Hommages respectueux.

A Monsieur Gilles FOUCRAS,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer cette thèse,

Pour m'avoir soutenu et guidé dans la réalisation de ce travail, pour sa gentillesse et sa disponibilité. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance,

Sincères remerciements.

A Madame Sylvie CHASTANT-MAILLARD,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui a accepté de participer à notre jury de thèse,

Remerciements chaleureux.

A ma famille,

A mes parents, je vous remercie de m'avoir soutenue pendant toutes ces années, je sais que ça n'a pas toujours été facile mais sans vous, je n'aurais jamais pu aller aussi loin. Vous avez toujours été là pour moi et grâce à vous, je n'ai jamais manqué de rien. Merci pour tous les moments de bonheur que vous m'avez apportés et tous les moments à venir. J'espère que vous savez à quel point vous comptez pour moi. J'espère que vous êtes fiers de moi, je vous aime de tout mon cœur. Merci maman pour avoir su me remonter le moral dans les mauvais moments, pour être venue me voir chez moi quand ça n'allait pas et pour avoir répondu à mes coups de téléphone en pleine nuit. Merci papa pour n'avoir jamais douté de moi, pour m'avoir rappelé ce qui est important, et pour ta bonne humeur.

A ma sœur Estelle, tu as toujours cru en moi et su me redonner confiance, tu es mon modèle à moi. Tu as toujours été là pour me soutenir et tu sais à quel point je t'aime. **A Sam et Jo,** parce que, sans le savoir, vous m'apportez tant de bonheur à chaque fois que je vous vois, même si vous m'empêchiez de travailler sur cette thèse en me volant mes surligneurs... **A Marco,** pour la belle famille que tu as et pour la rendre heureuse. :)

A mon frère Julien, ça y est c'est la dernière année Jujy, tu n'auras plus à me demander combien il en reste encore ! Pour m'avoir soutenu toutes ces années, j'espère que tu trouveras ton chemin et le bonheur que tu mérites.

A Gabriel, ma plus belle rencontre, je n'arriverai pas à retranscrire ici ce que tu représentes pour moi. Ça a été dur d'être loin de toi, tu le sais, mais tu as été fort pour nous deux et les années à venir n'en seront que plus belles. Tu as toujours su me reconforter dans les moments difficiles. Je t'aime et il me tarde qu'on soit enfin réunis.

A mes amis,

A Maivou et Marion, mes deux plus vieilles et plus chères amies, vous avez toujours cru en moi et je suis fière de nous trois, de notre parcours et qu'on ait réussi à toujours rester ensemble, de près et de loin. Vous savez à quel point je tiens à vous et à chaque fois que je vous vois, cela me redonne plus de force pour avancer. J'ai tant de souvenirs avec vous que je ne sais pas lequel citer, il me tarde les prochaines vacances ensemble pour exercer nos voix dans un autre lieu magique...

A mes copromos de l'ENVT et bien plus,

A Louistiti, une belle rencontre de cette école qui s'est transformé en une belle amitié. Pour les années de colocation que je n'oublierai jamais, je n'aurais pas pu imaginer mieux comme colocataire ! Pour les soirées de gala inoubliables, pour les journées de révision à pauses répétées, pour tous les bons dîners en tête à tête, pour les soirées télé où tu t'endormais, et j'en oublie... pour tous les bons moments qu'on a pu passer ensemble, et tous les moments à venir.

A Elodie, pour tous les mots mosellans que tu m'as appris, pour ta naïveté attendrissante sur laquelle j'aime te taquiner, pour tes tisanes allemandes exceptionnelles et pour toutes les bonnes soirées (et nuits !) avec toi. **Et à Anthony**, pour ses précieux bisous.

A Solène, pour ta douceur et ta disponibilité, pour les soirées où je me suis endormie sur ton canapé... Je suis contente de t'avoir tout près de moi cette année, j'espère qu'on pourra en profiter pour passer encore plein de soirées ensemble !

A Elsa, pour les moments passés ensemble, pour avoir supporté mes taquineries, je te souhaite un bon courage pour cette année d'internat qui a très bien commencée.

A Alban et Simon, pour vos accents aveyronnais qui donnent la pêche.

Tout est parti d'un super groupe d'anglais.

A Marie, Amélie, Anthia, Aurélie, Jennifer, Aurélien, Laurence, Audrey, Claire, Juliette, Emilie, Pauline, Maïlys, Salim, Caroline, Tibol, Elsa, et à nos poulots/poulottes parce que cette thèse est aussi l'occasion de vous dire que vous avez compté pour moi et que je suis fière de vous connaître.

A Florent, Sarah, Dodie, Samuel, Delphine, Fanny, pour les bonnes soirées passées au Jungle Touch.

A Sandra, pour ton accent incontrôlable et contagieux, et pour cette année fort bien partie ! Je suis contente d'avoir l'occasion de mieux te connaître.

A Melvil, et à Bibi qui m'a accompagnée depuis le début de l'école !

A Charlotte et à Rachel, qui ont travaillé sur ce projet et qui ont toujours été disponibles, un grand merci pour votre aide précieuse.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	1
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ABREVIATIONS	8
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	10
LISTE DES TABLEAUX	12
LISTE DES ANNEXES	14
INTRODUCTION.....	15
PREMIERE PARTIE :	17
I. Effet d'un déficit d'apport énergétique sur le métabolisme des ruminants.....	18
1. Le péri-partum, et l'origine du déficit énergétique.....	18
2. Les indicateurs du déficit énergétique.....	20
A. LA LIPOMOBILISATION ASSOCIEE AU DEFICIT ENERGETIQUE PERI-PARTUM.....	20
B. LA CETOGENESE	23
C. LES INDICATEURS DU BILAN ENERGETIQUE NEGATIF	23
3. Incidence élevée des maladies infectieuses autour du part.....	26
A. EVOLUTION DE LA FILIERE LAITIERE	26
B. LES PRINCIPALES MALADIES DU PERI-PARTUM.....	27
C. FACTEURS DE RISQUE DES MAMMITES	30
II. Relation entre déficit énergétique et fonctions immunitaires	35
1. Effets du bilan énergétique négatif sur l'immunité	35
A. EFFETS DU DEFICIT ENERGETIQUE SUR LE SYSTEME IMMUNITAIRE.....	35
B. DES LIPIDES A L'ORIGINE DE LA RESOLUTION DE L'INFLAMMATION	36
2. Effets des acides gras et des corps cétoniques sur l'immunité	40
A. EFFETS DES AGNE SUR LES FONCTIONS DES LYMPHOCYTES	40

B.	EFFETS DU BHB SUR LE CHIMIOTACTISME DES LEUCOCYTES	41
C.	EFFETS DU BHB SUR LA FONCTION DES LEUCOCYTES DU LAIT	43
3.	Effets du glucose et de la glutamine sur l'immunité	46
A.	STIMULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE PAR LE GLUCOSE	46
B.	STIMULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE PAR LA GLUTAMINE	47
4.	Tableau récapitulatif des effets sur les fonctions immunitaires des leucocytes	48
III.	Déficit énergétique et réponse immunitaire mammaire.....	50
1.	Infection et immunité de la glande mammaire	50
A.	LES MECANISMES DE DEFENSE ANATOMIQUES.....	51
B.	LES MECANISMES DE DEFENSE CELLULAIRES	52
2.	Expression différentielle de gènes lors d'un déficit énergétique.....	55
A.	EXPRESSION DIFFERENTIELLE DE GENES AVEC OU SANS EPREUVE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE	55
B.	EXPRESSION DIFFERENTIELLE DES GENES DANS LA RATE LORS D'UN DEFICIT ENERGETIQUE.....	58
C.	EXPRESSION DIFFERENTIELLE DES GENES AU NIVEAU HEPATIQUE LORS D'UN DEFICIT ENERGETIQUE.....	59
	CONCLUSION.....	60
	DEUXIEME PARTIE :	61
	Introduction	62
I.	Matériels et méthode.....	62
A.	ANIMAUX.....	62
B.	ALIMENTATION	64
C.	EPREUVE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE.....	65
D.	PROTOCOLE EXPERIMENTAL	66
E.	PRELEVEMENTS DE SANG ET DE LAIT	66
F.	ANALYSE STATISTIQUE	67

II.	Résultats	68
A.	BILAN ENERGETIQUE	68
B.	VARIATIONS DU POIDS VIF ET NOTE D'ETAT CORPOREL	69
C.	PRODUCTION LAITIERE, TAUX UTILES	73
D.	METABOLITES SANGUINS.....	80
E.	REPOSE DE L'EPREUVE INFLAMMATOIRE.....	84
F.	SYNTHESE DES RESULTATS.....	92
III.	Discussion.....	93
A.	VARIATIONS DU POIDS VIF ET DE LA NEC.....	93
B.	RESTRICTION ENERGETIQUE ET CARACTERES LAITIERS	94
C.	INDICATEURS METABOLIQUES	95
D.	REPOSE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE.....	96
	CONCLUSION.....	101

LISTE DES ABREVIATIONS

AcAc : AcétoAcétate

AG : Acide Gras

AGNE : Acide Gras Non Estérifié

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ASAT : Aspartate AminoTransferase

BHB : Beta-HydroxyButyrate

CCS : Comptage des Cellules Somatiques

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CoA : Coenzyme A

DRO : Dérivés Réactifs de l'Oxygène

EB : Bilan Energétique (*Energy Balance*)

Hp : Haptoglobuline

IFN- γ : Interferon Gamma

IGF-I : Insulin-like Growth Factor-I

IgM : Immunoglobuline M

IL : Interleukine

iNOS : Oxyde nitrique synthase inductible

LPS : Lipopolysaccharide

LTA : Acide Lipotéichoïque

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Hydrogène

NEB : Bilan Energétique Négatif (*Negative Energy Balance*)

NEC : Note d'Etat Corporel

NF-κB : Nuclear Factor - κB

NK : Natural Killer

NO : Monoxyde d'Azote

PAMP : Motif Moléculaire Associé au Pathogène

SAA : Serum Amyloid A

SCS : Score de Cellules Somatiques (*Somatic Cell Score*)

SPM : Specialized Proresolving Mediators

T3 : 3,3',5-triiodothyronine

T4 : Thyroxine

TB : Taux Butyreux

TLR : Toll-Like Receptor

TNFα : Tumour Necrosis Factor alpha

TP : Taux Protéique

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Evolution de la quantité de matière sèche ingérée autour de la parturition chez des vaches laitières avec une hypocalcémie ou fièvre de lait (•), et des vaches saines (□) (d'après Goff et al., 2002)

Figure 2 : Le cycle de Krebs (d'après Bechtel, 2005)

Figure 3 : La lipomobilisation lors d'un déficit énergétique (d'après Suriyasathaporn et al., 2000)

Figure 4 : Synthèse et origine des constituants du lait (d'après Enjalbert)

Figure 5 : Evolution du nombre de vaches laitières et de leur production depuis le début des années 2000 (d'après Agreste)

Figure 6 : Schématisation des mécanismes de bactéricidie lors de la phagocytose

Figure 7 : Colonisation ascendante de la glande mammaire par des bactéries (d'après Bergonier D.)

Figure 8 : Protocole expérimental

Figure 9 : Variation du bilan énergétique pour le lot restreint et le lot non restreint (dans l'ensemble des graphiques, les écarts types sont représentés par les barres verticales)

Figure 10 : Variation du poids vif pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 11 : Variation du poids par rapport à une date de référence (début de la restriction) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 12 : Variations de la NEC pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 13 : Variations de la production laitière (PL) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 14 : Variations de la production laitière exprimées en pourcentage, par rapport à une production laitière de référence calculée sur 3 dates (le 24, 28 et 29-01), pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 15 : Variations du taux butyreux pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 16 : Variations de la quantité de matière grasse pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 17 : Variations du taux protéique pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 18 : Variations de la quantité de matière protéique pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 19 : Variations du rapport TB/TP pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 20 : Variations de la concentration plasmatique des AGNE pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 21 : Variations de la concentration plasmatique du BHB pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 22 : Variations de la glycémie pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 23 : Variations du Comptage de Cellules Somatiques (CCS) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 24 : Variations du CCS hémi-mamelle (côté injecté et côté contrôle) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 25 : Variations du Score de Cellules Somatiques (SCS) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 26 : Variations du SCS hémi-mamelle (côté injecté et côté contrôle) pour le lot restreint et le lot non restreint

Figure 27 : Variations de la concentration de neutrophiles morts du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

Figure 28 : Variations de la concentration de neutrophiles du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

Figure 29 : Variations de la concentration de lymphocytes du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

Figure 30 : Variations de la numération sanguine (moyennes des deux lots)

Figure 31 : Variations de la concentration de leucocytes sanguins pour le lot restreint et le lot non restreint

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Besoins métaboliques de la vache pour le développement du fœtus et la synthèse du colostrum à la fin de la gestation (d'après Goff et al., 1997)

Tableau 2 : Incidence des principales maladies rencontrées dans les cheptels laitiers aux Etats-Unis en 1995 et 2001 (d'après Goff et al., 2006)

Tableau 3 : Rôles des médiateurs lipidiques de la pro-résolution dans des maladies infectieuses (d'après Russell et al., 2013)

Tableau 4 : Effets du déficit énergétique, des AGNE, des corps cétoniques, du glucose et de la glutamine sur les fonctions immunitaires des leucocytes

Tableau 5 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du poids vif par rapport au lot non restreint

Tableau 6 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du poids par rapport à la date de référence

Tableau 7 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la NEC par rapport au lot non restreint

Tableau 8 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la production laitière exprimée en litres

Tableau 9 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la production laitière par rapport à une production laitière de référence à partir des données de 3 dates (le 24, 28 et 29-01)

Tableau 10 : Effets de la restriction énergétique sur le taux butyreux par rapport au lot non restreint

Tableau 11 : Effets de la restriction énergétique sur la quantité de matière grasse par rapport au lot non restreint

Tableau 12 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du taux protéique par rapport au lot non restreint

Tableau 13 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la quantité de matière protéique par rapport au lot non restreint

Tableau 14 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du rapport TB/TP par rapport au lot non restreint

Tableau 15 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la concentration plasmatique des AGNE

Tableau 16 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la concentration plasmatique du BHB

Tableau 17 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la glycémie

Tableau 18 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du SCS hémi-mamelle

Tableau 19 : Tableau récapitulatif des résultats en fonction des différentes périodes du protocole

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Composition des mashes

Annexe 2 : Protocole expérimental et dates de prélèvements

Annexe 3 : Evaluation de la Note d'Etat Corporel

INTRODUCTION

Depuis plusieurs décennies, la sélection génétique a permis une augmentation de la rentabilité des animaux dans les filières laitières. La production de lait a aussi augmenté en grande partie grâce à l'amélioration de l'alimentation. Cependant, dès la période de transition, définie par les trois semaines survenant avant et après la parturition, le risque de développer des maladies telles que la cétose et les mammites est plus élevé. On suppose que l'augmentation de l'incidence des mammites est due à une altération des mécanismes de défense de la glande mammaire parallèlement à une augmentation de la lipomobilisation et de la céto-genèse.

Il s'agit dans ce travail de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans le métabolisme des vaches et des brebis laitières dans la période de transition, et leurs répercussions sur les fonctions immunitaires, particulièrement sollicitées lors de cette période clé du cycle de production. L'objectif de cette étude a été de provoquer expérimentalement un bilan énergétique négatif en période péri-partum grâce à une restriction alimentaire. Nous avons mesuré les conséquences sur les paramètres laitiers et métaboliques, et nous avons étudié l'influence de cette restriction énergétique sur les fonctions immunitaires de la glande mammaire à l'aide d'une épreuve inflammatoire mammaire.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Effet d'un déficit d'apport énergétique sur le métabolisme des ruminants

1. Le péri-partum, et l'origine du déficit énergétique

Le péri-partum depuis la fin de la gestation, et de la période sèche, jusqu'au début de la lactation est une période critique chez la vache, et dans une moindre mesure, chez la brebis, de races laitières. En effet, durant cette période appelée période de transition (comprenant généralement les 2 à 3 dernières semaines de la gestation jusqu'aux 2 à 3 premières semaines de la lactation), la demande énergétique est fortement augmentée chez ces animaux (Drackley, 1999). Cette augmentation est due à des changements physiologiques et métaboliques reliés à la croissance du fœtus, au fonctionnement utérin et aux changements hormonaux, à la parturition et à la synthèse du colostrum et du lait. Par exemple, les besoins nutritionnels du fœtus atteignent leur maximum environ 3 semaines pré-partum et dans les 3 premières semaines de lactation, la production laitière, les taux de protéines, de matière grasse, et de lactose du lait augmentent rapidement (Esposito et al. 2014). Les besoins mammaires doivent être pris en compte avant le vêlage, en particulier pour la synthèse du colostrum (Tableau 1).

Tableau 1 : Besoins métaboliques de la vache pour le développement du fœtus et la synthèse du colostrum à la fin de la gestation (d'après Goff et al., 1997).

Développement du fœtus en fin de gestation (par jour)	Synthèse du colostrum (par 10 kg)
0.82 Mcal d'énergie	11 Mcal d'énergie
117 g de protéines	140 g de protéines
10.3 g de calcium	23 g de calcium
5.4 g de phosphore	9 g de phosphore
0.2 g de magnésium	1 g de magnésium

Cependant, alors que les besoins augmentent, les apports, dont celui en énergie, sont limités par une ingestion qui décline vers la fin de la gestation ; cette diminution peut être encore plus marquée lors d'affection métabolique comme une hypocalcémie (Figure 1). En moyenne, cette diminution est de l'ordre de 10 à 30% autour de la parturition (Esposito et al., 2014). Le déficit énergétique peut alors être modéré à sévère chez les femelles laitières péri-

parturientes en fonction par exemple de la qualité, de la quantité de la ration distribuée ou consommée, et de divers facteurs de stress.

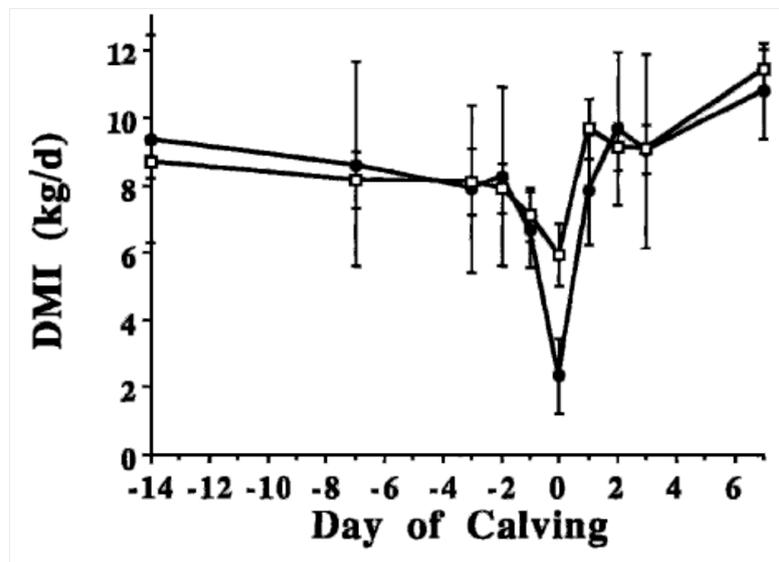


Figure 1 : Evolution de la quantité de matière sèche ingérée autour de la parturition chez des vaches laitières avec une hypocalcémie ou fièvre de lait (•), et des vaches saines (□) (d'après Goff et al., 2002)

Le bilan énergétique (BE) journalier peut être calculé à l'aide de la formule suivante (Moyes et al., 2009) :

$$\text{BE} = \text{Energie apportée par la ration} - [\text{Energie d'entretien} + \text{Energie requise pour la production laitière}]$$

Avec :

- Energie d'entretien = Poids Vif (kg)^{0,75} x 0,08 (Mcal/kg) ;
- Energie requise pour la production laitière = [(0,0929 x matière grasse (%)) + (0,00547 x matière protéique (%)) + (0,0395 x teneur en lactose (%))].

Dans cette période, les animaux expérimentent donc un bilan énergétique négatif plus ou moins marqué, ce qui entraîne une mobilisation de leurs réserves afin de combler le plus possible l'écart entre la demande énergétique qui augmente (essentiellement en rapport avec la synthèse du lait de la glande mammaire comme le montre le tableau 1) et un apport alimentaire insuffisant. Malgré le déficit énergétique plus ou moins physiologique observé en début de lactation, la production laitière continue d'augmenter (Gross et al., 2011). Cette observation, qui est la conséquence d'une spécialisation fonctionnelle après sélection génétique, introduit la notion d'homéorhèse qui consiste à diriger les nutriments prioritairement vers un organe pour le soutien d'une fonction physiologique ou une

production. Le déficit énergétique peut durer jusqu'à la neuvième semaine de lactation alors que le pic de production laitière se trouve entre 4 et 8 semaines post-partum chez la vache (Suriyasathaporn et al., 2000).

Le péri-partum constitue donc une période clé du cycle physiologique et de production de la vache laitière, entre la fin du tarissement où les besoins énergétiques sont encore faibles, jusqu'au début de la lactation où les besoins sont élevés. L'animal doit s'adapter à ces fluctuations grâce à la possibilité de puiser sur ses réserves corporelles (surtout pour la production d'énergie), mais le déficit énergétique est quasi systématique à cause du contraste qui existe entre l'évolution rapide des besoins et l'évolution lente de la capacité d'ingestion. La quantité de matière sèche ingérée et la densité énergétique de la ration en péri-partum sont donc les facteurs essentiels qui sont disponibles pour limiter la sévérité du déficit énergétique.

Depuis plusieurs décennies, les ruminants des filières laitières ont été sélectionnés afin d'accroître la quantité de lait produite. Comme dans les autres productions, le poste alimentaire constitue un élément important de l'équilibre financier de cette production, notamment à cause du renchérissement des aliments concentrés. Augmenter l'efficacité alimentaire a alors un impact significatif sur le profit de l'élevage. Cette efficacité peut être définie par le rapport entre la production laitière et l'ingestion alimentaire (Collard et al. 2000). On remarque cependant que l'augmentation de la production en début de lactation associée à une diminution de l'ingestion peut parfois se faire au détriment de la santé de l'animal.

Bilan : La période de transition est un moment critique du cycle de production des ruminants laitiers. Anticiper et maîtriser les besoins spécifiques de cette période est essentiel afin de réduire au maximum le déficit énergétique qui est plus ou moins physiologique et attendu à cette période.

2. Les indicateurs du déficit énergétique

A. LA LIPOMOBILISATION ASSOCIEE AU DEFICIT ENERGETIQUE PERI-PARTUM

Le déficit énergétique observé chez la vache laitière en péri-partum est dû en partie à une forte exportation de nutriments utiles à la galactopoïèse. En réponse à un bilan

énergétique négatif, la concentration sanguine de l'insuline diminue et celle du glucagon augmente, avec comme conséquence l'apparition fréquente d'une hypoglycémie. Les réserves adipeuses sont alors mobilisées et utilisées comme source d'énergie supplémentaire afin de couvrir, en particulier, les besoins de la production laitière.

Des brebis sous-alimentées peuvent mobiliser plus de 50% de leurs réserves lipidiques durant la gestation. Différents tissus adipeux contribuent à la lipomobilisation : chez la brebis en début de lactation, les tissus adipeux périrénal, épiploïque et mésentérique représentent de 20 à 30% des lipides mobilisés. Les dépôts adipeux sous-cutanés contribuent à la plus grande part des variations des lipides corporels. En début de lactation, la brebis peut mobiliser jusqu'à 400 g/j de lipides, ce qui peut représenter plus de 13 kg. La lipomobilisation est en partie liée à l'exportation d'énergie pour la production laitière, on estime qu'elle contribue pour 80 % à la couverture du déficit énergétique et pour 25 à 75 % à l'énergie nécessaire à la galactopoïèse. (Chilliard Y., 1987)

La lipomobilisation est à l'origine d'une augmentation de la concentration des Acides Gras Non Estérifiés (AGNE) ou Acides Gras Libres, produits à la suite de l'hydrolyse des triglycérides. Les AGNE circulants sont en partie captés par le foie (environ 20%) et une part importante de ces AGNE est oxydée soit totalement (formation de CO₂ par le cycle de Krebs) soit partiellement (formation de corps cétoniques).

Les AGNE s'associent avec le coenzyme A (CoA) pour former un Acyl-CoA. L'Acyl-CoA subit ensuite une bêta-oxydation afin de former du NADH et de l'Acétyl-CoA dans la mitochondrie. L'Acétyl-CoA ainsi formé entre dans le cycle de Krebs : l'Acétyl-CoA se condense avec l'oxaloacétate, précurseur du glucose, pour être complètement oxydé et former du citrate (Figure 2). Cependant, l'oxaloacétate est également le substrat principal de la néoglucogénèse qui, lorsqu'il y a une hypoglycémie et que la quantité de glucose devient insuffisante, est en priorité utilisé pour la néoglucogénèse et se raréfie. La néoglucogénèse augmente notamment en fin de gestation et en début de lactation pour couvrir les besoins en glucose de l'utérus gravide et de la mamelle. Du fait de la carence relative en composés glucoformateurs dans le foie, le cycle de Krebs ne peut plus fonctionner normalement en consommant de l'Acétyl-CoA et ce dernier s'accumule aussi longtemps que dure l'hypoglycémie. L'Acétyl-CoA en excès va alors être dirigé vers la voie de la cétogénèse. (Suriyasathaporn et al., 2000)

En fin de gestation, des brebis sous-alimentées mobilisent plus fortement leurs réserves et tendent à être hypoglycémiques : la cétogenèse devient intense et peut devenir pathologique, conduisant à l'apparition d'une toxémie de gestation. (Chilliard Y., 1987)

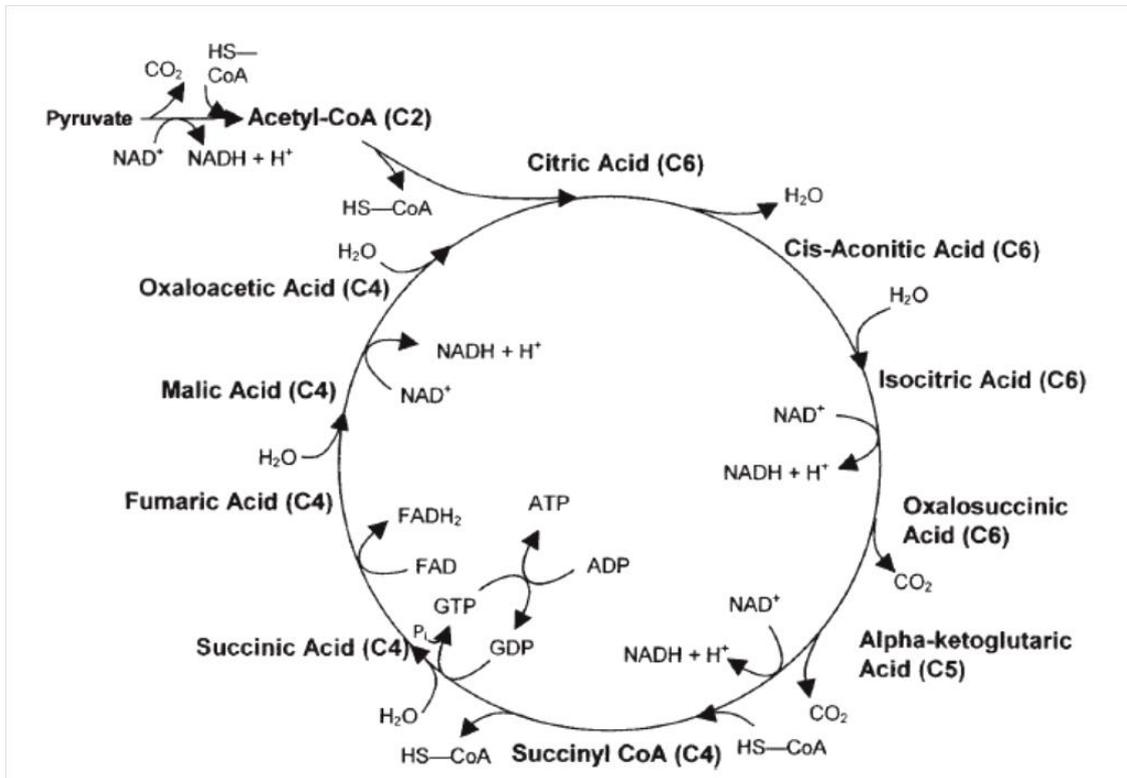


Figure 2 : Le cycle de Krebs (d'après Bechtel, 2005)

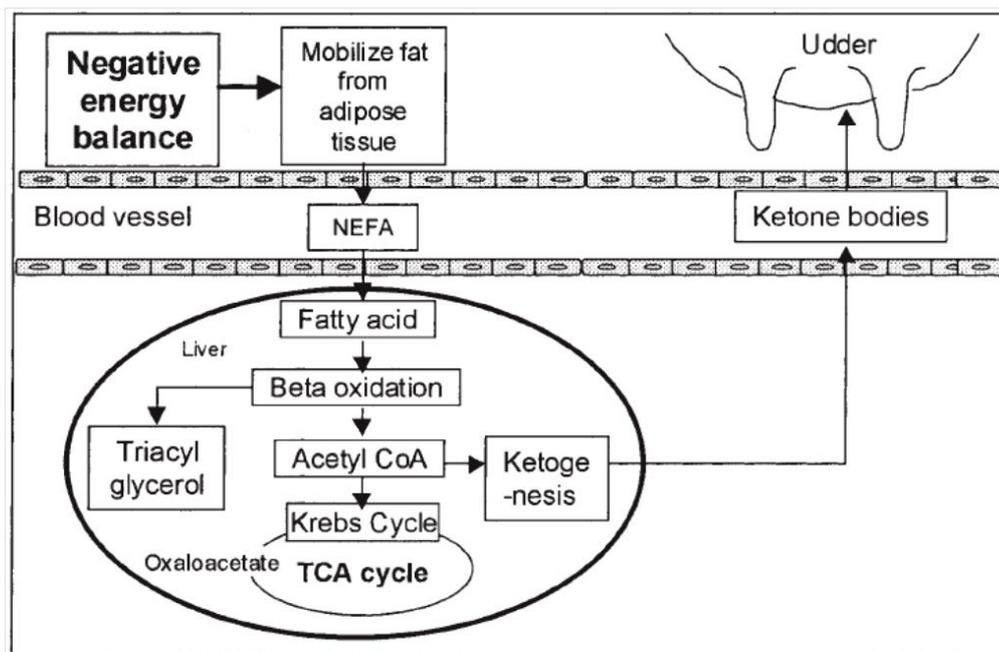


Figure 3 : La lipomobilisation lors d'un déficit énergétique (d'après Suriyasathaporn et al., 2000)

B. LA CETOGENESE

Les principaux corps cétoniques de l'organisme sont l'acétone, l'acéto-acétate et le béta-hydroxybutyrate. La céto-genèse a lieu dans les mitochondries des hépatocytes, à partir de l'Acétyl-CoA, qui est le précurseur des corps cétoniques issu majoritairement du catabolisme des acides gras dans les mitochondries des hépatocytes. L'Acétyl-CoA est donc à l'origine de la synthèse des corps cétoniques, lorsque la quantité de glucose est insuffisante, c'est-à-dire en situation de déficit énergétique. Dans ce cas-là, ils subissent une oxydation partielle dans la mitochondrie.

L'Acétyl-CoA non utilisé par le cycle de Krebs est oxydé partiellement : il est transformé en AcétoAcétyl-CoA puis condensé en AcétoAcétate (AcAc). Ce dernier est ensuite réduit dans la mitochondrie en Béta-HydroxyButyrate (BHB), dont une partie est décarboxylée en acétone.

Les corps cétoniques constituent une source d'énergie pour les tissus périphériques comme la mamelle lorsque la glycémie est basse. Cependant, un excès de corps cétoniques peut être néfaste pour l'organisme. Lorsque l'utilisation des corps cétoniques par les tissus périphériques est insuffisante par rapport à leur production, l'animal est susceptible de développer un état de cétose, caractérisé par une hypoglycémie associée à une hypercétonémie. On considère qu'au moins 50 % des vaches laitières ont une phase transitoire de cétose subclinique pendant le premier mois de lactation lorsque le maintien de la glycémie est précaire. Dans la plupart des cas, la glycémie diminue pendant 1 à 2 semaines autour du part avant de retrouver une valeur usuelle (Esposito et al., 2014).

C. LES INDICATEURS DU BILAN ENERGETIQUE NEGATIF

Lors de déficit énergétique, il existe une augmentation significative des concentrations plasmatiques des AGNE et des corps cétoniques. On constate le plus souvent une diminution de la concentration plasmatique du glucose. L'intensité de ces variations est corrélée à la sévérité et à la durée du déficit énergétique.

La reproduction expérimentale d'un déficit énergétique a déjà été publiée plusieurs fois pour la vache laitière. Dans un de ces essais (Moyes et al., 2009), la restriction alimentaire correspond à une couverture de 60% des besoins des animaux durant sept jours,

correspondant à un déficit similaire à celui rencontré en péri-partum. Chez cinq vaches Holstein chez qui le déficit énergétique a été provoqué à 60 jours post-partum, Moyes et al. (2009) ont mesuré des concentrations plasmatiques en AGNE et en corps cétoniques plus élevées que chez les cinq vaches non restreintes (p -value $<0,001$). Dans cette étude cependant, la glycémie n'était pas significativement différente entre les deux groupes.

Une autre étude (Gross et al., 2011), conduite sur un effectif de 50 vaches Holstein, décrit le déficit énergétique provoqué par une restriction alimentaire à 100 jours de lactation. Cette étude comprend trois périodes : la première période depuis le début de la lactation jusqu'à 12 semaines post-partum, la deuxième correspond à la période de restriction alimentaire d'une durée de 3 semaines à partir de 100 jours de lactation pour le groupe restreint, alors que les besoins sont couverts dans le groupe témoin, et la troisième période correspond à la période de réalimentation d'une durée de huit semaines à la suite de l'arrêt de la restriction.

✘ Dans la période 1, le bilan énergétique diminue jusqu'à un nadir qui est atteint une semaine après le part. Malgré le bilan énergétique négatif observé en début de lactation, la production laitière augmente régulièrement. Le pic de lactation est atteint à la sixième semaine. Le bilan énergétique est à nouveau positif à partir de la neuvième semaine post-partum.

✘ Dans la période 2, la production laitière diminue d'environ 10%, mais retrouve un niveau comparable à celui des animaux non restreints après réalimentation. Néanmoins, lors de la restriction alimentaire, le Taux Butyreux du lait (TB) n'est pas modifié alors que le Taux Protéique (TP) diminue significativement. Le TP diminue essentiellement à cause de l'apport insuffisant de protéines dans la ration alors que le TB reste le même à cause des AG exportés à partir du tissu adipeux. Quant au lactose, sa valeur reste stable durant les périodes de début et du milieu de lactation et n'est pas affectée par la restriction dans cette étude.

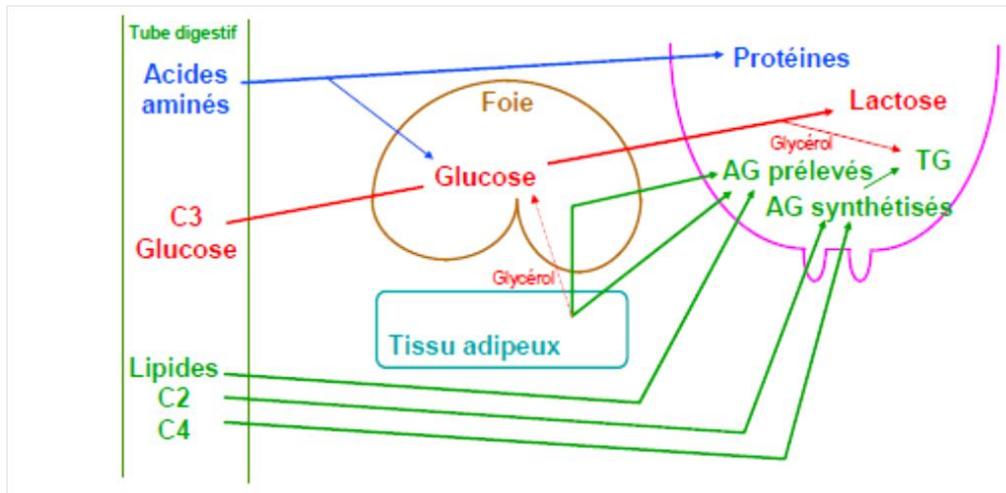


Figure 4 : Synthèse et origine des constituants du lait (d'après Enjalbert)

La glycémie diminue au cours des deux premières semaines de lactation, où la demande est plus forte, particulièrement pour la synthèse du lactose. Lors de la restriction, la diminution de la concentration plasmatique du glucose est moins marquée qu'en début de lactation, malgré le bilan énergétique négatif plus marqué pendant la restriction (environ 50% des besoins couverts). De même, la mobilisation des réserves conduit à une augmentation des concentrations en AGNE et en BHB plus grande en début de lactation, que pendant la phase de restriction expérimentale. La réponse de l'organisme à un déficit énergétique est donc différente en début et en milieu de lactation. Cela conduit à considérer l'existence d'autres mécanismes qui sont mis en jeu pendant la période de transition que sont les changements liés à la parturition et à la synthèse du lait.

La Note d'Etat Corporel (NEC) de l'animal est également un critère à considérer dans l'étude des indicateurs du bilan énergétique négatif. A savoir que ce paramètre doit être évalué soit avant, soit après la mise bas : en effet, la NEC varie rapidement à cette période car avant la mise bas, il y a souvent un excès de réserves corporelles alors qu'après la mise bas, la mobilisation des réserves adipeuses est accrue et conduit à un amaigrissement. Dans une étude portant sur l'influence de l'état d'engraissement sur la réponse comportementale et physiologique de la vache laitière (Schütz et al. 2013), il a été mis en évidence des augmentations des concentrations plasmatiques en AGNE et BHB plus grandes chez les vaches avec des NEC élevées après la mise-bas. Ces dernières ont une baisse d'appétit suite à la parturition (l'étude montre que les vaches avec des NEC plus basses passent plus de temps

à manger) et ont un risque plus élevé de développer des maladies métaboliques (cétose, fièvre de lait). Les désordres hépatiques (stéatose) engendrés par cette diminution de l'ingestion pourraient alors être à l'origine d'une mauvaise utilisation des AGNE, d'où une augmentation plus marquée de la concentration du BHB.

Bilan : L'augmentation des concentrations plasmatiques des AGNE et des corps cétoniques reflète l'intensité de la lipomobilisation provoquée par le déficit énergétique en début de lactation. La concentration du glucose a tendance à diminuer, à la suite de la diminution des apports, alors que le ratio TB/TP augmente.

3. Incidence élevée des maladies infectieuses autour du part

A. EVOLUTION DE LA FILIERE LAITIERE

Depuis environ 30 ans, l'industrie laitière subit des restructurations importantes. Les animaux sont sélectionnés pour une production laitière toujours accrue afin d'optimiser le rendement. Par exemple, une vache Prim'Holstein produisait moins de 5 000 kg de lait par lactation en 1980 alors qu'en 2008, elle en produit en moyenne plus de 8 000 kg/an, ce qui revient à une augmentation de plus de 60% en 30 ans environ.

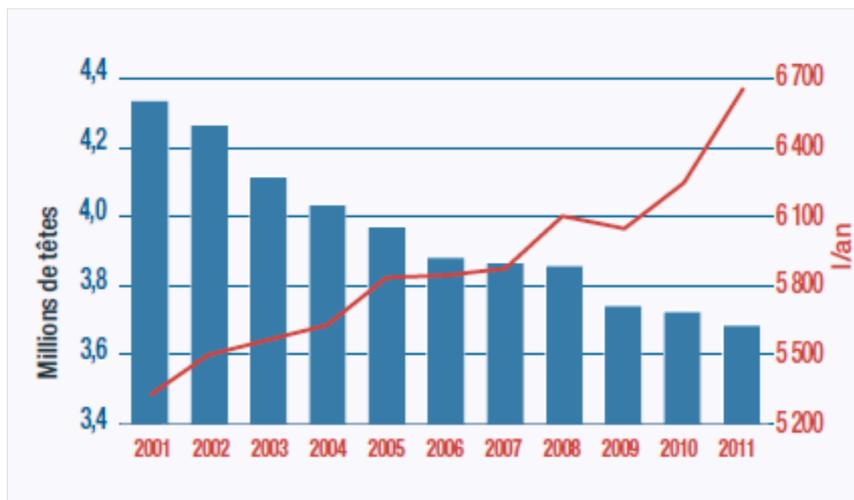


Figure 5 : Evolution du nombre de vaches laitières et de leur production depuis le début des années 2000 (d'après Agreste)

Cette augmentation de la production associée à une forte restructuration de la filière laitière a entraîné de profonds changements dans la conduite des troupeaux, comme par exemple le logement, l'alimentation et la gestion du cycle de production. Cependant, malgré l'augmentation forte du rendement des animaux permis en grande partie par l'amélioration de l'alimentation, on remarque que l'incidence des maladies n'a pas régressé (*cf.* tableau 2), et également que le péri-partum reste une période à risque pour la santé de l'animal. (Goff et al., 2006) Les vaches dont la production laitière est la plus élevée ont un risque accru de développer une cétose, probablement parce les besoins énergétiques sont chez elles beaucoup plus grands (Duffield et al. 2009). L'augmentation forte et rapide de la production laitière accentue le stress métabolique associé à la galactopoïèse, et Heringstad et al. (2007) a montré que la sélection génétique sur la capacité de production est négativement corrélée à la résistance aux mammites. En outre, selon Heringstad et al. (2007), la sélection génétique pour la résistance aux mammites tendrait à augmenter la résistance génétique à d'autres maladies fréquentes du début de lactation que sont la cétose et la rétention placentaire.

Tableau 2 : Incidence des principales maladies rencontrées dans les cheptels laitiers aux Etats-Unis en 1995 et 2001 (d'après Goff et al., 2006)

	Troupeau affecté, %	
	1995	2001
Mammite	13,4	14,7
Boîterie	10,5	11,6
Rétention fœtale	7,8	7,8
Fièvre de lait	5,9	5,2
Déplacement de caillette	2,8	3,5
Mortalité des génisses avant sevrage	10,8	8,7

B. LES PRINCIPALES MALADIES DU PERI-PARTUM

De nombreuses études s'intéressent à la période péri-partum, qui est une période critique pour l'animal du fait des besoins spécifiques rencontrés à ce moment-là, et de son influence sur l'immunité et la santé de l'animal. En effet, la période de transition est une

période où l'animal est sujet à des modifications métaboliques, mais aussi à des modifications des mécanismes de l'immunité, qui sont probablement responsables de l'augmentation du risque de développement de maladies métaboliques ou infectieuses. Sont notamment observés à cette période, la cétose, la stéatose hépatique, la fièvre de lait, la rétention placentaire, l'endométrite, les déplacements de la caillette, les mammites et les boiteries. La plupart des maladies métaboliques de la vache laitière sont observées durant les deux premières semaines de la lactation (Goff et al., 1997).

La **cétose** est une maladie dont le risque est maximal en début de lactation. Il est généralement admis que l'acétonémie apparaît à la suite d'une diminution de la disponibilité du glucose. La cétose de type I intervient suite au déficit physiologique rencontré en début de lactation, de 2 à 6 semaines de lactation. Dans ce cas, il y a un défaut d'apport en glucose mais la néoglucogénèse fonctionne normalement contrairement à la cétose de type II où il y a un défaut de néoglucogénèse secondaire à une atteinte hépatique (stéatose). (Abutarbush 2010) La production laitière après le part augmentant plus rapidement que la prise alimentaire, l'animal doit alors mobiliser des réserves graisseuses afin de couvrir les besoins de la glande mammaire. Cependant, si cette mobilisation est excessive, l'accumulation d'AGNE provenant du tissu adipeux excède la capacité du foie à utiliser ces acides gras pour produire de l'énergie. Ces derniers sont alors convertis en corps cétoniques qui, en quantité élevée, sont délétères pour l'animal.

La cétose peut engendrer des pertes économiques (diminution de la production laitière, impact sur la reproduction). De plus, les vaches en cétose sont souvent dysorexiques, ce qui exacerbe encore le déficit énergétique. Une hausse de la concentration plasmatique en bêta-hydroxybutyrate (BHB) lors de la première semaine de lactation est associée à une faible production laitière lors du premier contrôle laitier et à une plus faible production sur la lactation. Cependant, si cette augmentation est plus tardive et survient lors de la deuxième semaine de lactation, on observe une diminution de la production au premier contrôle mais la production laitière durant la lactation est globalement supérieure à celles des vaches normocétosiques. (Duffield et al., 2009) Ceci peut être expliqué par le fait que les vaches hautes productrices ont plus de risque de développer une cétose et ont une production globale plus élevée. Nous verrons plus loin de quelle manière les métabolites sanguins tels que le BHB et les AGNE peuvent altérer la fonction immunitaire.

La fréquence des mammites dans les cheptels est plus élevée durant la période de transition. Les **mammites** continuent d'être l'une des maladies les plus onéreuses de la filière laitière à cause de leur fréquence et des coûts qu'elles engendrent (perte de lait, traitement, réforme). Une meilleure compréhension des mécanismes de défense immunitaire de la glande mammaire durant les phases critiques du cycle de production permettrait d'envisager de nouvelles modalités de contrôle et ainsi de réduire l'incidence des mammites dans les cheptels laitiers.

Collard et al. (2000) ont étudié la relation entre la durée et la sévérité du déficit énergétique et l'incidence des maladies chez 140 vaches Holstein pendant les 100 premiers jours de lactation. Les **problèmes locomoteurs** sont significativement associés au déficit énergétique. L'animal ne pouvant pas répondre à la demande énergétique du début de la lactation à cause d'une prise alimentaire insuffisante, l'éleveur a alors souvent tendance à augmenter la part de concentrés dans la ration. La proportion de fibres est en parallèle diminuée, ce qui réduit la production de salive et le temps de rumination, avec comme conséquence une diminution du pH du rumen. Ceci entraîne une libération d'histamine et d'endotoxines dans le sang, causant une vasodilatation et des lésions vasculaires de la matrice podogène du sabot. La qualité de la corne est altérée et des ulcères de la sole ou une érosion du talon peuvent apparaître. De même, la douleur engendrée par la fourbure et autres problèmes locomoteurs peut aggraver le déficit énergétique car l'animal passe moins de temps à se déplacer vers la table d'alimentation et à ingérer la ration. Les **problèmes digestifs et métaboliques** (cétose, fièvre de lait, déplacement de la caillette, diarrhée, indigestion, dysorexie) sont associés à des périodes de déficit énergétique plus sévère et de durée plus longue. Par ailleurs, les **problèmes de reproduction** (rétention placentaire, métrite, infection utérine, vaginite, ovaires kystiques) sont les seuls à avoir une corrélation significative avec le bilan énergétique. Cette corrélation signifie que les vaches présentant des troubles ont un bilan énergétique qui devient positif plus rapidement que les autres. Les désordres de l'appareil reproducteur entraînent une diminution de la production laitière et ainsi une diminution des besoins énergétiques, ce qui permet une couverture des besoins alors qu'ils sont plus faibles. Quant aux mammites, leur incidence est plus grande chez les vaches de plus grande conformation, les affections mammaires sont positivement corrélées à la taille, l'ossature et la profondeur de la cage thoracique. (Collard et al., 2000)

Le déficit énergétique physiologique du début de la lactation est associé à une incidence plus élevée de toutes les maladies confondues que le déficit induit par une

restriction alimentaire en milieu de lactation (Gross et al., 2011). De plus, une restriction alimentaire modérée (20%) induite après 2 semaines de lactation n'entraîne pas une augmentation significative de la concentration plasmatique des AGNE, ni de la composition lipidique du foie (Drackley et al., 1991). D'autres facteurs que l'alimentation sont donc mis en jeu lors de la période critique du début de la lactation.

C. FACTEURS DE RISQUE DES MAMMITES

✓ PHASE D'INVOLUTION DE LA GLANDE MAMMAIRE ET MAMMITE

Nous allons ici nous intéresser plus particulièrement aux mammites survenant en début de lactation. Dans le cycle de production classique, la lactation est interrompue par le tarissement à 7 mois de gestation environ. Des modifications importantes surviennent à ce moment-là et vont influencer la santé ultérieure de la glande mammaire. Lors de l'involution de la glande (durant 3 à 4 semaines), l'épithélium mammaire sécrétoire subit une apoptose alors que la glande est remodelée et se prépare à la phase de lactation. Lors de cette involution, le nombre de neutrophiles et de macrophages dans les sécrétions mammaires augmente fortement, ainsi que la concentration en immunoglobulines et en lactoferrine. La lactoferrine chélate le fer, inhibe la croissance bactérienne et l'activité des enzymes dépendant du fer. L'entrée des bactéries est également prévenue par la présence d'un bouchon de kératine qui obstrue le canal du trayon. (Goff et al., 1997)

Une grande partie des infections intra-mammaires survient dans la première semaine de la période sèche, lorsque le flux de lait cesse d'expulser les bactéries présentes dans le canal, et avant la fin de l'involution. Celles-ci n'aboutissent pas systématiquement à l'apparition de signes cliniques, mais certaines bactéries, si elles ne sont pas complètement éliminées par la réponse immunitaire, provoquent une mammite au début de la lactation. Ces infections sont pour la plupart dues à des bactéries coliformes et surviennent dans le premier mois de la lactation (Goff et al., 1997). On peut alors soulever trois questions : pourquoi des mammites subcliniques pendant la période sèche deviennent-elles cliniques en début de lactation ? Et pourquoi la mamelle est-elle plus sensible aux mammites pendant le péri-partum ? Serait-ce dû à une immunodépression de la vache laitière lors de cette période critique ?

De nombreux facteurs survenant autour de la parturition concourent à diminuer les mécanismes de défense de la glande mammaire. Le bouchon de kératine est expulsé 7 à 10 jours avant le part et la concentration de la lactoferrine diminue lors de la sécrétion de colostrum (Goff et al., 1997). De même, les vaches laitières développent un certain degré d'hypocalcémie lors de cette période car le déclenchement de la lactation nécessite une grande quantité de calcium qui n'est pas immédiatement disponible. Un relâchement de la tonicité des muscles du sphincter du canal du trayon est également suspectée.

✓ **INFLUENCE DES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DES AGNE ET DU BHB SUR LE RISQUE DE SURVENUE D'UNE MAMMITE**

Les résultats de l'étude de Moyes et al. (2009) ont montré que les vaches développant une mammite subclinique ou clinique dans les sept jours suivant la parturition ont une concentration plasmatique en AGNE avant la parturition supérieure aux vaches saines. De même, les vaches développant une mammite clinique dans les huit à 90 jours de lactation ont une concentration en AGNE supérieure aux vaches saines dans les deux semaines qui précèdent l'apparition de la mammite. Par conséquent, cette étude indique qu'une concentration élevée en AGNE est associée au développement de mammites en début de lactation. Une corrélation positive entre l'incidence des mammites dans les quatre premières semaines suivant la parturition et une concentration élevée en AGNE est également retrouvée dans l'étude de Janosi et al. (2003).

La concentration plasmatique des AGNE est un indicateur de l'intensité de la lipolyse ; les vaches qui développent une mammite pendant les premières semaines de la lactation mobilisent donc plus de tissu de réserve que leurs congénères non affectées. Il est donc intéressant d'explorer l'effet d'une concentration plasmatique élevée en AGNE sur la compétence immunitaire.

De même, les vaches contractant une mammite clinique ont une concentration plasmatique de BHB plus élevée dans la semaine avant la parturition (pour les mammites survenant dans les sept jours post-partum) et deux semaines avant l'apparition de la mammite (pour les mammites survenant de huit à 90 jours post-partum), (Moyes et al., 2009). Une concentration augmentée en BHB indique un degré de déficit énergétique plus grand et est ici associée au développement de mammite en début de lactation. Des vaches avec une

concentration en BHB supérieure à 1,0 mmol/L seraient prédisposées au développement d'une mammite dans les quatre premières semaines de la lactation (Janosi et al., 2003).

Une augmentation significative des corps cétoniques BHB et AcAc, et des AGNE associée à une diminution significative d'IGF-I, de T4 et de T3, est observée dans les échantillons sanguins prélevés un à trois jours après la mise bas chez les vaches développant des mammites dans les quatre semaines post-partum par rapport aux vaches non infectées. L'incidence des mammites causées par des bactéries dont la source est environnementale, qu'elles soient à Gram positif ou Gram négatif, est significativement plus grande parmi les vaches hypercétônémiques que les vaches dont ces valeurs sont dans l'intervalle des valeurs usuelles (Janosi et al., 2003). De plus, une mammite à *Escherichia coli* induite expérimentalement se révèle plus sévère chez une vache en cétose (valeur limite BHB à 1,00 mmol/L) que chez une vache normocétosique (Kremer et al., 1993).

Les mammites les plus rencontrées en début de lactation sont causées par des bactéries à Gram négatif. Les résultats précédents montrent que l'acétonémie est un facteur prédisposant aux mammites d'environnement (à germe Gram négatif en particulier). Cependant, d'autres facteurs entrent en jeu dans l'incidence de ces affections. Par exemple, *Staphylococcus aureus* est un agent qui colonise l'apex du trayon à la faveur de lésions de l'épithélium. Il faut donc garder en tête qu'il existe de multiples facteurs (température de l'environnement, infection virale, antécédents de mammites, traumatismes liés à la traite, érosions de l'épithélium...) autres que le déficit énergétique et l'acétonémie qui participent à la prédisposition aux mammites du début de la lactation et qui ne sont pas négligeables chez des vaches laitières hautes productrices.

✓ CONCENTRATION PLASMATIQUE EN ASAT ET MAMMITE

La concentration plasmatique de l'Aspartate AminoTransferase (ASAT) est un indicateur de la cytolyse hépatique ; de ce fait, elle peut servir d'indicateur indirect de la stéatose hépatique, conséquence d'un bilan énergétique négatif. L'étude de Moyes et al. (2009) a montré une corrélation positive ($p < 0,05$) entre une concentration plasmatique en ASAT plus élevée et le développement d'une mammite clinique dans les huit à 90 jours de lactation. Cependant, d'autres études n'ont pas trouvé d'association significative entre la concentration en ASAT et l'incidence des mammites (Janosi et al., 2003). L'ASAT n'est pas

un indicateur très spécifique et il est probablement trop peu sensible pour révéler les situations de déficit énergétique et évaluer indirectement le risque de développement des mammites.

✓ INFLUENCE DU TAUX DE CELLULES DANS LE LAIT

En créant deux groupes de brebis sélectionnées à partir des index génétiques de la concentration des cellules somatiques du lait (ou bien du Score de Cellules Somatiques = SCS qui est la valeur normalisée de ces concentrations), Rupp et al. (2009) ont mis en évidence que les brebis nées d'accouplement avec des béliers dont l'index génétique est favorable, ont une incidence plus faible de mammites cliniques et subcliniques et en conséquence, des CCS moins élevés. De plus, elles ont :

- une prévalence d'abcès de la mamelle et de mammites subcliniques plus faible, particulièrement autour de la mise bas ;
- une meilleure capacité à éliminer une infection intra-mammaire contractée pendant la lactation ;
- et un SCS plus bas dans les échantillons contenant une bactérie donnée, que ce soit à cause d'une moindre pénétration des bactéries dans le canal du trayon ou à cause de mécanismes de défense plus efficaces limitant la multiplication des bactéries.

Ces brebis auraient donc une meilleure capacité à contrôler les infections intra-mammaires durant la période péri-partum, à lutter contre les infections intra-mammaires pendant la lactation et à limiter le processus inflammatoire et ses conséquences cliniques.

Beaudeau et al. (2002) a étudié le risque de mammites dans différents troupeaux : les troupeaux ayant une forte proportion de vaches dont le taux cellulaire est bas (< 50 000 cellules/mL), ont un risque plus grand de développer des mammites cliniques.

Les résultats de ces deux études montrent donc une divergence entre l'étude à l'échelle de l'individu et à l'échelle du troupeau. Néanmoins, dans la deuxième étude, il n'est pas possible de savoir si les animaux à comptage cellulaire bas sont ceux atteints de mammite. De plus, toute la durée de la lactation est prise en compte dans la première étude alors que dans la deuxième, n'est pris en compte que l'intervalle de temps entre deux contrôles laitiers. Cependant, lorsque l'infection atteint une glande, il y a un recrutement cellulaire important dans la glande infectée qui provoque également un afflux cellulaire dans la glande adjacente.

Une glande saine aura alors moins de chance d'être nouvellement infectée qu'une glande infectée, car le recrutement cellulaire, même léger, protège contre une nouvelle infection.

Conclusion partielle : La période péri-partum est une période durant laquelle l'incidence des maladies métaboliques et infectieuses est accrue, provoquant une dégradation de la production, et les coûts associés sont loin d'être négligeables pour l'élevage. Les ruminants des filières laitières font face à un déficit énergétique physiologique plus ou moins sévère, caractérisé par des concentrations plasmatiques élevées en AGNE et en BHB. Ces métabolites représentent des facteurs de risque significatifs pour le développement des mammites, même si leur rôle causal direct n'est pas encore bien établi.

De nombreuses études se sont intéressées aux mécanismes qui altèrent la réponse immunitaire durant le début de lactation, en étudiant en particulier les possibles effets des métabolites tels que les AGNE et les corps cétoniques sur les fonctions immunitaires.

II. Relation entre déficit énergétique et fonctions immunitaires

1. Effets du bilan énergétique négatif sur l'immunité

La période péri-partum est une période où l'animal en production est sujet à un déficit énergétique physiologique. Or, c'est aussi une période à risque pour le développement d'un certain nombre de maladies métaboliques et de maladies infectieuses comme les mammites. La plupart des études s'intéressant à la relation entre le déficit énergétique et les fonctions immunitaires ont examiné les effets des métabolites associés à un déficit énergétique (AGNE, corps cétoniques) sur l'immunité. Certaines études ont étudié ces effets en provoquant le déficit par le biais d'une restriction alimentaire.

A. EFFETS DU DEFICIT ENERGETIQUE SUR LE SYSTEME IMMUNITAIRE

Les granulocytes neutrophiles constituent le type cellulaire majeur recruté dans le lait et les sécrétions mammaires lors d'une inflammation (Rivas et al., 2001). Leur capacité à migrer vers le site infectieux, c'est-à-dire leur capacité chimiotactique, et donc leur capacité à contrôler l'invasion des bactéries est essentielle pour le contrôle de l'infection et l'évolution de la mammite. Moyes et al. (2009) a soumis un groupe de vaches en milieu de lactation à une restriction alimentaire correspondant à 60% de leurs besoins pendant sept jours. Dans cette étude, aucun effet du déficit énergétique sur le chimiotactisme des neutrophiles *in vitro* n'a été détecté, en contradiction avec les résultats de Suriyasathaporn et al. (1999). Cependant, la concentration plasmatique moyenne en BHB des vaches de l'étude de Moyes et al. (2009) était de 0,70 mmol/L, ce qui est inférieur aux concentrations seuils de BHB mesurées dans l'étude de Suriyasathaporn et al. (1999) reflétant une cétose subclinique ou clinique. La capacité de phagocytose *in vitro* des neutrophiles était inférieure chez les vaches soumises à la restriction énergétique. La fonction phagocytaire serait donc plus affectée que le chimiotactisme lors d'un déficit énergétique. (Moyes et al., 2009)

Perkins et al. (2001) ont étudié l'expression des molécules d'adhésion des leucocytes chez des bœufs Holstein soumis à une restriction alimentaire. Ces molécules facilitent l'adhésion des cellules à l'endothélium vasculaire, et contrôlent donc la première étape de la migration des leucocytes vers les tissus infectés. Le déficit énergétique induit par la restriction (60% des besoins) ne diminue pas l'expression des molécules d'adhésion CD62L (molécule

requis par les leucocytes pour le contact initial avec l'endothélium vasculaire) et a peu d'effet sur l'expression de CD11b et CD18 ou du CMH de classe I. Ces résultats suggèrent que le déficit énergétique seul ne modifie pas significativement l'expression des molécules d'adhésion. Le bilan énergétique négatif agirait conjointement avec des changements métaboliques ou endocriniens liés à la mise bas. Cependant, les leucocytes utilisés dans cette étude proviennent de la circulation sanguine et sont donc dans un état de repos. CD11b et CD18 sont présents dans les granules des leucocytes et leur régulation se fait en présence d'un stimulus (chimioattractant libéré lors d'une infection ou de l'inflammation). Il serait donc plus approprié d'étudier l'expression de ces molécules à la suite d'un stimulus.

B. DES LIPIDES A L'ORIGINE DE LA RESOLUTION DE L'INFLAMMATION

L'inflammation fait partie des mécanismes de défense essentiels, qui sont requis lors d'une infection ou d'une lésion tissulaire pour permettre un retour à l'homéostasie. La régulation de la réponse inflammatoire résulte d'un équilibre délicat entre des rétrocontrôles positifs et négatifs. En effet, une réponse inflammatoire excessive peut être néfaste pour l'organisme et causer des dommages tissulaires irréversibles, voire si sévères qu'ils ne sont plus compatibles avec la fonction de l'organe, voire avec la vie. Depuis environ 40 ans, la recherche a surtout porté sur les facteurs d'initiation et d'entretien de l'inflammation avec pour objectif le développement de médicaments anti-inflammatoires inhibiteurs de la cascade inflammatoire. Depuis plus récemment, de nombreuses études se sont intéressées à la phase de résolution de l'inflammation dans le but de développer des molécules activant la terminaison de l'inflammation. Les molécules agonistes de la résolution aujourd'hui connues font partie de la famille des médiateurs pro-résolutifs spécialisés (Specialized Proresolving Mediators, SPM) : ce sont des médiateurs lipidiques tels que les lipoxines, les résolvines et les protectines. Les lipoxines sont dérivées de l'acide arachidonique (AG polyinsaturé oméga-6) par des réactions impliquant des lipoxygénases. Les résolvines et les protectines sont des dérivés d'AG polyinsaturés oméga-3 produits par des réactions impliquant des cyclo-oxygénases et des lipoxygénases (Russel et al., 2013).

✓ LES MEDIATEURS LIPIDIQUES DE LA RESOLUTION DE L'INFLAMMATION

La résolution de l'inflammation est une phase importante et active de la réponse inflammatoire accompagnée d'une restauration tissulaire : une dérégulation de cette phase peut entraîner des dommages importants et est impliquée dans la pathogenèse et les complications de certaines maladies infectieuses. Par exemple, lors d'un sepsis, il y a perte du contrôle homéostatique de la réponse inflammatoire dirigée contre l'agent infectieux, ce qui conduit à un état pro-inflammatoire et pro-coagulant, conduisant à une défaillance organique et la mort (Russel et al., 2013). Il serait donc intéressant de développer des stratégies thérapeutiques visant à limiter le trafic des leucocytes, stimuler l'apoptose des neutrophiles au sein des sites inflammatoires et de dommages tissulaires, et ainsi restaurer le micro-environnement à son état pré-inflammatoire. (Buckley et al., 2014) De plus, les SPM sont des molécules présentant des avantages par rapport aux stéroïdes aujourd'hui utilisés car elles n'ont pas de propriétés immunosuppressives.

De nombreuses études ont été conduites chez l'homme et chez la souris afin d'évaluer l'effet de l'administration de médiateurs lipidiques dans certaines maladies. Le tableau 3 ci-dessous résume leurs effets dans des modèles de rongeurs. On remarque notamment que le rôle des lipoxines varie en fonction de la maladie infectieuse. Dans le cas de la tuberculose, les souris transgéniques déficientes en 5-lipooxygénase (enzyme requise pour la production de lipoxines) contrôlent mieux l'infection, ont des concentrations pulmonaires plus élevées d'IL-12 et d'IFN- γ , et la mortalité est réduite chez ces animaux. (Bafica et al., 2005) Au contraire, lors d'une toxoplasmose, les souris incapables de produire la lipoxine A4 présentaient une mortalité plus élevée que les souris sauvages, avec des taux sériques d'IL-12 et d'IFN- γ plus grands. La mortalité observée chez ces souris pourrait être due aux dommages tissulaires causés par les cytokines malgré un meilleur contrôle du parasite (moins de portage parasitaire et moins de kystes cérébraux observés chez ces animaux). (Aliberti, 2002) L'IL-12 est produite par les cellules présentatrices d'antigène et a un rôle important dans le contrôle des agents pathogènes intracellulaires comme *Toxoplasma gondii*, mais en excès, l'IL-12 peut entraîner une immuno-pathologie. Chez la souris, la lipoxine A4 inhibe la production d'IL-12, ce qui empêcherait le développement d'une inflammation excessive, mais pourrait favoriser une infection chronique.

Les différents effets observés dans ces deux maladies sont expliqués par l'interaction hôte-agent pathogène. Le développement de phénomènes immuno-pathologiques est plus fort dans le cas de la toxoplasmose car le parasite se réplique rapidement et le risque d'inflammation excessive est plus grand d'où les effets bénéfiques de la production de lipoxines. Au contraire, *Mycobacterium tuberculosis* se réplique lentement et la réponse inflammatoire permet de contrôler l'infection et les dommages tissulaires causés par l'agent pathogène. (Russel et al., 2013)

Tableau 3 : Rôles des médiateurs lipidiques de la pro-résolution dans des maladies infectieuses (d'après Russell et al., 2013)

Infection	Modèle	Résultat
Lipoxines		
Influenza A	Souris	Sous-régulation de <i>SOCS2</i> (requis pour l'activité de la lipoxine) associée à une virulence plus élevée
Virus syncytial respiratoire	Souris	Déficit en 5-lipoxygénase (requis pour la production de la lipoxine) associé à une pathologie pulmonaire plus marquée
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Souris	La lipoxine contribue à la mortalité et à la charge mycobactérienne
<i>Toxoplasma gondii</i>	Souris	La lipoxine réduit la mortalité mais augmente la charge parasitaire
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Souris	15-epi-lipoxine A4 réduit la parasitémie et augmente la survie
<i>Plasmodium berghei</i> - ANKA	Souris	15-epi-lipoxine A4 augmente la survie
Périodontite (<i>Porphyromonas gingivalis</i>)	Lapin	La lipoxine réduit l'infiltration leucocytaire et la destruction osseuse
Résolvines		
Sepsis	Souris	La résolvine réduit la mortalité
Péritonite à <i>Escherichia coli</i>	Souris	La résolvine réduit la mortalité et stimule l'effet antimicrobien de la ciprofloxacine
Dermatite à <i>Staphylococcus aureus</i>	Souris	La résolvine stimule l'effet antimicrobien de la vancomycine
Sepsis post-brûlure	Rat	La résolvine réduit la mortalité
Pneumonie à <i>E. coli</i>	Souris	La résolvine réduit la sévérité des lésions histologiques de la pneumonie et la mortalité
Péritonite à <i>E. coli</i> associée à une affection pulmonaire aigue	Souris	La résolvine réduit la mortalité
Herpes virus simplex oculaire	Souris	La résolvine réduit la sévérité des lésions
Protectines		
Influenza A	Souris	La protectine réduit la réplication virale <i>in vitro</i> et augmente la survie <i>in vivo</i>

✓ ETUDES EXPERIMENTALES CHEZ LES RUMINANTS

La lipomobilisation intense qui a lieu au début de la lactation chez la vache laitière est associée à une augmentation du risque de maladies infectieuses. Cette lipomobilisation est un processus dynamique entre la lipolyse et la lipogenèse : en période péri-partum, la lipolyse est plus intense que la lipogenèse, et elle est associée à une libération d'AGNE dans la circulation sanguine. Contreras et al. (2012) ont étudié les effets des AGNE sur la réponse inflammatoire vasculaire. En effet, l'interaction entre les leucocytes et l'endothélium vasculaire est un processus déterminant en partie l'efficacité de la réponse inflammatoire lors d'une maladie infectieuse. La migration des leucocytes vers les tissus infectés se fait grâce à la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires (dont les interleukines) et l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales. Une fois la source de l'inflammation éliminée, des médiateurs anti-inflammatoires sont produits, l'expression des molécules d'adhésion est inhibée et il y a synthèse d'écossanoïdes qui participent à la résolution de l'inflammation. Les écosanoïdes sont des molécules lipidiques produites par les cellules endothéliales et les leucocytes suite à l'oxydation de dérivés d'AG poly-insaturés. La biosynthèse des écosanoïdes implique les enzymes cyclo-oxygénases et lipo-oxygénases. Certains écosanoïdes (leucotriènes, thromboxanes, prostaglandines) ont des propriétés pro-inflammatoires et d'autres (lipoxines, résolvines) promeuvent la résolution de l'inflammation : un déséquilibre entre ces deux types d'écossanoïdes fait partie de la pathogenèse de certaines maladies. (Serhan et al., 2008)

Des cellules endothéliales aortiques bovines ont été cultivées *in vitro* dans différentes concentrations d'AGNE reflétant les concentrations mesurées chez des vaches pendant la période de transition (Contreras et al. (2012). Il y a augmentation de l'expression de cytokines (IL-6 et IL-8), et de molécules d'adhésion (molécule d'adhésion intercellulaire ICAM1 et vasculaire VCAM1) dans les milieux contenant des AGNE par rapport aux milieux n'en contenant pas. Or, l'augmentation de l'expression de l'IL-6 et de l'IL-8 est associée à la pathogenèse des mammites cliniques causées par les coliformes (Aitken et al., 2011). Il y a, de plus, augmentation de dérivés réactifs de l'oxygène dans les milieux où la concentration des AGNE est élevée, et donc une augmentation du stress oxydatif. La supplémentation en AGNE entraîne également la synthèse de métabolites dérivés de l'acide linoléique connus pour avoir des propriétés pro-inflammatoires. Par conséquent, la modification des concentrations en AGNE peut stimuler le caractère pro-inflammatoire au sein des cellules endothéliales et donc altérer la réponse inflammatoire et la migration leucocytaire (Contreras

et al., 2012). Le déséquilibre énergétique auquel font face les vaches laitières en période de transition représente donc un facteur de risque pour des maladies inflammatoires d'origine infectieuse comme les mammites, métrites ou les infections du pied.

De plus, Contreras et al. (2012) se sont intéressés à l'influence de la composition en AG ω -3 sur la réponse inflammatoire de cellules endothéliales aortiques bovines. Celles-ci ont été cultivées soit dans un milieu dont la concentration en AG mime la concentration plasmatique en AGNE de la première semaine de lactation chez les vaches laitières, soit dans le même milieu supplémenté avec une plus forte proportion d'AG ω -3 (incluant les acides eicosapentanoïque et docosahexanoïque). En cultivant les cellules dans des milieux enrichis en AG ω -3, l'expression des cytokines pro-inflammatoires, de molécules d'adhésion et de dérivés réactifs de l'oxygène est diminuée. Les auteurs ont également observé une augmentation de la synthèse d'éicosanoïdes dont les résolvines, protectines et lipoxines. L'augmentation de la composition en AG ω -3 des cellules endothéliales promeut donc la synthèse d'éicosanoïdes activant la résolution de l'inflammation, ce qui atténuerait la réponse inflammatoire des cellules endothéliales, et pourrait de fait réduire la sévérité et la durée des maladies inflammatoires d'origine infectieuse des vaches périparturientes.

2. Effets des acides gras et des corps cétoniques sur l'immunité

L'animal en période de transition fait face à un déficit énergétique physiologique plus ou moins sévère. Il mobilise alors ses tissus de réserve, ce qui augmente les concentrations plasmatiques en AGNE et en corps cétoniques. L'hyper-cétonémie présente lors de la première semaine de lactation est un facteur de risque important de développement du déplacement de la caillette, de la cétose clinique et de la métrite à partir d'une concentration seuil de BHB comprise entre 1,2 et 1,4 mmol/L (Duffield et al., 2009). Certaines études se sont alors concentrées sur le rôle de ces métabolites sur les cellules du système immunitaire afin d'expliquer la forte incidence des maladies infectieuses en période péri-partum.

A. EFFETS DES AGNE SUR LES FONCTIONS DES LYMPHOCYTES

Lacetera et al. (2003) ont étudié l'effet *in vitro* de différentes concentrations d'AGNE sur les fonctions des lymphocytes prélevés chez des génisses en milieu de gestation. La

synthèse d'ADN par les cellules mononucléées (lymphocytes, monocytes, macrophages) est significativement diminuée avec des concentrations en AGNE de 2 ; 1 et 0,5 mmol/L. Les IgM sont des immunoglobulines sécrétées par les plasmocytes lors du premier contact de l'organisme avec un antigène (bactérie, virus...). L'IFN- γ est un interféron de type II, c'est une cytokine principalement sécrétée par les lymphocytes T (portant les récepteurs CD4 ou CD8) et les cellules natural killer (NK). Sa fonction principale est d'activer les cellules NK, les macrophages et les lymphocytes cytotoxiques. L'IFN- γ a notamment des propriétés immunomodulatrices. La sécrétion d'IgM par les lymphocytes B est inhibée à 2 ; 1 ; 0,5 et 0,25 mmol/L d'AGNE et la sécrétion d'IFN- γ est diminuée à 1 ; 0,5 ; 0,25 et 0,125 mmol/L d'AGNE (sécrétion non détectable à 2 mmol/L d'AGNE). Ces résultats montrent que l'augmentation de la concentration plasmatique en AGNE a probablement des effets négatifs sur les fonctions lymphocytaires.

Lacetera et al. (2002) ont également étudié les effets *in vitro* des AGNE et du BHB sur les fonctions des cellules mononucléées chez les ovins. La synthèse d'ADN était inhibée par des concentrations en AGNE de 2 ; 1 ; 0,5 et 0,25 mmol/L, utilisés seuls ou en association avec différentes concentrations de BHB (de 0,45 à 3,6 mmol/L). La sécrétion d'IgM était significativement diminuée par toutes les concentrations en AGNE et par toutes les combinaisons d'AGNE et de BHB, quelles que soient les concentrations. L'atteinte des fonctions des cellules mononucléées (prolifération et synthèse de facteurs solubles) semble être plus associée à une augmentation de la concentration plasmatique en AGNE qu'à une augmentation du BHB. La sensibilité de ces cellules aux AGNE semble également plus marquée chez les ovins que chez les bovins, d'après ces deux expériences.

B. EFFETS DU BHB SUR LE CHIMIOTACTISME DES LEUCOCYTES

Suriyasathaporn et al. (1999) se sont intéressés aux effets *in vitro* des corps cétoniques sur les capacités chimiotactiques des leucocytes. Le chimiotactisme des leucocytes correspond à la migration leucocytaire en réponse à des stimuli tels qu'un gradient chimique de concentration ou des produits formés lors d'une réaction immunologique. Ce processus intervient notamment dans le cas d'une inflammation. La résolution d'une infection est fortement liée à la rapidité de l'influx de ces cellules vers le foyer de l'inflammation. Chez des animaux hypercétonémiques, les leucocytes doivent migrer dans un environnement où les

concentrations des corps cétoniques sont plus élevées. Or, la sévérité des mammites à *E. coli* est plus marquée chez des animaux hypercétonémiques (Kremer et al., 2003). On peut donc se demander si le chimiotactisme des leucocytes est altéré chez ces animaux.

La première expérience de Suriyasathaporn et al. (1999) fut d'étudier le chimiotactisme chez des vaches dont la concentration de BHB est faible ($BHB < 0,8 \text{ mM}$), moyenne ($0,8 \text{ mM} < BHB < 1,6 \text{ mM}$) ou élevée ($BHB > 1,6 \text{ mM}$). Le différentiel de chimiotactisme *in vitro* est plus faible chez les vaches dont la concentration de BHB est élevée par rapport à celles dont la concentration est faible. Dans l'étude de Kremer et al. (2003), la réponse chimiotactique des leucocytes est négativement corrélée à la sévérité de la mammité induite expérimentalement chez les animaux non-cétosiques ($BHB < 1,4 \text{ mmol/L}$) mais aucune relation n'a été mise en évidence chez les animaux en cétose. De plus, la capacité chimiotactique n'est pas altérée chez les animaux cétosiques (cétose provoquée par une restriction alimentaire de quatre jours). La question est donc posée si la différence de résultats entre les deux études vient du fait que l'acétonémie est induite et présente depuis peu de temps dans l'étude de Kremer et al. (2003), alors que dans l'étude de Suriyasathaporn, il s'agit de vaches entre cinq et dix semaines post-partum qui sont susceptibles d'avoir présenté un déficit énergétique physiologique au début de la lactation.

Suriyasathaporn et al. (1999) ont ensuite étudié l'effet *in vitro* des corps cétoniques (BHB, AcAc et acétone) sur le chimiotactisme. Les différentiels chimiotactiques ont été évalués en utilisant des leucocytes provenant de vaches dont la concentration sanguine de BHB était faible ou élevée. Les concentrations des corps cétoniques dans les différents milieux ont ensuite été ajustées afin de simuler celles retrouvées dans les cas de cétooses subclinique ou clinique. Le différentiel chimiotactique des leucocytes provenant des vaches avec des concentrations de BHB faibles, dans le milieu correspondant à un niveau de cétose clinique, est significativement plus faible que dans le milieu correspondant à une situation de cétose subclinique.

La cétose est donc associée à une dégradation des effets chimiotactiques, que ce soit en utilisant des leucocytes provenant de vaches en cétose ou en utilisant un milieu complété en corps cétoniques. Un retard dans le recrutement des neutrophiles vers la glande mammaire infectée diminue les capacités de défense de l'hôte contre les agents pathogènes et peut être suspecté comme étant un facteur aggravant la sensibilité aux mammites (Cerone et al., 2007). Les mécanismes responsables de l'altération du

chimiotactisme des leucocytes restent encore mal connus. Les leucocytes nécessitent cependant de l'énergie pour pouvoir se déplacer et ils utilisent préférentiellement le glucose comme source d'énergie (Weisdorf et al., 1982). Suriyasathaporn a émis l'hypothèse que le potentiel chimiotactique est relié aux activités enzymatiques des leucocytes pour métaboliser le glucose. En effet, en situation de déficit énergétique et donc de concentration de BHB élevée, l'activité des enzymes du métabolisme du glucose serait diminuée et, dans des milieux de concentration en glucose identiques, le chimiotactisme des leucocytes provenant de vaches en cétose serait alors altéré. Dans la deuxième expérience, les leucocytes provenant de vaches dont la concentration en BHB est élevée auraient une activité des enzymes métabolisant le glucose insuffisante, mais ils utiliseraient les corps cétoniques comme seconde source d'énergie. Leur capacité chimiotactique serait donc moins altérée dans un milieu enrichi en corps cétoniques contrairement aux leucocytes provenant de vaches dont la concentration du BHB était faible, et qui eux, métaboliseraient en priorité le glucose. De même, Franklin et al. (1991) a observé que l'effet des corps cétoniques sur la prolifération *in vitro* des lymphocytes variait suivant la concentration en glucose du milieu : la prolifération des lymphocytes dans des milieux contenant des corps cétoniques était diminuée à des concentrations de glucose faibles, alors que des milieux contenant des concentrations en BHB et AcAc correspondant à des niveaux de cétose sévère n'inhibent pas la prolifération des lymphocytes.

Le chimiotactisme des leucocytes est influencé par la concentration plasmatique en BHB : la réponse immunitaire peut alors être altérée chez une vache cétosique, notamment lors d'une infection mammaire. La glycémie est également un facteur à prendre en compte car la prolifération lymphocytaire est diminuée chez un animal hypoglycémique. Le système immunitaire d'un animal en période péri-partum serait par conséquent moins compétent en situation de déficit énergétique, lorsque la glycémie est plus basse et les concentrations en corps cétoniques plus élevées du fait de la lipomobilisation.

C. EFFETS DU BHB SUR LA FONCTION DES LEUCOCYTES DU LAIT

Lorsque la lipomobilisation est sévère chez la vache laitière, on observe également une augmentation des concentrations plasmatiques du BHB et des deux autres corps cétoniques. Une cétose, qu'elle soit subclinique ou clinique, conduit également à une augmentation des concentrations des corps cétoniques dans les tissus et dans le lait (Enjalbert et al., 2001). De plus, les symptômes de mammites sont plus marqués chez des vaches avec une cétose sévère

(Kremer et al., 1993). C'est pourquoi il est intéressant d'évaluer les effets du BHB sur l'immunité de la glande mammaire car les leucocytes présents dans le lait doivent, de même que les leucocytes sanguins, agir dans un environnement riche en corps cétoniques. Afin de mieux comprendre les études portant sur l'évaluation des fonctions des phagocytes, sont développés ci-dessous les mécanismes de la phagocytose et de la bactéricidie.

Lors de la colonisation de la glande mammaire par une bactérie, les premières cellules à reconnaître et à phagocyter les agents pathogènes sont les granulocytes neutrophiles et les macrophages. Les leucocytes et les cellules épithéliales libèrent des facteurs chimio-attractants comme les chimiokines et les cytokines, ce qui induit une migration des leucocytes sanguins (Suriyasathaporn et al., 2000). La migration des neutrophiles du sang vers le parenchyme mammaire survient 2 à 4 heures après l'infection et le pic de migration dans le lait est atteint 8 à 12 heures après l'infection. La destruction des bactéries par les cellules phagocytaires met en jeu différents mécanismes : des mécanismes de lyse dépendant de l'oxygène et des mécanismes indépendants (Revillard, 2001).

✓ *Mécanismes de la lyse dépendant de l'oxygène :*

L'oxygène O_2 est transformé en anions superoxydes par une oxydase dépendant du NADPH. Il y a par la suite production d'oxygène singulet O_2^* et de radicaux hydroxyle OH^\cdot . Certains de ces dérivés sont toxiques pour la bactérie et, en excès, ils deviennent également toxiques pour les phagocytes et les cellules à proximité, dont les cellules épithéliales.

Il y a également formation de dérivés oxydés de l'azote dans les macrophages, donnant naissance à du monoxyde d'azote (NO) toxique pour les bactéries, et pouvant lui-même être transformé en dérivés très toxiques.

Enfin, après fusion des phagosomes (vacuole formée lors de la phagocytose) avec des lysosomes, la myéloperoxydase présente dans les granules du lysosome va catalyser la réaction de formation de dérivés de l'oxygène toxiques (comme l'acide hypochloreux).

Ces mécanismes de lyse sont donc à l'origine de la formation de dérivés réactifs de l'oxygène. Ces dérivés doivent ensuite être éliminés (par des enzymes comme la superoxyde dismutase, la catalase,...) afin de prévenir les dommages cellulaires qu'ils peuvent engendrer. L'évaluation de l'activité oxydative des phagocytes peut notamment être réalisée par le test de réduction au nitrobleu de tétrazolium. (Cerone et al., 2007)

✓ Mécanismes de lyse indépendants de l'oxygène :

Plusieurs mécanismes de lyse utilisent le contenu des granules présents dans les phagocytes et qui est déversé dans les phagosomes. Ces granules contiennent des molécules bactéricides comme les défensines (peptides antibiotiques s'insérant dans les bicouches lipidiques de certains micro-organismes) ou encore la Bacterial Permeability Increasing Protein (BPI). De même, sont mis en jeu la lactoferrine, la collagénase (hydrolyse des collagènes de la matrice extracellulaire) ou le lysozyme (enzyme hydrolysant les liaisons glycosidiques de la paroi de certaines bactéries à Gram positif).

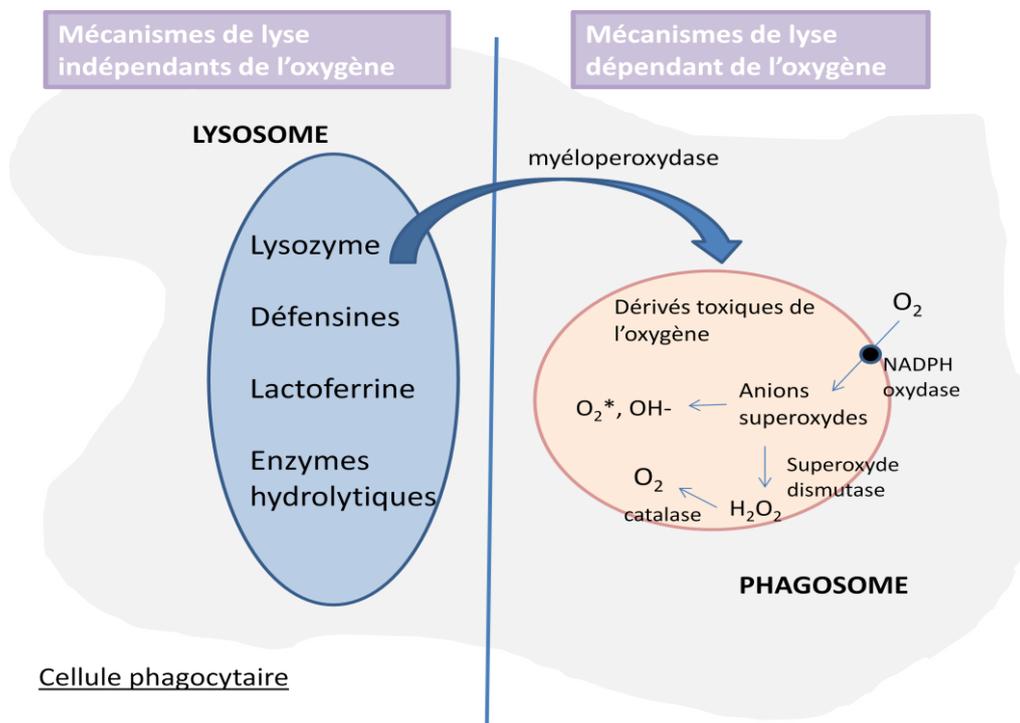


Figure 6 : Schématisation des mécanismes de bactéricidie lors de la phagocytose

Cerone et al. (2007) ont étudié l'effet *in vitro* de différentes concentrations de BHB sur les fonctions des macrophages et des neutrophiles du lait, cellules qui constituent la première ligne de défense contre les agents pathogènes de la glande mammaire. Les valeurs seuils utilisées afin de mimer une situation de cétose subclinique et de cétose clinique sont respectivement de 70 $\mu\text{mol/L}$ et 200 $\mu\text{mol/L}$. Le chimiotactisme des neutrophiles prélevés dans le lait, et incubés dans des milieux dont la concentration en BHB est similaire à celle de vaches en cétose subclinique et clinique, est significativement diminué par rapport à ceux incubés dans des milieux n'en contenant pas. De même, la phagocytose par les macrophages

dans les cultures contenant 70 et 200 $\mu\text{mol/L}$ de BHB est diminuée respectivement de 15% et 18% par rapport aux cultures qui en sont dépourvues. Klucinsky et al. (1988) avait également montré que la phagocytose des bactéries par les neutrophiles et les macrophages du lait, qui avaient été incubés dans de l'acétone ou du BHB, était diminuée par rapport aux conditions de culture qui en étaient exemptes. La production de H_2O_2 par les macrophages est également diminuée de 25% et 33%. Le test de réduction au nitrobleu de tétrazolium appliqué à des macrophages incubés dans des milieux avec 200 $\mu\text{mol/L}$ de BHB est diminué de 30% par rapport au milieu sans BHB. Ces résultats indiquent une diminution de la migration et donc du recrutement local des neutrophiles lors de cétose. Or, les neutrophiles sont les cellules prédominantes en début d'infection de la glande mammaire (Rivas et al., 2001). Il y a un effet inhibiteur du BHB sur la phagocytose des macrophages et une baisse de la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène qui ont une activité bactéricide. Une explication possible de l'altération des fonctions des phagocytes proposée par ces auteurs serait l'interaction de groupes alcool et carboxyle du BHB avec les récepteurs spécifiques des macrophages en formant des liaisons hydrogène. Ces récepteurs spécifiques interviennent dans la phagocytose et les interactions entre cellules.

3. Effets du glucose et de la glutamine sur l'immunité

A. STIMULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE PAR LE GLUCOSE

Le glucose est la source énergétique utilisée pour la prolifération, la survie et la différenciation des cellules phagocytaires. C'est la source préférentielle utilisée par les granulocytes neutrophiles activés, les macrophages et les lymphocytes activés lors d'inflammation, avant les corps cétoniques, les acides gras et les acides aminés (Weisdorf et al., 1982 ; Pithon-Curi et al., 2004). Or, les vaches laitières connaissent parfois une phase d'hypoglycémie plus ou moins marquée durant la période de transition. La phagocytose de *Pseudomonas aeruginosa* par des macrophages ne se fait qu'en présence de D-glucose ou de D-mannose ; en outre, en inhibant les transporteurs du glucose, la phagocytose de *P. aeruginosa* est bloquée (Barghouthi et al., 1995). A la suite d'un challenge intra-mammaire avec *Streptococcus uberis*, Moyes et al. (2009) ont observé une augmentation des concentrations plasmatiques du glucose et de l'insuline alors que la prise alimentaire n'est pas modifiée. Les auteurs pensent que cette augmentation est liée à une stimulation de la

néoglucogénèse hépatique et de la glycolyse ou bien à une diminution de l'utilisation du glucose par les tissus périphériques, ceci conduisant à une augmentation du glucose disponible pour les cellules phagocytaires durant le processus inflammatoire.

La disponibilité du glucose est importante pour le maintien des fonctions des cellules immunitaires et une concentration plasmatique faible du glucose pendant le début de la lactation peut par conséquent altérer les fonctions immunitaires et augmenter le risque de développement de maladies infectieuses chez ces animaux.

B. STIMULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE PAR LA GLUTAMINE

La glutamine est un acide aminé servant de précurseur à la synthèse de purine et de pyrimidine, et à la production de NADPH. Il participe à la production des ions superoxydes dans les phagocytes, et à la production d'oxyde nitrique par les macrophages. (Ingvarsen and Moyes, 2012).

Une supplémentation du milieu *in vitro* en glutamine augmente la phagocytose par les neutrophiles ainsi que la production d'intermédiaires des dérivés réactifs de l'oxygène chez des patients humains après une intervention chirurgicale (Furukawa et al., 2000). L'étude de Pithon-Curi et al. (2004) montre que la glutamine est également utilisée par les leucocytes en tant que source d'énergie mais que le rapport des quantités consommées glucose/glutamine durant la première heure d'incubation des cellules est de 0,3 pour les lymphocytes, 0,5 pour les neutrophiles et de 1,5 pour les monocytes. Cependant, ces trois types de cellules utilisent une plus grande quantité de glucose sur une période de 48h de culture : le glucose reste donc le substrat préférentiel pour ces cellules.

La glutamine sert également à la synthèse de cytokines (IL-1 β et IL-6) par les macrophages et les monocytes ; elle est importante pour la phagocytose et la production d'intermédiaires de dérivés réactifs de l'oxygène chez les rongeurs et l'homme. (Wallace et al., 1992 ; Yassad et al., 1997) La glutamine améliore également la fonction bactéricide des neutrophiles (Ogle et al., 1994).

Doepel et al. (2006) ont administré de la glutamine dans la caillette de vaches Holstein pendant les trois premières semaines de la lactation, afin d'étudier l'effet de la supplémentation duodénale en glutamine sur les fonctions immunitaires. L'administration de

glutamine n'a pas d'effet sur les concentrations plasmatiques en glucose, NEFA ou BHB, mais augmente la concentration plasmatique en glutamine. Il y a alors une augmentation de la quantité de cellules T CD4+, mais pas de modification de la quantité de cellules T CD8+, ni de modification de la prolifération des lymphocytes T.

4. Tableau récapitulatif des effets sur les fonctions immunitaires des leucocytes

Cf. le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4 : Effets du déficit énergétique, des AGNE, des corps cétoniques, du glucose et de la glutamine sur les fonctions immunitaires des leucocytes

	Inhibition	Stimulation	Références
Déficit énergétique	- Phagocytose par les neutrophiles		<i>Suriyasathaporn et al., 1999</i>
Acides Gras Non Estérifiés	- Synthèse d'ADN par les cellules mononucléées (Bovins et Ovins) - Sécrétion d'IgM par les lymphocytes (Bovins et Ovins) - Sécrétion d'IFN- γ		<i>Lacetera et al., 2003</i> <i>Lacetera et al., 2002</i>
Corps cétoniques	- Chimiotactisme des leucocytes - Prolifération des lymphocytes à concentrations faibles en glucose - Chimiotactisme des neutrophiles du lait - Phagocytose par les neutrophiles et macrophages du lait - Production par les macrophages du lait de radicaux libres dérivés de l'oxygène		<i>Suriyasathaporn et al., 1999</i> <i>Franklin et al., 1991</i> <i>Cerone et al., 2007</i> <i>Klucinsky et al., 1988</i>
Glucose		- Prolifération, survie et différenciation des cellules phagocytaires - Phagocytose par les macrophages	<i>Weisdorf et al., 1982</i> <i>Pithon-Curi et al., 2004</i> <i>Barghouthi et al., 1995</i>
Glutamine		- Phagocytose par les neutrophiles - Production d'intermédiaires des dérivés réactifs de l'oxygène - Synthèse de cytokines par les macrophages et monocytes - Amélioration de la fonction bactéricide des neutrophiles - Augmentation de la quantité de cellules T CD4+	<i>Furukawa et al., 2000</i> <i>Wallace et al., 1992</i> <i>Yassad et al., 1997</i> <i>Ogle et al., 1994</i>

III. Déficit énergétique et réponse immunitaire mammaire

L'incidence et la sévérité des maladies infectieuses est plus grande lors de la période de transition. En effet, l'augmentation des concentrations plasmatiques en AGNE et BHB altère la réponse du système immunitaire en modifiant notamment certaines fonctions des leucocytes (chimiotactisme, phagocytose). Nous allons maintenant voir que le déficit énergétique est également à l'origine de la perturbation de l'expression de certains gènes. Nous considérerons l'exemple de l'infection de la glande mammaire, ou mammite, car c'est une maladie d'importance dans la période péri-partum, non seulement du fait de sa fréquence mais aussi de son impact économique.

1. Infection et immunité de la glande mammaire

Il est important de comprendre les mécanismes de défense de la glande mammaire et de décrire les différents facteurs qui agissent de concert pour protéger la glande vis-à-vis des infections, avant de s'intéresser à l'influence du déficit énergétique sur ces fonctions.

L'augmentation de la production laitière des animaux n'a pas été sans conséquence sur l'incidence des mammites. La sélection génétique a augmenté le stress métabolique dû à la forte exportation d'énergie nécessaire pour la synthèse du lait ; la capacité de production est négativement corrélée à la résistance aux mammites (Heringstad et al., 2007). Les mammites sont responsables de pertes économiques élevées, par la diminution de la quantité et de la qualité du lait, les coûts du traitement et de la réforme précoce des animaux infectés de façon chronique.

L'objet de cette partie est de faire la synthèse des modifications des mécanismes de défense de la glande mammaire qui pourraient contribuer à l'accroissement des infections mammaires autour de la période critique de la transition, et le lien avec les facteurs mobilisés lors d'une infection bactérienne.

A. LES MECANISMES DE DEFENSE ANATOMIQUES

Une mammite est une inflammation de la glande mammaire le plus souvent liée à la colonisation, généralement ascendante, d'au moins un quartier par un agent infectieux. La première ligne de défense rencontrée par un agent pathogène est composée du canal du trayon : l'extrémité possède des sphincters musculaires qui permettent une fermeture quasi hermétique de son orifice entre les traites. Le canal est recouvert d'une couche kératinisée qui a des propriétés antimicrobiennes ; l'accumulation de kératine empêche l'entrée des bactéries. (Goff et al., 1997) Des AG estérifiés et non estérifiés (linoléique, palmitoléique) ont une activité bactériostatique associée à la kératine (Oviedo-Boयोso, 2006). Avant la parturition, l'extrémité du trayon est soumise à une pression plus grande due à l'accumulation de colostrum, ce qui peut dilater le canal, provoquer l'ouverture du sphincter et augmenter le risque d'entrée de bactéries à la suite de l'évacuation du bouchon de kératine. De plus, les machines à traire peuvent causer des lésions traumatiques du trayon, favorisant la colonisation bactérienne.

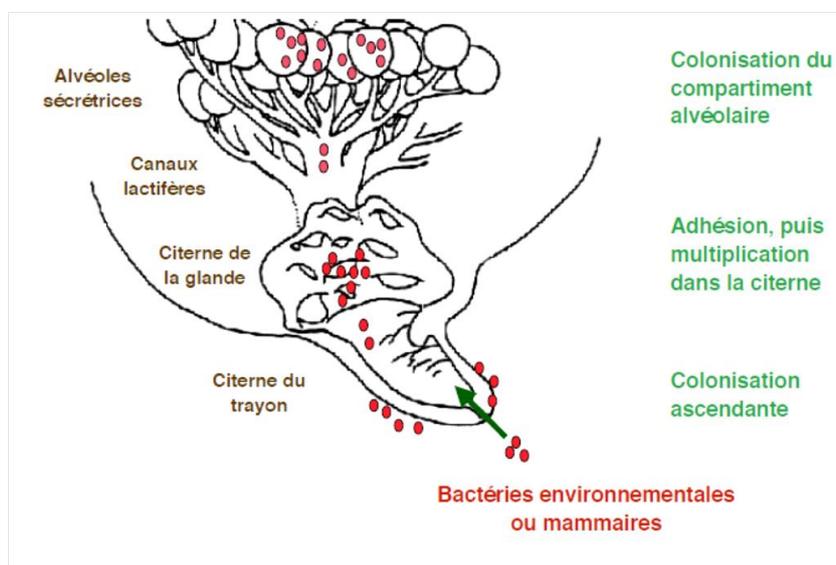


Figure 7 : Colonisation ascendante de la glande mammaire par des bactéries (d'après Bergonier D.) Les microorganismes franchissent le canal du trayon, remontent jusqu'à la citerne de la glande où ils se multiplient et envahissent le tissu mammaire. Le processus inflammatoire conduit à une augmentation du nombre de cellules somatiques et à l'apparition de signes cliniques.

B. LES MECANISMES DE DEFENSE CELLULAIRES

La glande mammaire est protégée par les acteurs des réponses immunitaires innée et adaptative. L'efficacité de ces réponses détermine la sensibilité ou la résistance de la glande aux infections. (Sordillo, 2005) L'immunité adaptative ou spécifique, dite aussi acquise, reconnaît des déterminants spécifiques d'un agent pathogène, ce qui promeut son élimination. Les lymphocytes peuvent reconnaître une variété d'antigènes par des récepteurs membranaires définissant leur spécificité, leur diversité et la mémoire du système immunitaire. En cas de mammites, les lymphocytes prédominants sont les lymphocytes T CD4+, activés par la reconnaissance de complexes moléculaires. Le complexe de reconnaissance moléculaire est formé par l'antigène, sous la forme d'un peptide et de la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II à la surface des cellules présentatrices d'antigène, les lymphocytes B et les macrophages. Grâce aux lymphocytes dits « mémoires », la phase de latence de la réponse immunitaire spécifique est très diminuée lors d'une nouvelle infection ou d'infections répétées ; lors de la primo-infection, elle est d'environ sept jours.

L'immunité innée fait intervenir des modules constitutifs (barrière peau-muqueuse) et des modules induits (cellules phagocytaires : neutrophiles, macrophages, cellules NK). La réponse innée est activée rapidement au site de l'infection : elle est constituée d'une phase de migration leucocytaire suivie de la phagocytose des particules infectieuses, puis de la digestion des germes au sein des phagolysosomes. Une glande mammaire saine contient majoritairement des lymphocytes alors qu'une glande infectée contient en majorité des granulocytes neutrophiles (Rivas et al., 2001). On observe une augmentation rapide du nombre de cellules somatiques (neutrophiles) dans le lait lors d'une mammites. La migration des neutrophiles du compartiment circulatoire vers le tissu mammaire se fait suite à l'intervention de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α et l'IL-1 β , qui stimulent en outre l'activité bactéricide des neutrophiles et produisent des leucotriènes et prostaglandines, augmentant la réaction inflammatoire locale (Oviedo-Boyso, 2006). Les cellules épithéliales mammaires jouent également un rôle dans le recrutement des neutrophiles en induisant la synthèse de TNF- α , d'IL-6 et de la chimiokine IL-8 provoquée par l'interaction des bactéries avec ces cellules.

✓ **LA REPONSE IMMUNITAIRE LORS D'UNE INFECTION BACTERIENNE DE LA
GLANDE MAMMAIRE**

Les mécanismes de défense immunitaires de la glande mammaire sont activés de différentes manières selon le type d'agent pathogène. Les conséquences d'une infection intramammaire peuvent être aiguës, chroniques et s'exprimer cliniquement ou pas ; les infections aiguës sont généralement associées à des signes cliniques sévères.

L'induction de la réponse immunitaire innée débute par la reconnaissance de molécules bactériennes appelées Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP) ou motifs moléculaires associés aux agents pathogènes grâce à des récepteurs exprimés par les leucocytes présents dans le lait ou par les cellules épithéliales de la glande mammaire. Les récepteurs les plus connus font partie du groupe des Récepteurs Toll-Like (TLR pour Toll-Like Receptor). Lorsqu'ils sont activés, il y a transcription de plusieurs immunomodulateurs. Un autre récepteur connu est le CD14, exprimé par des neutrophiles et les macrophages présents dans la glande mammaire, qui lie les complexes lipopolysaccharide (LPS)-protéine et induit la synthèse et la libération de Facteur de Nécrose Tumorale (TNF- α). (Wellnitz et al., 2012) TNF- α est un facteur important dans l'initiation de la réponse immunitaire et est à l'origine de la fièvre et du choc endotoxinique dans les cas aigus de mammite à *Escherichia coli* (Sordillo and Peel, 1992).

Après reconnaissance de l'agent pathogène, la croissance bactérienne est inhibée grâce à la migration des leucocytes de la circulation sanguine vers le tissu mammaire (intervention de chimiokines comme l'IL-8). Les neutrophiles sont le type cellulaire prédominant au début de l'infection mammaire (Rivas et al., 2001) ; ils phagocytent et détruisent les bactéries grâce à l'action d'ions superoxyde, de peroxyde d'hydrogène, d'hypochlorite, d'enzymes hydrolytiques et de divers facteurs solubles (lactoferrine, défensines...). (Revillard, 2001)

✓ **COMPARAISON ENTRE MAMMITE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ET MAMMITE A
*ESCHERICHIA COLI***

La plupart des mammites sont causées par des bactéries, qu'elles soient à Gram positif ou négatif : les deux bactéries les plus souvent mises en cause étant *Escherichia coli* et

Staphylococcus aureus. Cependant, la réponse immunitaire diffère en fonction de l'agent responsable de la mammité et des toxines associées.

Les mammites à *S. aureus* sont le plus souvent subcliniques et chroniques, contrairement aux mammites causées par les coliformes qui sont plus souvent aiguës et sévères. Elles sont caractérisées par une augmentation modérée de la concentration des cellules somatiques (CCS) du lait. Plusieurs composés à l'origine de la stimulation de la réponse immunitaire ont été identifiés chez les organismes à Gram positif : des lipoprotéines, des peptidoglycanes et l'acide lipotéichoïque (LTA). Le LTA est un constituant de la paroi bactérienne reconnu par le TLR-2. (Wellnitz et al., 2012) *In vitro*, des cellules épithéliales de la glande mammaire incubées avec *S. aureus* inactivé par la chaleur induisent l'expression de TNF- α , IL-6 et IL-8 (après 6 heures d'incubation) : les cellules épithéliales mammaires sont supposées jouer un rôle important dans l'initiation de la réponse immunitaire en induisant l'expression de cytokines et de protéines de la phase aiguë (Wellnitz et al., 2006).

In vitro, l'incubation pendant une heure de cellules épithéliales mammaires avec des bactéries *E. coli* inactivées par la chaleur, entraîne une augmentation de l'expression d'ARNm codant IL-8. On observe également *in vivo* une augmentation de la production d'IL-8 dans le lait 4 à 24 h après l'inoculation d'*E. coli*, celle-ci est beaucoup moins marquée lors d'une infection à *S. aureus*. (Wellnitz et al., 2006) L'IL-8 ne provient pas seulement des leucocytes mais aussi des cellules épithéliales mammaires. L'IL-8 a un impact chimiotactique élevé sur les granulocytes neutrophiles, ce qui expliquerait notamment l'augmentation rapide et marquée des CCS lors des infections dues à une bactérie coliforme. La sévérité des mammites à coliformes (dont la fièvre) dépend notamment de la quantité de TNF- α libérée. Le composant pathogène majeur des bactéries à Gram négatif comme *E. coli* est le lipopolysaccharide (LPS), un constituant de la membrane externe de la paroi bactérienne. Le LPS interagit avec le récepteur TLR-4 exprimé à la surface des cellules de l'épithélium mammaire et entraîne la libération de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α), de protéines antimicrobiennes (lactoferrine, lysozyme) et de médiateurs lipidiques (augmentation de la synthèse par augmentation de l'expression de la cyclooxygénase-2). (Schmitz et al., 2004)

2. Expression différentielle de gènes lors d'un déficit énergétique

Plusieurs études se sont intéressées aux effets du déficit énergétique sur l'expression des gènes dans le tissu mammaire mais aussi dans des tissus périphériques comme la rate, les organes lymphoïdes, ou le foie, organe particulièrement sollicité et central lors d'un déficit énergétique.

A. EXPRESSION DIFFERENTIELLE DE GENES AVEC OU SANS EPREUVE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE

Le lien entre le déficit énergétique et la sensibilité aux mammites n'est pas clair, d'où l'intérêt de travaux pour examiner l'influence du déficit énergétique sur l'expression de gènes impliqués dans la fonction immunitaire et le métabolisme cellulaire, et qui pourraient prédisposer les animaux aux infections comme les mammites.

✓ EXPRESSION GENIQUE SANS EPREUVE INTRA-MAMMAIRE

Une restriction alimentaire chez des vaches laitières en milieu de lactation est le modèle le plus fréquemment utilisé pour mimer un déficit énergétique, en s'affranchissant de l'influence sur l'immunité des changements hormonaux et physiologiques qui sont présents en péri-partum. Moyes et al. (2010) a identifié 279 gènes exprimés différemment dans la glande mammaire hors infection entre des vaches dont seulement 60% des besoins étaient couverts (sur une durée de sept jours) et des vaches non restreintes. Les gènes dont l'expression est augmentée correspondent à des gènes régulant le métabolisme lipidique et les molécules de transport, alors que les gènes dont l'expression est diminuée correspondent à des gènes régulant la croissance et la prolifération cellulaire, la mort cellulaire et qui pourraient donc être associés au risque accru de mammite. Dans des glandes mammaires non infectées, le déficit énergétique ne semble pas altérer l'expression des gènes impliqués dans la réponse immunitaire et le métabolisme cellulaire. La fonction immunitaire est-elle modifiée après une infection intra-mammaire ?

✓ EXPRESSION GENIQUE APRES EPREUVE INFECTIEUSE MAMMAIRE

Moyes et al. (2011) a ensuite comparé les profils d'expression génique des granulocytes neutrophiles sanguins suite à une infection intra-mammaire avec *Streptococcus uberis*, chez des vaches restreintes à 60% et chez des vaches nourries à volonté. Vingt-quatre heures après l'épreuve intra-mammaire, des gènes impliqués dans la réponse immunitaire ont une expression modifiée chez les vaches en déficit énergétique. Les gènes dont l'expression est augmentée sont liés à la réponse immunitaire : la cytokine IL-6, le récepteur de l'IL-1, IL1R2, les molécules de reconnaissance TLR2 et TLR4, et la synthèse des leucotriènes ainsi que l'activation des cellules T. Les gènes dont l'expression est diminuée sont associés à la présentation d'antigène (HLA-DRA = CMH de classe II, présentation d'antigène aux lymphocytes CD4), au mécanisme oxydatif SOD1 (superoxyde dismutase 1), et à la réponse pro-inflammatoire TNF et IRAK1 (IL-1 Receptor-Associated Kinase), qui est associé à la cascade inflammatoire de NF- κ B.

Une autre étude de Moyes et al. (2009) avaient déjà observé que les mécanismes affectés par un déficit énergétique lors d'une infection intra-mammaire par *S. uberis* sont la réponse inflammatoire et le développement cellulaire. En effet, l'expression de la majorité des gènes impliqués dans la croissance, la prolifération et le développement cellulaire est diminuée dans le tissu mammaire de vaches infectées lorsqu'elles ont un déficit énergétique. Les profils d'expression génique reliés au récepteur aux glucocorticoïdes montrent une sur-expression des mécanismes anti-inflammatoires chez ces mêmes animaux (augmentation de la régulation de gènes anti-inflammatoires, diminution de la transcription des gènes impliqués dans la cascade de la réponse pro-inflammatoire associée à NF- κ B). La majorité des gènes associés à la réponse immunitaire (dont HLA-DRA, IRAK1...) sont moins exprimés chez les animaux avec un déficit énergétique lorsqu'ils sont soumis à une épreuve infectieuse intra-mammaire, ce qui pourrait expliquer l'immunodépression relative observée chez des vaches en déficit énergétique.

Zarrin et al. (2013) ont étudié les effets d'une concentration plasmatique élevée en BHB sur des facteurs liés au système immunitaire que ce soit au niveau du foie ou de la glande mammaire, et les effets sur la réponse immunitaire après injection intra-mammaire de lipopolysaccharide. Des vaches Holstein en milieu de lactation ont été perfusées pendant 24 h avec du BHB afin de maintenir une concentration plasmatique entre 1,5 et 2,0 mmol/L (hyperBHB) alors que le groupe témoin recevait un soluté salé par voie intraveineuse. A noter

que de ce fait, et en opposition avec la situation spontanée, les vaches avaient une concentration plasmatique des AGNE et du glucose dans les valeurs usuelles. On observe une augmentation de l'ARNm de la SAA (Serum Amyloid A) ($p < 0,01$) et une tendance à l'augmentation de l'ARNm codant l'haptoglobine ($p = 0,07$) dans le tissu mammaire des vaches en hyperBHB, mais la concentration en BHB n'affecte pas l'abondance des ARNm codant la SAA et l'Hp dans le foie. SAA et Hp sont des protéines de la phase aiguë de l'inflammation qui sont synthétisées et sécrétées par le foie, et de façon marginale par la glande mammaire. De même, le lait de vaches présentant un bilan énergétique négatif sévère a des concentrations en protéines de la phase inflammatoire aiguë plus élevées que celui des vaches sans déficit énergétique. (Jing Lu et al., 2013)

Après l'injection intra-mammaire de LPS, il y a augmentation de l'abondance des ARNm de l'IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , iNOS (oxyde nitrique synthase), NF- κ B (Nuclear factor- κ B), SAA et Hp. Moyes et al. (2009) ont aussi observé une augmentation de SAA et d'Hp dans le lait (produites par les cellules épithéliales mammaires) chez les vaches restreintes à 60% de leurs besoins et après épreuve infectieuse intra-mammaire avec *Streptococcus uberis*. L'augmentation des ARNm codant IL-8 et IL-10 est plus prononcée chez les vaches hyperBHB. L'IL-8 est une cytokine produite par les lymphocytes, les neutrophiles et les cellules épithéliales. Son rôle est de recruter et d'activer les neutrophiles lors d'une infection bactérienne. (Oviedo-Boyso, 2006)

L'activité des cellules du système immunitaire est régulée par des cytokines pro-inflammatoires (interleukines, TNF- α) qui augmentent la capacité bactéricide des neutrophiles et des macrophages, et entraînent le recrutement des neutrophiles au site de l'infection. Elles induisent la maturation des cellules dendritiques et contrôlent l'immunité acquise. (Oviedo-Boyso, 2006) Un milieu contenant des concentrations de BHB élevées diminue le chimiotactisme des leucocytes et diminue la phagocytose des bactéries par les macrophages (Suriyasathaporn et al., 1999 ; Klucinsky et al., 1988 ; Cerone et al., 2007). Cela pourrait expliquer que les vaches hyperBHB compensent la diminution de recrutement de neutrophiles en augmentant la synthèse de ces cytokines.

B. EXPRESSION DIFFERENTIELLE DES GENES DANS LA RATE LORS D'UN DEFICIT ENERGETIQUE

La rate fait partie du système hématopoïétique et est un organe lymphoïde secondaire important (après la moelle osseuse et le thymus). Morris et al. (2009) ont étudié l'expression des gènes du tissu splénique (prélèvement post-mortem) chez des vaches laitières présentant un bilan énergétique négatif (NEB) modérée ou sévère, en début de lactation (15 jours post-partum). Tout d'abord, les concentrations des AGNE et du BHB étaient plus élevées chez les vaches avec un NEB sévère par rapport à celles avec un NEB modéré. De plus, les vaches avec un NEB très marqué avaient un comptage en globules blancs et en lymphocytes significativement plus faibles que les vaches avec un NEB modéré. La régulation de l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-15 était diminuée chez les vaches avec un NEB sévère. IL-15 stimule notamment la prolifération des lymphocytes T auxiliaires inflammatoires (CD4+ T), cytotoxiques (CD8+ T) et des cellules NK. L'IFN- γ est également moins exprimé chez les vaches avec un NEB sévère. L'IFN- γ est produit par les cellules T CD4+ et CD8+, et il a des fonctions anti-virales et immuno-modulatrices dont l'induction de la sécrétion d'immunoglobulines par les cellules B et la stimulation de l'activité des cellules NK et des macrophages.

L'oxydation des AGNE dans le foie provoque une augmentation de la production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et un stress oxydatif (peroxydation lipidique par le foie). Ce stress oxydatif peut causer des dommages cellulaires et tissulaires. De plus, les cellules immunitaires sont sensibles au stress oxydatif car leurs membranes contiennent de fortes concentrations en AG polyinsaturés qui sont sensibles à la peroxydation. (Esposito et al., 2014) On observe une augmentation de l'expression des gènes anti-oxydants (superoxyde dismutase, catalase,...) chez les animaux à NEB sévère, ce qui pourrait être une réponse de l'organisme pour limiter les dommages causés par des concentrations élevées en DRO. De plus, il y a une augmentation de la régulation des gènes impliqués dans le stress du Réticulum Endoplasmique (RE) : une conséquence du stress du RE est l'accumulation de DRO, un stress sévère et prolongé déclenche également l'apoptose. (Morris et al., 2009) Un NEB sévère crée alors un environnement favorisant l'apoptose des cellules liées à la réponse immunitaire, qui pourrait augmenter la sensibilité aux infections.

C. EXPRESSION DIFFERENTIELLE DES GENES AU NIVEAU HEPATIQUE LORS D'UN DEFICIT ENERGETIQUE

Chez les ruminants, le foie a un rôle central dans le métabolisme lipidique (catabolisme des AG et circulation des lipides par la production de lipoprotéines à faible densité) et dans la néoglucogénèse. Des biopsies hépatiques, réalisées après une épreuve intramammaire avec du LPS chez des vaches en milieu de lactation, ont montré une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (produites par les macrophages activés par la liaison du LPS au complexe CD14-TLR4) : TNF- α IL-1 β , IL-6 et IL-10, et des protéines de la phase aiguë : SAA3 et Hp. (Vels et al., 2009)

Jiang et al. (2008) ont également montré que l'expression de plus de 100 gènes au sein du tissu hépatique était significativement modifiée à partir de 3 heures après l'injection intramammaire de LPS, et de façon transitoire (jusqu'à 12 heures post-injection). Il y a eu augmentation de la régulation de l'expression des gènes codant des protéines ayant des fonctions dans la réponse inflammatoire aiguë (SAA3, Hp notamment), et augmentation de l'expression de molécules d'adhésion et de cytokines inflammatoires (TNF- α IL-1 β , IL-6, IL-10) qui ont un rôle essentiel dans la migration des leucocytes. De plus, il y a diminution de l'expression de gènes liés au métabolisme lipidique.

Les mammites ont un impact sur le métabolisme de la glande mammaire mais affecte également d'autres tissus et types cellulaires, et notamment le métabolisme lipidique. Sous la stimulation d'une augmentation de la concentration plasmatique de cytokines inflammatoires, le tissu hépatique est impliqué dans la réponse immunitaire par la production de protéines de la phase aiguë. (Loor et al., 2011-(62))

Bilan : Le déficit énergétique chez la vache durant la période de transition serait à l'origine de perturbations de l'expression de gènes associés à la réponse immunitaire. Face à une infection bactérienne intra-mammaire, il semble que ce déficit altère les fonctions du système immunitaire, que ce soit localement au sein de la glande mammaire, mais aussi au niveau systémique, notamment hépatique. Ceci pourrait expliquer en grande partie

l'augmentation de la fréquence des mammites, comme conséquence directe d'une altération de l'immunité dans la période péri-partum.

CONCLUSION

Pendant la période de transition, la plupart des vaches laitières font face à un bilan énergétique négatif résultant de l'écart entre une demande énergétique accrue et une ingestion alimentaire limitée, et qui progresse moins vite que les besoins ne s'accroissent. Des mécanismes de mobilisation des réserves corporelles sont alors mis en jeu : la lipomobilisation est à l'origine d'une augmentation des concentrations plasmatiques des AGNE, permettant la synthèse d'Acétyl-CoA utilisé dans la néoglucogenèse et dirigé vers la voie de la céto-genèse en situation d'hypoglycémie. Durant cette période, on observe une augmentation du risque de développement de maladies infectieuses et métaboliques, en particulier chez les vaches hautes productrices. Les mammites font partie des maladies les plus coûteuses en élevage laitier et elles sont encore aujourd'hui très fréquentes en début de lactation.

Le déficit énergétique modifie la régulation de l'expression de gènes associés à la réponse immunitaire. D'autre part, de nombreuses études ont montré que les composants métaboliques du déficit, les AGNE et les corps cétoniques, sont associés à des altérations des fonctions immunitaires et notamment de la migration leucocytaire. La réponse immunitaire innée, pour laquelle les neutrophiles et les macrophages occupent une place prépondérante, est la première ligne de défense contre les agents pathogènes mammaires et il existe une accumulation de données qui suggèrent fortement, à défaut de le démontrer complètement, que le déficit énergétique est un facteur de dégradation de cette réponse.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Introduction

Les mammites constituent une affection majeure de l'élevage ovin que ce soit dans la filière laitière mais aussi pour la production d'agneaux. Les pertes financières qui en résultent proviennent de l'altération qualitative et quantitative de la production laitière, de la réforme anticipée des brebis, et pour les agneaux, d'une croissance plus faible. La majorité des infections sont dues à des staphylocoques à coagulase négative (*Staphylococcus epidermidis* étant le plus fréquent), et sont responsables la plupart du temps d'atteintes sub-cliniques et chroniques. (Winter et al., 2002 ; Pengov, 2001) Les mammites cliniques aiguës sont principalement causées par *Staphylococcus aureus*. (Winter et al., 2002)

L'objectif de cette étude est d'examiner dans des conditions expérimentales les conséquences d'un déficit énergétique induit par une restriction alimentaire sur la réponse inflammatoire mammaire à la suite d'une épreuve inflammatoire induite par un phlogogène. Plusieurs questions sont posées :

- 1- Quels sont les effets d'une restriction énergétique sur la production et le métabolisme chez la brebis laitière ?**
- 2- Quel est l'impact du déficit énergétique sur la réponse inflammatoire locale et systémique suite à une épreuve inflammatoire mammaire ?**

I. Matériels et méthode

A. ANIMAUX

Entre novembre 2013 et février 2014, 48 brebis laitières de race Lacaune, âgées de 12 mois environ et mettant bas pour la première fois, de façon synchronisée à la suite d'une insémination artificielle, ont été utilisées dans ce protocole expérimental. Le lieu de l'étude se situe dans une unité expérimentale de l'INRA, le domaine de La Fage.

La distribution de la ration est contrôlée individuellement ; pour cela, les brebis ont été dressées à l'utilisation d'une auge accessible à travers un portillon automatique, dont l'ouverture est contrôlée par une puce électronique auriculaire. Chaque brebis a une place attribuée : lorsque la brebis se place devant le portillon, il y a une lecture de la boucle électronique dont est doté chaque animal. Si le numéro de la brebis correspond au numéro attribué au portillon, celui-ci s'ouvre. Sinon, il reste fermé. Chaque portillon contient une

boîte en bois où l'aliment distribué est pesé, ainsi que la quantité de refus avant chaque nouvelle distribution. Cela permet de mesurer individuellement la consommation de chaque brebis. Cette habitude a commencé 10 semaines avant la mise-bas, afin que l'animal s'adapte à cet environnement le plus tôt possible et ne soit pas perturbé par ce mode d'alimentation (Photos 1 et 2). Elles ont été nourries avec une ration sèche de type mash à partir de cinq semaines avant la mise-bas.

Lors de la période de mise bas, du 13 au 19 janvier 2014, les brebis ont été placées dans une aire d'agnelage et ont été nourries en lot avec l'aliment distribué avant la mise bas (mash Gestation ; composition détaillée dans l'annexe 1A). Elles ont reçu en totalité : 1,24 kg de mash Gestation x nombre de brebis présentes dans le lot. Juste après la mise bas, les brebis ont été placées dans une case d'agnelage avec leur(s) agneau(x) pendant 24 heures afin de permettre la consommation du colostrum. Elles ont alors reçu 2 kg de mash Gestation. Au terme de ces 24 heures, le(s) agneau(x) ont été séparé(s) de leur mère et ont été placés dans un autre bâtiment où ils étaient allaités avec une louve automatique.

Les brebis sont ensuite retournées dans le parc équipé des portillons d'alimentation. Elles étaient traitées deux fois par jour. Grâce au système de portillons, la prise alimentaire de chaque animal a été mesurée. Le mardi 28 janvier, un allotement a été effectué : 2 groupes de 24 brebis ont été choisies en fonction de plusieurs critères dont la production laitière, le poids, la taille de la portée et les origines paternelles, afin de constituer deux lots homogènes.



Photos 1 et 2 : Système de portillons individuels (C. Allain, source INRA)

B. ALIMENTATION

✓ ALIMENTATION DES LOTS

L'aliment choisi est un aliment mélangé sec de type mash ; c'est un mélange complet qui est homogène et difficile à trier, même pour des brebis. Il a été préparé par la société MELILA (Sainte Radegonde-12).

Deux aliments ont été préparés : un était destiné aux brebis gestantes (mash Gestation) et l'autre était adapté aux besoins des brebis en début de lactation (mash Lactation).

- Mash Gestation (Annexe 1A) : ce mash est progressivement incorporé à la ration jusqu'à s'y subsister complètement, et distribué à toutes les brebis à partir du lundi 9 décembre 2013 jusqu'à la mise-bas située autour du 15 janvier 2014. Pendant les 3 premières semaines de l'étude, la ration quotidienne était de 1,01 kg de mash Gestation avec 0,5 kg de paille. Pendant les 2 semaines suivantes, elle était de 1,24 kg de mash Gestation avec 0,5 kg de paille.
- Mash Lactation (Annexe 1B) : ce mash contient une proportion plus grande de luzerne déshydratée, permettant un apport énergétique et un apport de calcium. La quantité distribuée est de 2,93 kg de mash Lactation avec 0,4 kg d'orge jusqu'à la restriction énergétique.

La restriction énergétique a débuté le mercredi 29 janvier 2014 et a duré 15 jours au total. Le lot non restreint (24 brebis) a reçu la ration couvrant la totalité des besoins : 2,93 kg de mash Lactation avec 0,4 kg d'orge. Le lot restreint (24 brebis) a reçu une ration couvrant 60% des besoins individuels, c'est-à-dire en moyenne 1,2 kg de mash Lactation et 0,4 kg de tourteau de soja tanné, avec une variation de 0,68 à 1,89 kg de mash par brebis. La ration constituait une quantité maximale d'aliment distribué afin d'éviter le tri par les animaux.

La part complémentaire de la ration (orge ou tourteau de soja tanné) a été distribuée en salle de traite en utilisant la boucle électronique pour identifier chaque animal par l'automate de distribution dans la salle de traite.

Après la mise bas, la litière des animaux est constituée de copeaux afin d'éviter que les brebis consomment la paille de la litière.

✓ CALCUL DE LA RATION

Une évaluation des besoins énergétiques de chaque brebis a été réalisée après une semaine de suivi de leur poids et de leur production laitière standardisée, c'est-à-dire de la quantité de lait corrigée par les taux butyreux et protéique : on obtient ainsi le besoin énergétique individuel (Ei). Après la mise-bas, les brebis ont été alimentées avec 2,93 kg de mash Lactation et 0,4 kg d'orge (orge distribuée en salle de traite), le système de portillons individuels permettant d'évaluer la consommation individuelle de mash et donc de connaître avec précision les apports.

Le bilan énergétique (EB = Energy Balance) est calculé de la façon suivante : il résulte de la différence entre l'énergie ingérée et le besoin énergétique individuel. Cette évaluation a permis de ne pas intégrer les brebis avec un bilan énergétique négatif dans le lot non restreint et de contrôler au maximum la variabilité intra-lot, même s'il a été difficile de s'en affranchir complètement.

L'allotissement a été décidé de façon à homogénéiser les deux lots en fonction d'un certain nombre de critères : liens parentaux, production laitière, poids et nombre d'agneaux. Enfin, la quantité de ration à distribuer a été calculée : le lot restreint a reçu une quantité de mash couvrant 60% des besoins individuels, soit en moyenne 1,2 kg de mash.

C. EPREUVE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE

L'injection intra-mammaire de composés phlogogènes a eu lieu le lundi 10 février sur l'ensemble des brebis, c'est-à-dire 12 jours après le début de la restriction alimentaire. Il s'agit de composés solubles, le lipopeptide synthétique triacylé (Pam₃CSK₄, 10 µg) et le muramyl-dipeptide (MDP, 10 µg), ligands respectifs de TLR2 et de NOD2. Le mélange a été administré par voie diathélique sous un volume de 1 mL. Ces composés permettent de provoquer une inflammation mimant les effets d'une infection bactérienne, car ils utilisent des voies de signalisation de la réponse inflammatoire qui sont identiques. L'injection a été réalisée sur un seul des deux trayons. L'hémimamelle choisie est celle pour laquelle la Concentration de Cellules Somatiques était la plus faible dans les jours précédant l'injection.

Après la traite du lundi 10 février au matin, l'hémimamelle concernée est vidangée complètement et la solution phlogogène est injectée après un complément de vidange manuelle.

D. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

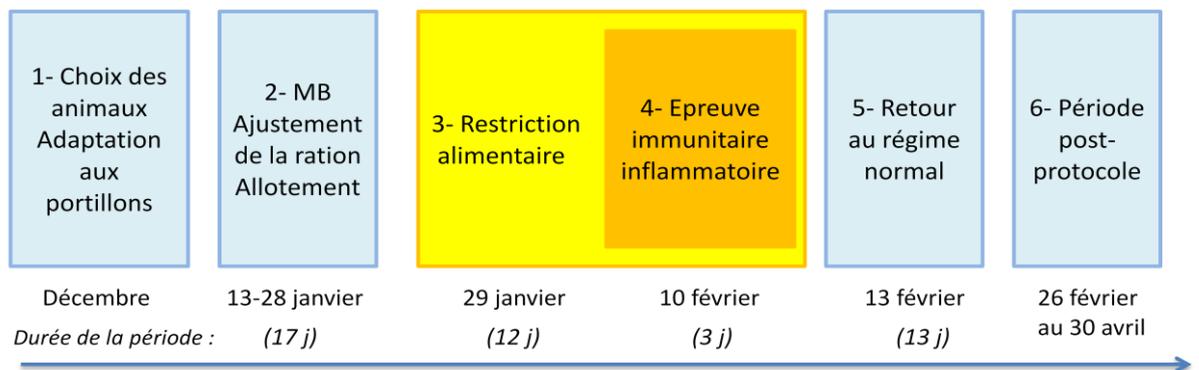


Figure 8 : Protocole expérimental

E. PRELEVEMENTS DE SANG ET DE LAIT

Les dates et la fréquence des prélèvements sont indiquées dans le protocole expérimental (Annexe 2).

Les prélèvements de sang sont réalisés à l'aide de tubes sous vide (Venosafe®) de 9 mL ou 4 mL contenant des anticoagulants, soit de l'EDTA-K2, soit de l'héparine (un tube de chaque type par prélèvement et par brebis). Les prélèvements sont réalisés à la veine jugulaire par un personnel habilité.

Le choix des anticoagulants utilisés est déterminé en fonction du dosage envisagé :

- EDTA : Insuline, AGNE, Glucose.
- Héparine : BHB.

Le choix du volume a été déterminé au préalable en fonction du nombre de dosages et donc du volume de plasma nécessaire. Chaque tube est ensuite centrifugé 15 minutes à 3500 tours/min à 4°C. La centrifugation se fait le plus rapidement possible après le prélèvement et dans un délai inférieur à 2 heures.

Les dosages n'étant pas réalisés au même moment ni dans le même laboratoire et pour éviter les cycles de congélation – décongélation successifs, les plasmas sont partagés en parties aliquotes avec un tube par animal et par dosage. Ces tubes ont ainsi été décongelés au fur et à mesure des besoins de l'analyse.

Les analyses sanguines ont été réalisées par l'Unité Mixte de Recherche INRA-CIRAD (Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement) SELMET (Systèmes d'Elevage Méditerranéens et Tropicaux) à Montpellier.

Les analyses du lait ont été réalisées quotidiennement par le LIAL (Laboratoire Interprofessionnel d'Analyses Laitières), à Aurillac.

L'analyse des formules cellulaires du lait et du sang a été réalisée par cytométrie en flux, à l'UMR INRA-ENVT (Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse), IHAP (Interactions Hôtes-Agents Pathogènes).

F. ANALYSE STATISTIQUE

Les variables choisies sont : la production laitière, le poids et la Note d'Etat Corporel (NEC), les concentrations plasmatiques des AGNE, BHB, et la Concentration des Cellules Somatiques (ou le Score de Cellules Somatiques), avec conversion des valeurs absolues des différentes sous-populations.

L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée à l'aide d'un modèle mixte : on compare un effet aléatoire (ici l'animal) avec un effet fixe. Les effets fixes sont : la date de la mesure ou le lot (restreint vs non restreint).

Puis, chaque effet est testé à chaque période. Cinq périodes sont concernées :

- Avant la restriction alimentaire : entre la mise-bas et le 29 janvier ;
- Pendant la restriction énergétique : entre le 29 janvier et le 9 février ;
- Pendant la restriction ET l'épreuve mammaire : entre le 10 février et le 13 février ;
- Au retour à l'alimentation du troupeau : entre le 14 février et le 26 février ;
- Période post-protocole : à partir du 26 février.

II. Résultats

A. BILAN ENERGETIQUE

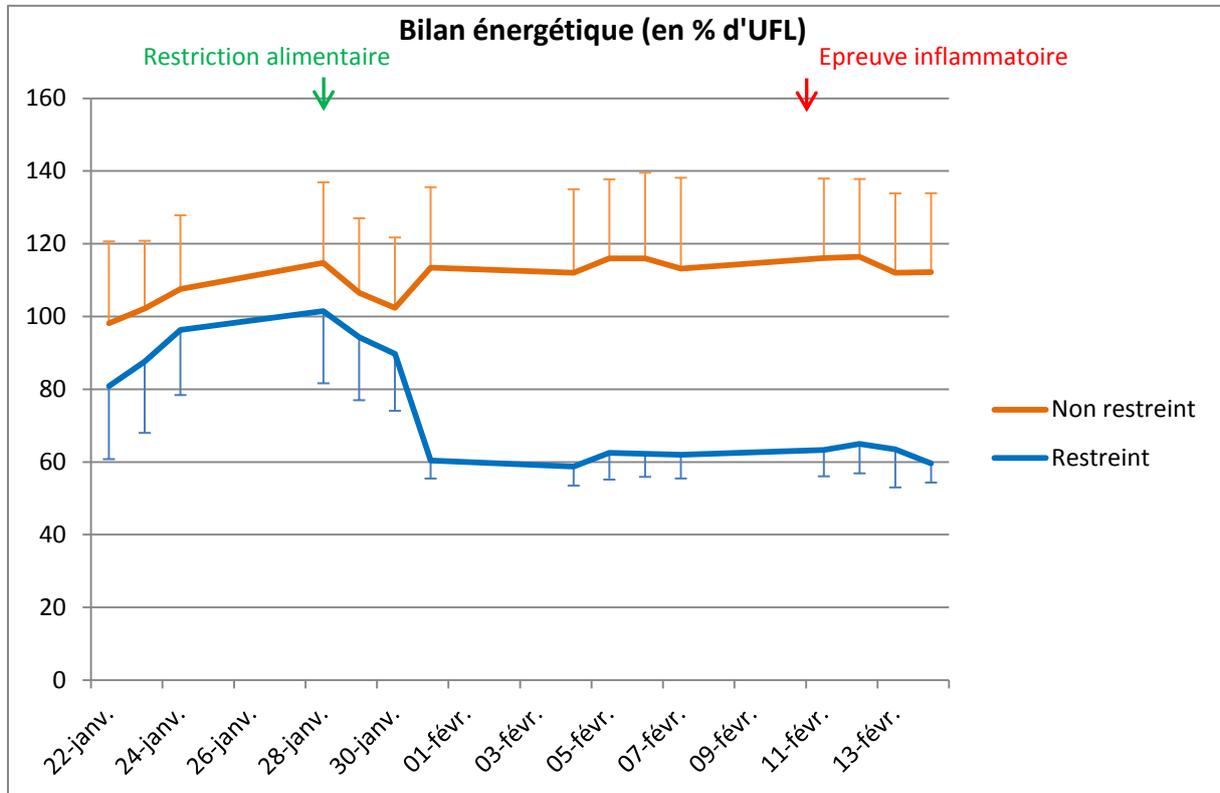


Figure 9 : Variation du bilan énergétique pour le lot restreint et le lot non restreint (dans l'ensemble des graphiques, les écarts types sont représentés par les barres verticales)

Le bilan énergétique calculé *a posteriori* correspond à environ 60% des besoins dans le lot restreint alors qu'il est supérieur à 100% dans le lot dont les besoins sont couverts. L'objectif qui avait été fixé au moment de l'élaboration du protocole a donc été atteint.

B. VARIATIONS DU POIDS VIF ET NOTE D'ETAT CORPOREL

✓ VARIATIONS DU POIDS VIF

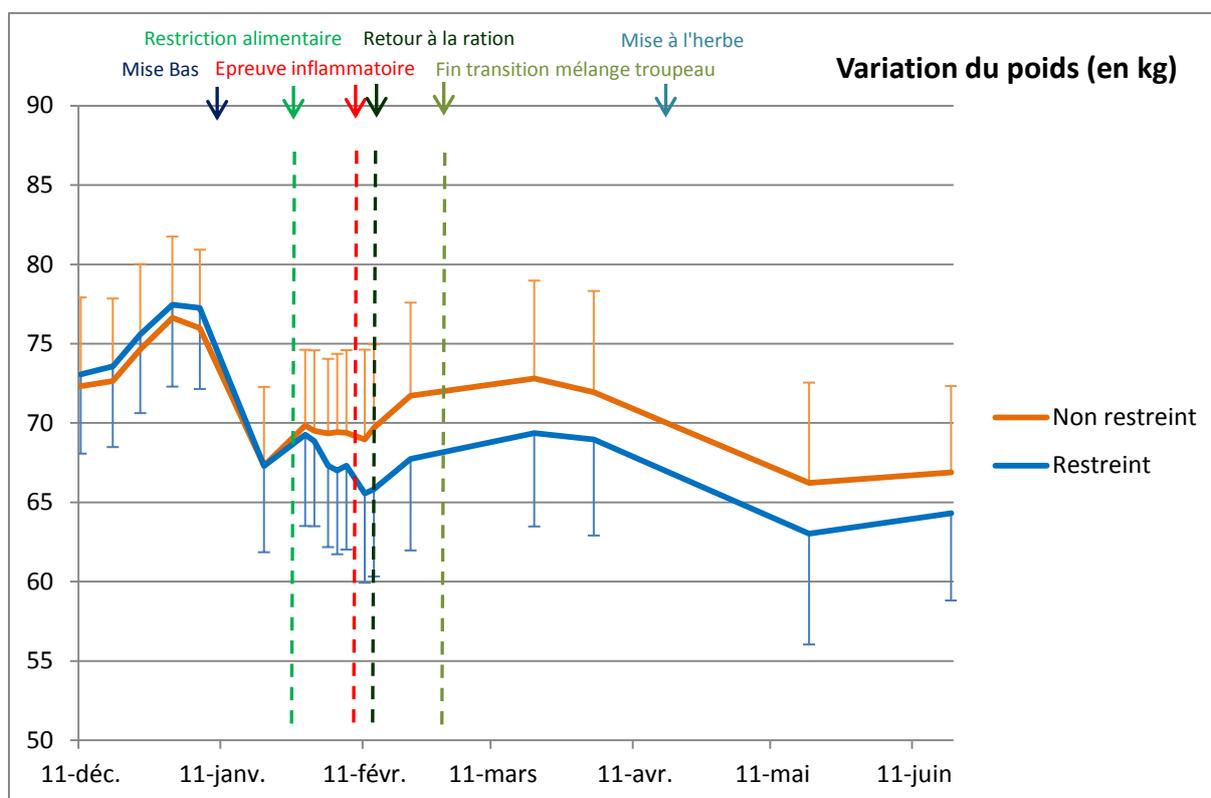


Figure 10 : Variation du poids vif pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 5 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du poids vif par rapport au lot non restreint

(* $p < 0,05$ peu significatif; ** $p < 0,01$ significatif; *** $p < 0,001$ très significatif)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 0,8%	- 2,5%	* - 5,2%	* - 5,5%	** - 4,5%

A partir de l'établissement de la restriction, le poids mesuré a été corrigé de façon arbitraire en rajoutant 3,3 kg aux poids des brebis du lot restreint, de façon à corriger la diminution de matière sèche ingérée dans ce lot. La diminution quasi instantanée du poids observée au moment de la restriction, représente en effet la diminution de la quantité ingérée et non une perte de poids corporel. Elle correspond à une diminution du poids du contenu

digestif (1 kg ingéré représente 4 à 5 kg de contenu digestif du fait de la longueur du tractus et de l'humidification de son contenu). Ainsi, la perte de poids est nulle entre le lot restreint et le lot non restreint au 31 janvier, soit 48 heures après le début de la restriction.

La perte de poids observée dans le lot restreint est significative par rapport au lot non restreint à partir de la période de [restriction énergétique + épreuve], cette diminution modérée du poids est de l'ordre de 5% par rapport au lot non restreint jusqu'à la fin du protocole expérimental. L'épreuve inflammatoire ou la restriction prolongée accroît donc la diminution de poids chez les animaux restreints. Cette perte reste significative au-delà de la fin du protocole proprement dit, c'est-à-dire que le lot restreint n'a pas rattrapé cette perte de poids qui est restée détectable jusqu'à au moins 4 mois après le retour à la ration normale.

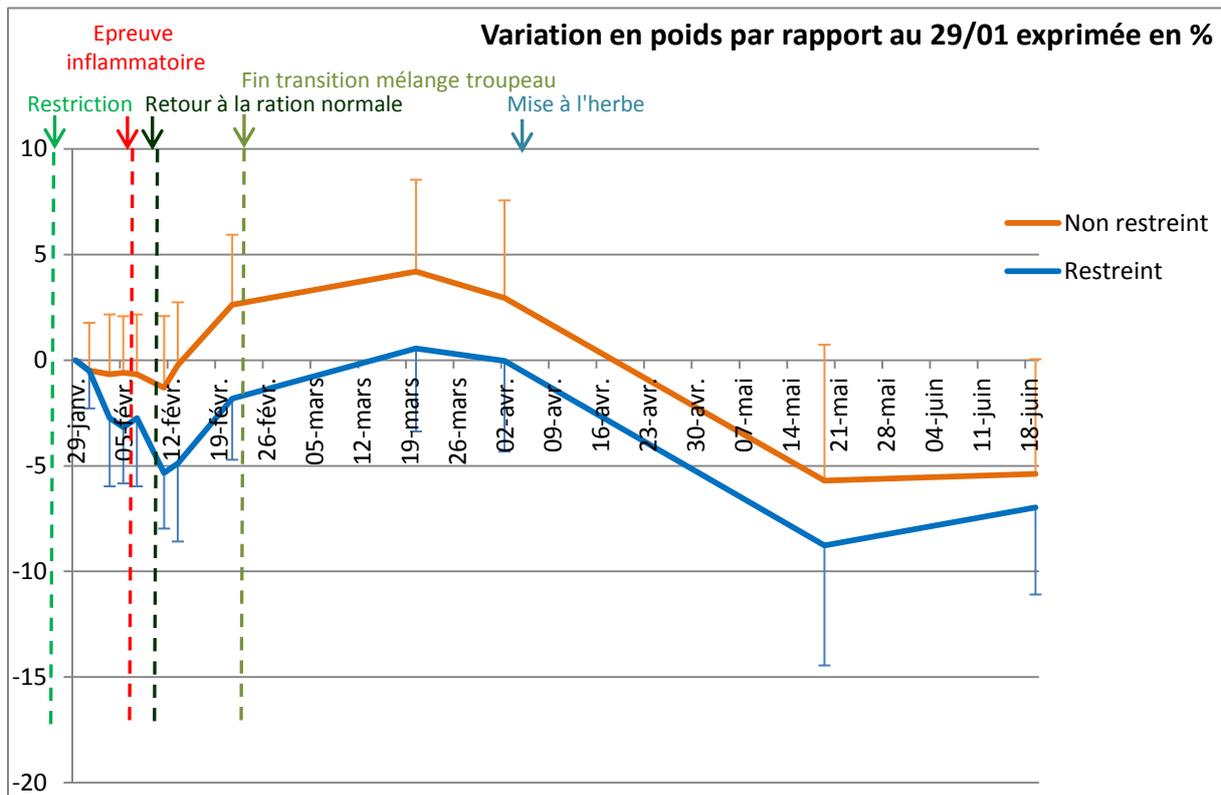


Figure 11 : Variation du poids par rapport à une date de référence (début de la restriction) pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 6 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du poids par rapport au 29-01

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

<i>Période</i>	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effets de la restriction	+ 1,80%	* - 1,56%	*** - 4,34%	*** - 4,45%	** - 2,93%

La variation du poids exprimée en pourcentage de la valeur considérée comme référence avant la restriction (le 29 janvier), montre une légère diminution du poids d'environ 1,6% chez les brebis du lot restreint par rapport à celles du lot non restreint très tôt après le début de la restriction. Cette diminution de poids est modérée (environ 4%) mais très significative pendant l'épreuve inflammatoire, et elle reste significative longtemps après la reprise de l'alimentation normale. Les animaux qui ont subi la restriction ne rattrapent pas leur retard à la mise à l'herbe, mais vers la mi-mai, leur poids tend à augmenter.

✓ NOTE D'ETAT CORPOREL

La Note d'Etat Corporel (NEC) permet d'évaluer l'état corporel des brebis et peut servir d'outil simple de gestion de l'alimentation du troupeau. Elle passe essentiellement par une palpation dorsale des animaux avec notamment l'évaluation du degré de couverture des apophyses transverses et de la proéminence des apophyses épineuses au niveau des vertèbres lombaires (Annexe 3).

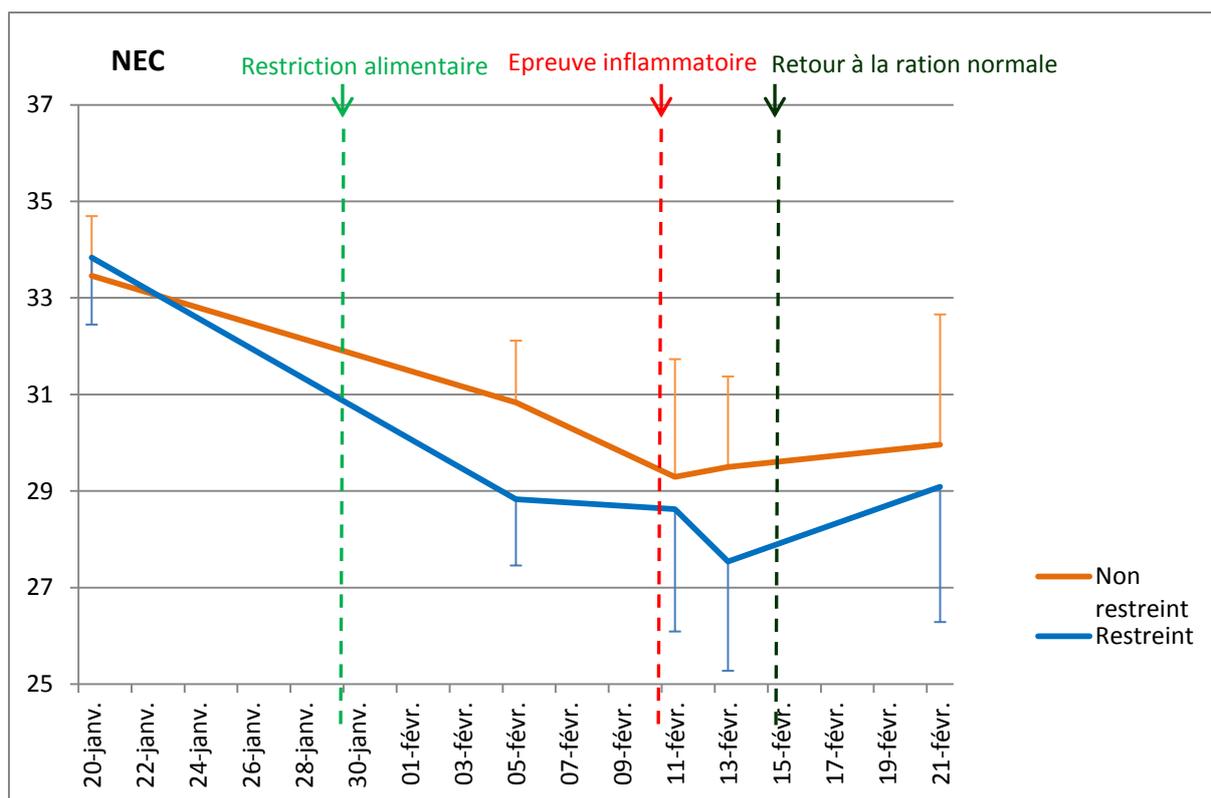


Figure 12 : Variations de la NEC pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 7 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la NEC par rapport au lot non restreint

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 1,1%	** - 6,5%	* - 4,5%	- 2,9%	* - 2,8%

La Note d'Etat Corporel (NEC) montre un effet de la restriction qui est modéré et significatif dès la période de restriction. La variation de la NEC est moins représentative de l'état d'embonpoint de l'animal que le poids vif. Elle ne permet pas d'évaluer les masses graisseuses internes (la lipomobilisation affecte également les réserves adipeuses viscérales, et pas seulement les dépôts adipeux sous-cutanés). Cependant, on remarque que l'ensemble des brebis a une diminution de la NEC jusqu'à début février, c'est-à-dire jusqu'à 2 semaines après la mise-bas. De plus, on remarque une diminution plus marquée chez les animaux restreints au moment de l'épreuve inflammatoire (comme indiquée par une diminution de la pente

pendant 2 jours, figure X), qui a peu de répercussion sur la NEC à la fin de cette période (variation de -6,5% à -4,5%, tableau X).

C. PRODUCTION LAITIÈRE, TAUX UTILES

✓ PRODUCTION LAITIÈRE

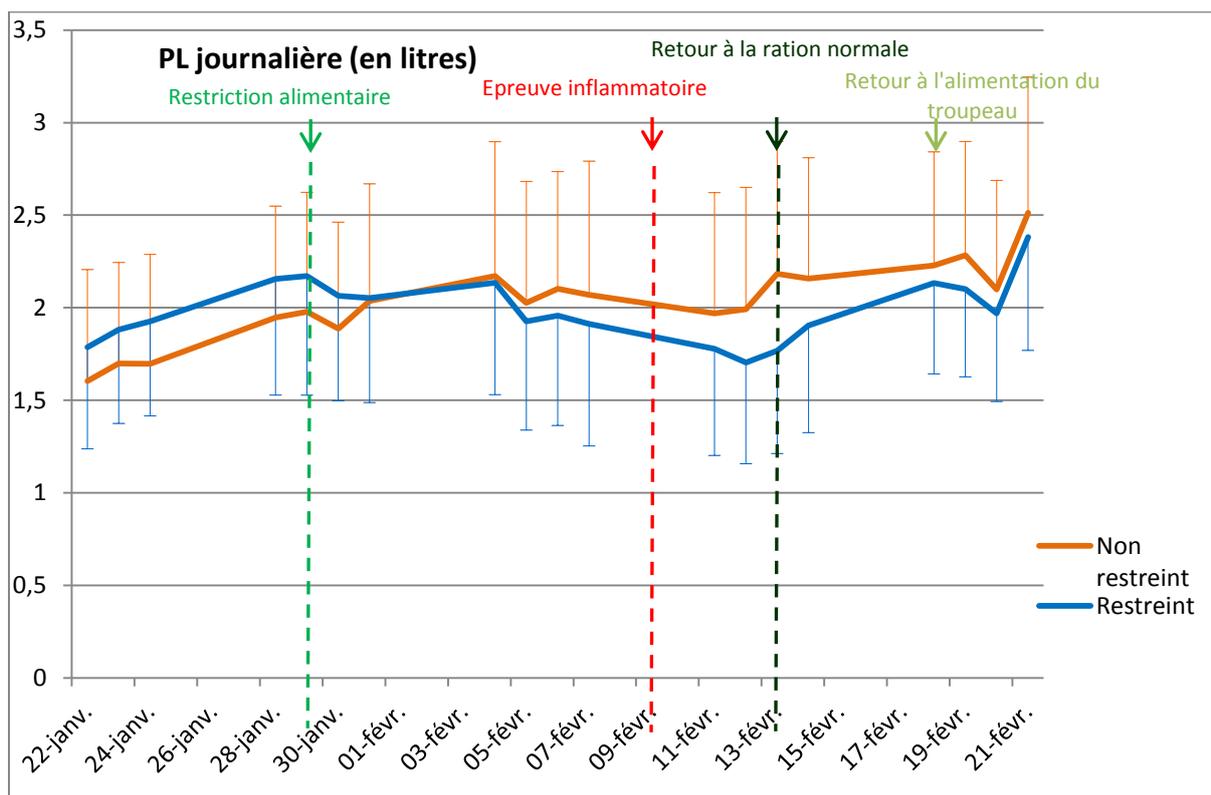


Figure 13 : Variations de la production laitière (PL) pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 8 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la production laitière exprimée en litres

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 11%	- 2%	- 14,7% (P=0,08)	- 5,5%	+ 4,1%

L'analyse statistique ne montre pas d'effet significatif de la restriction sur l'évolution de la production laitière ; en moyenne, il semble que les brebis ont maintenu la production malgré une diminution de 40% des apports énergétiques. On remarque cependant que la diminution de la production laitière est plus marquée dans le lot restreint lors de l'épreuve inflammatoire (passage de -2% à -14,7%).

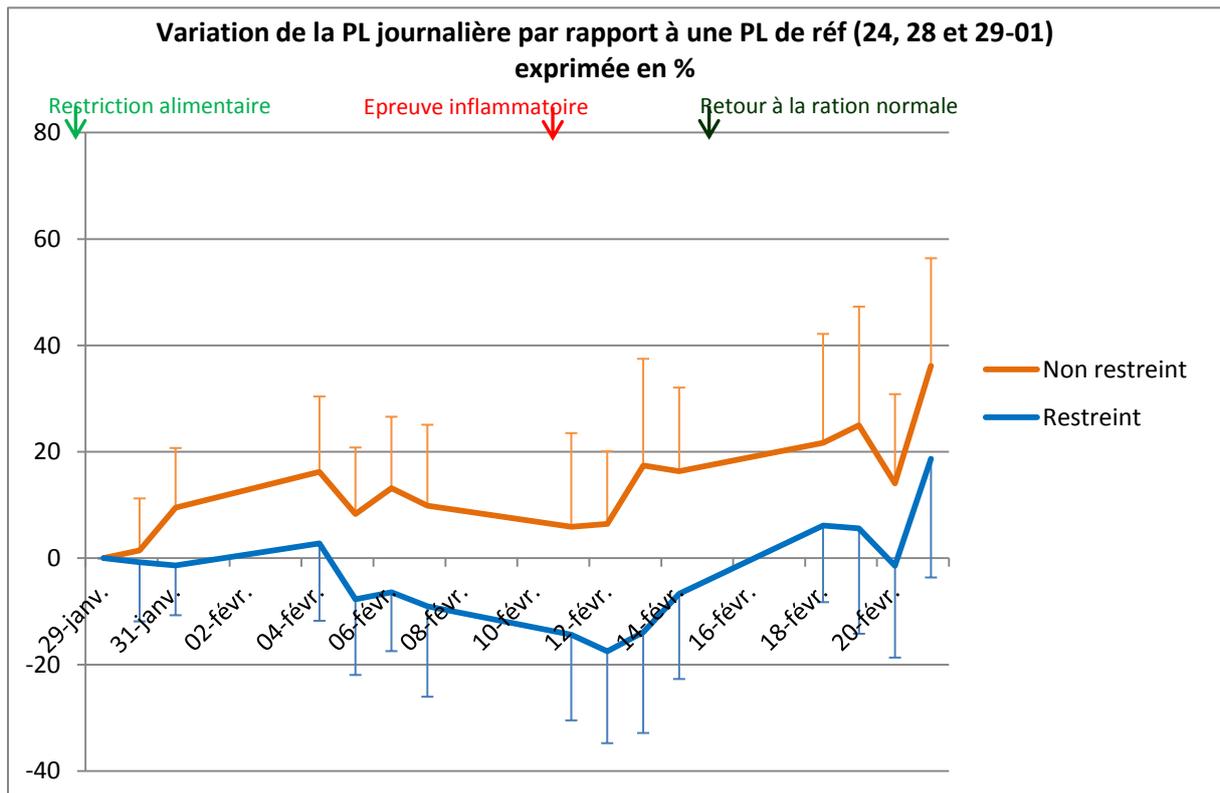


Figure 14 : Variations de la production laitière exprimées en pourcentage, par rapport à une production laitière de référence calculée sur 3 dates (le 24, 28 et 29-01), pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 9 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la production laitière par rapport à une production laitière de référence à partir des données de 3 dates (le 24, 28 et 29-01)

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	- 0,02%	*** - 13,52%	*** - 25,34%	*** - 16,63%	- 4,14%

Cependant, en analysant les variations de la production laitière et en prenant une valeur de référence sur les trois dates qui précèdent le début de la restriction, l'effet de la restriction devient très significatif dès le début de la restriction : on observe une baisse d'environ 13,5% de la production laitière par rapport à une valeur de référence pour les brebis restreintes, ce qui est une diminution modérée. Lors de l'épreuve inflammatoire, la diminution est accrue et la production laitière du lot restreint est quatre fois plus faible que le lot non restreint. La diminution de la production reste très significative jusqu'à la fin de la période de retour à la ration normale où on détecte une diminution d'environ 16%. Le lot restreint retrouve une production identique au lot non restreint lors de la période post-protocole.

✓ TAUX BUTYREUX ET QUANTITE DE MATIERE GRASSE

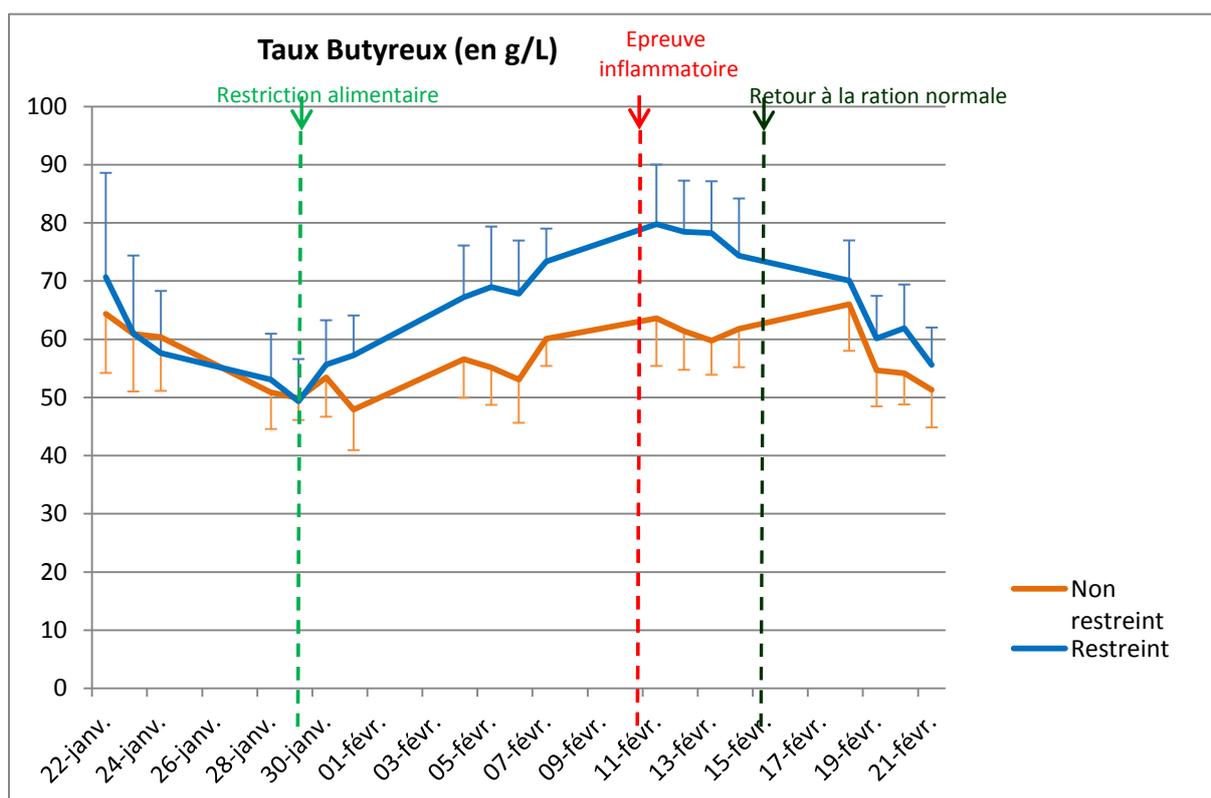


Figure 15 : Variations du taux butyreux pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 10 : Effets de la restriction énergétique sur le taux butyreux par rapport au lot non restreint

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 2,6%	*** + 19,4%	*** + 28,1%	*** + 9,8%	+ 0,8%

Avant la restriction, les deux lots de brebis avaient un taux butyreux identique. On observe un effet très significatif de la restriction avec une augmentation d'environ 20% dès la période de restriction énergétique : les brebis restreintes ont une augmentation très marquée et significative du taux butyreux de la restriction jusqu'à la réalimentation du troupeau, avec une augmentation accrue lors de l'épreuve inflammatoire (de l'ordre de 28%).

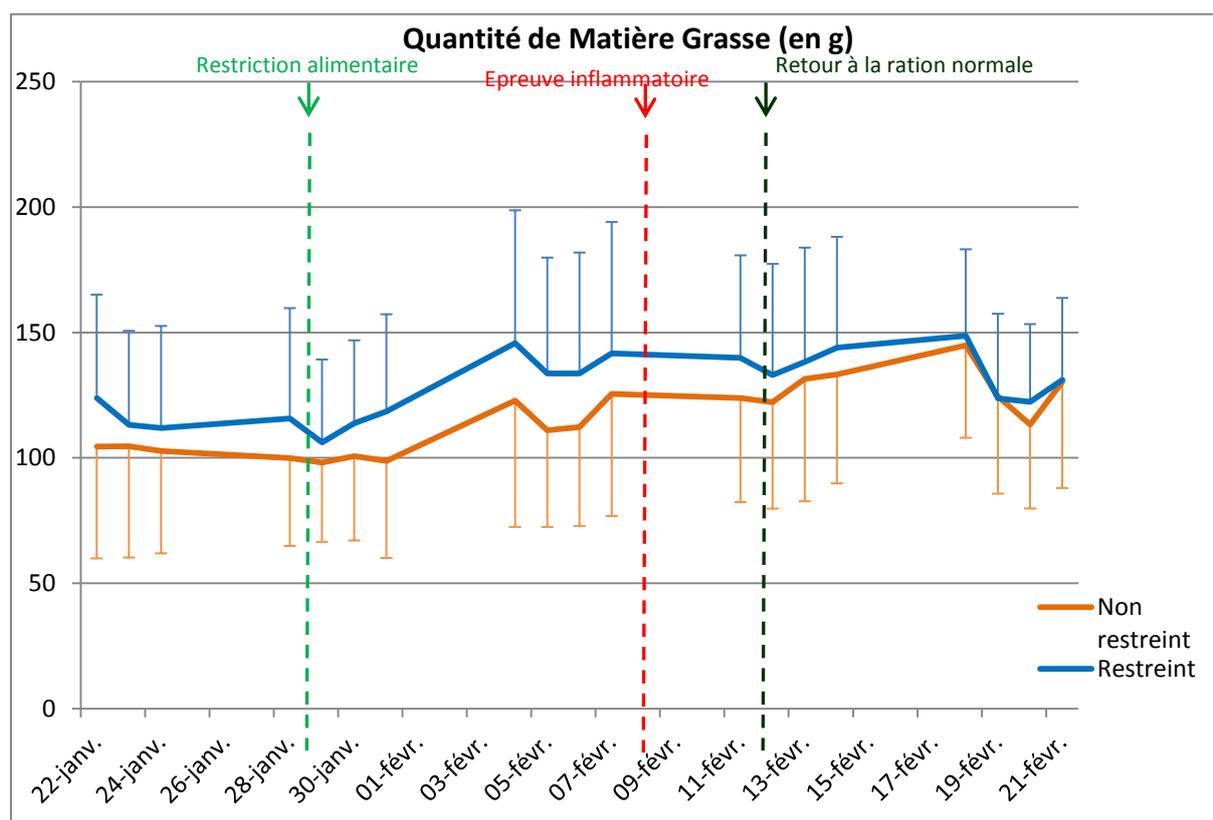


Figure 16 : Variations de la quantité de matière grasse pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 11 : Effets de la restriction énergétique sur la quantité de matière grasse par rapport au lot non restreint

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

<i>Période</i>	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 12,2%	+ 16,6%	+ 8,5%	+ 3,2%	+ 4,3%

La quantité de matière grasse (QMG) est calculée de la façon suivante :

$$QMG = TB \times PL.$$

L'analyse statistique ne montre pas d'effet de la restriction énergétique sur la variation de la quantité de matière grasse dans le lot restreint par rapport au lot non restreint.

✓ **TAUX PROTEIQUE ET QUANTITE DE MATIERE PROTEIQUE**

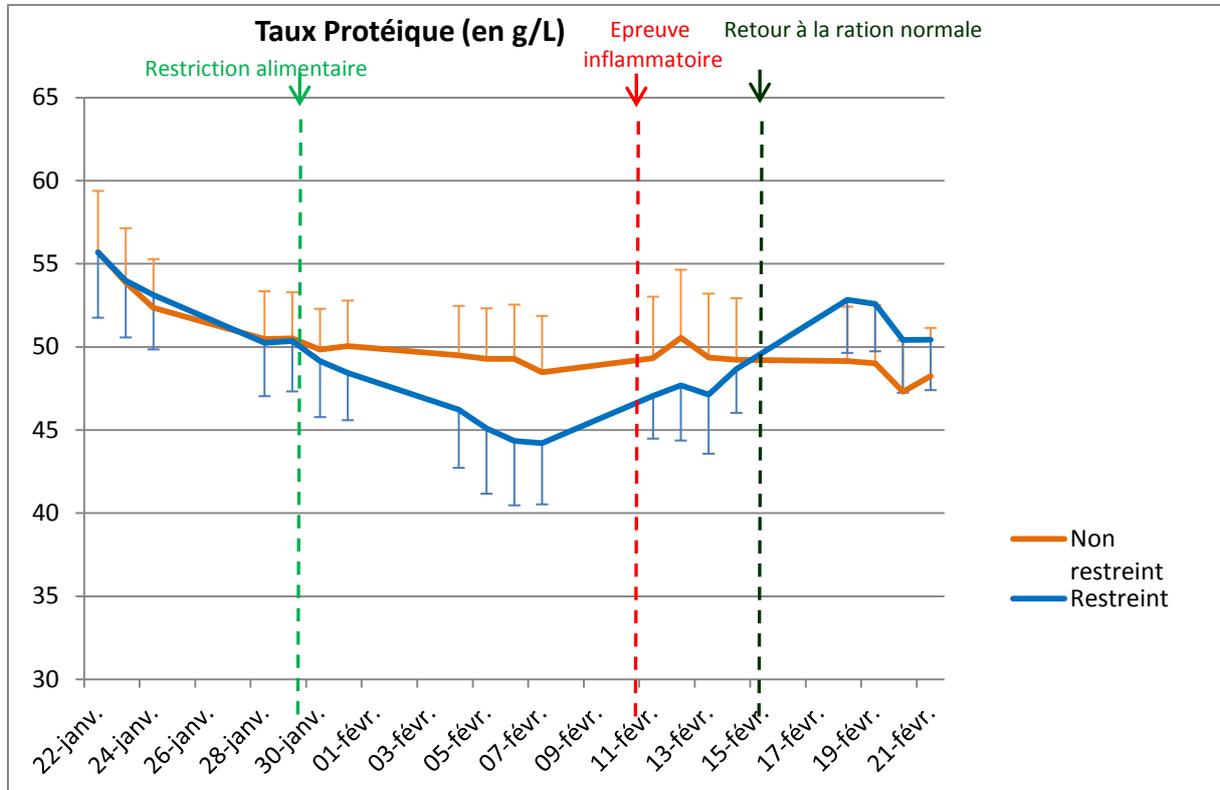


Figure 17 : Variations du taux protéique pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 12 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du taux protéique par rapport au lot non restreint (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	0%	*** - 6,4%	* - 5%	* + 3,6%	+ 0,3%

Lors de la restriction, il y a une diminution modérée (d'environ 6%) et très significative du taux protéique chez les brebis restreintes. Cette diminution devient peu significative lors de la période [restriction énergétique + épreuve]. Au retour à l'alimentation du troupeau, il y a une augmentation peu significative du taux protéique pour le lot restreint, ce qui correspondrait à un effet rebond de la fin de la restriction, puis les taux protéiques des deux lots deviennent identiques après la fin de l'essai.

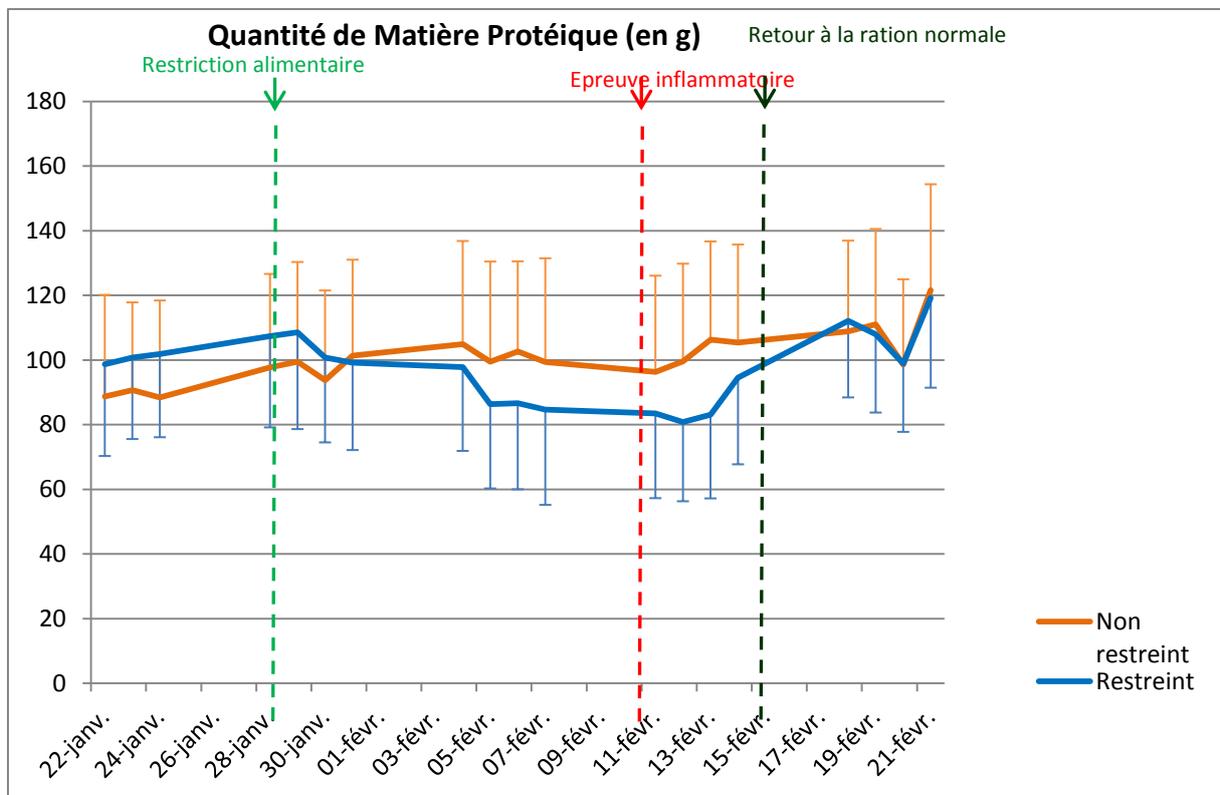


Figure 18 : Variations de la quantité de matière protéique pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 13 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la quantité de matière protéique par rapport au lot non restreint (* p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 10,9%	- 7,8%	* - 18,5%	- 1,4%	+ 3,9%

La quantité de matière protéique (QMP) est calculée de la façon suivante :

$$QMP = TP \times PL.$$

L'analyse statistique montre un effet peu significatif (p<0,05) de la restriction énergétique sur la quantité de matière protéique qui diminue d'environ 18% lors de la période [restriction énergétique + épreuve], par rapport au lot non restreint. L'épreuve mammaire ou la restriction prolongée accroît légèrement la diminution de la quantité de matière protéique chez les brebis restreintes. Le lot restreint retrouve des valeurs de QMP identiques au lot non restreint dès le retour à la ration du troupeau.

✓ **RAPPORT TB/TP**

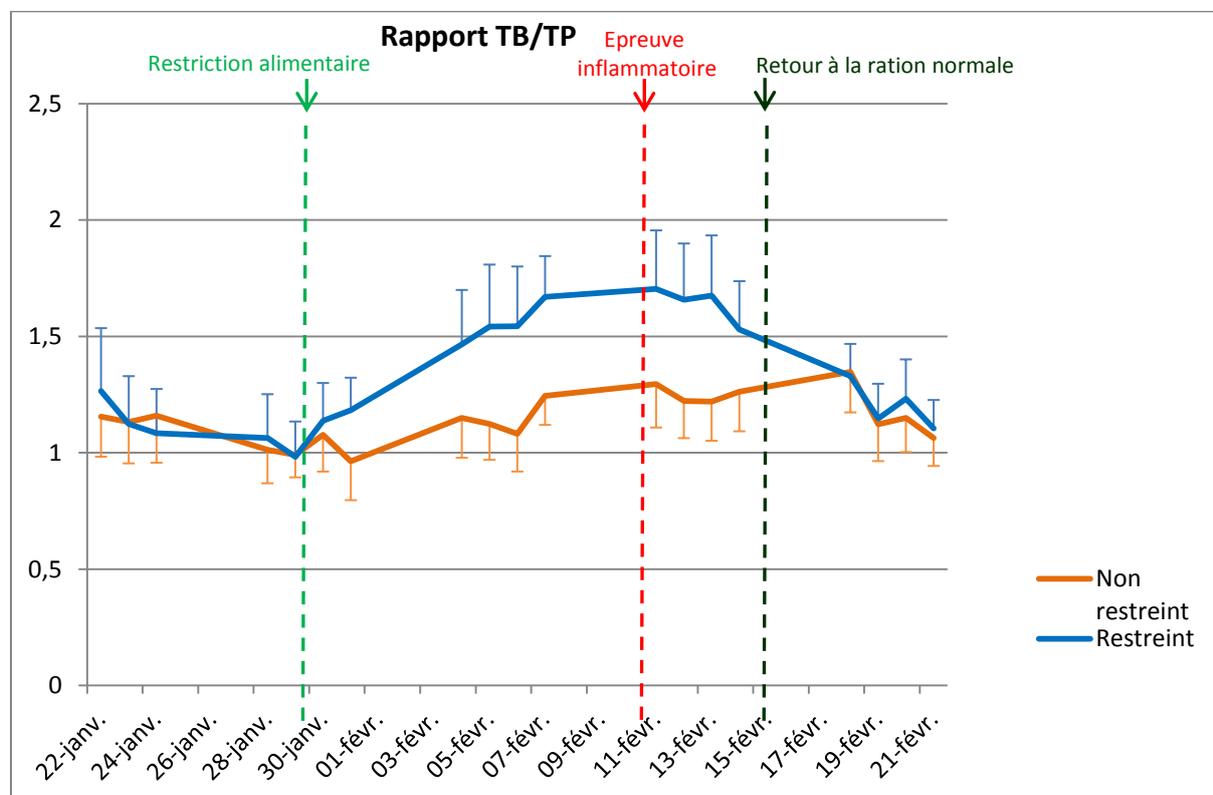


Figure 19 : Variations du rapport TB/TP pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 14 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du rapport TB/TP par rapport au lot non restreint (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Effet de la restriction	+ 1,8%	*** + 27,9%	*** + 35%	* + 5%	+ 0,5%

Le rapport TB/TP varie d'une valeur située autour de 1 avant la restriction jusqu'à une valeur maximale de 1,2 dans le lot dont les besoins sont couverts et une valeur de 1,7 dans le lot restreint, soit une différence de 0,5 point. Cette différence est très significative pendant la période de restriction (avec + 27,9%) et la période suivante [restriction énergétique + épreuve] (avec + 35%). Au retour à l'alimentation normale, cette augmentation n'est plus ou peu significative, et le rapport TB/TP devient identique dans les deux lots en post-protocole.

D. METABOLITES SANGUINS

✓ AGNE ET BHB

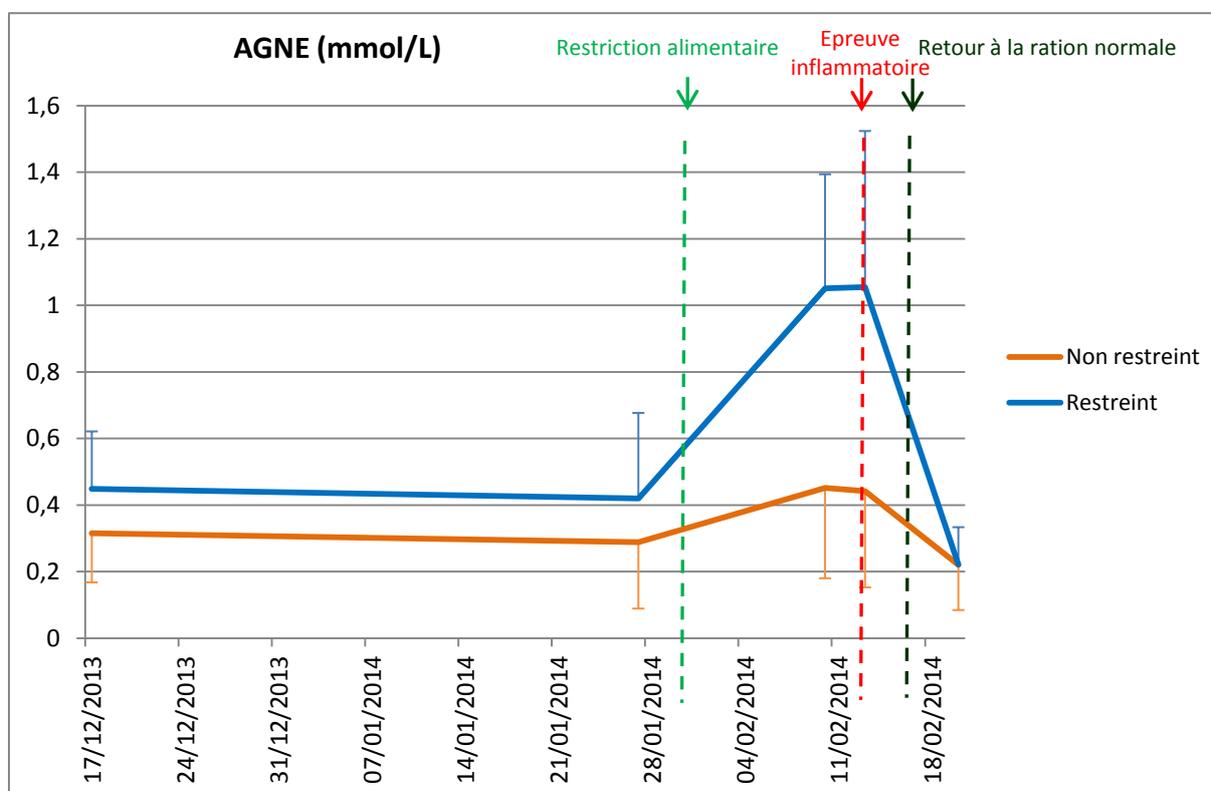


Figure 20 : Variations de la concentration plasmatique des AGNE pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 15 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la concentration plasmatique des AGNE

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à la ration normale
Effet de la restriction	** + 26%	*** + 101%	*** + 94%	+ 1%

Avant la restriction, on observe une concentration plasmatique des AGNE supérieure dans le lot des brebis qui ont subi la restriction. Cependant, la restriction a un effet très significatif avec une augmentation marquée de la concentration des AGNE ; les valeurs sont doublées chez les brebis restreintes par rapport aux brebis non restreintes (environ 1,05 mmol/L vs 0,45 mmol/L à la fin de la période de restriction seule). Lors de l'épreuve, la concentration des AGNE diminue chez les brebis restreintes mais reste supérieure à celle des brebis non restreintes (effet de la restriction très marqué et significatif : + 94%). Cet effet s'estompe rapidement au retour à l'alimentation du troupeau ; il n'y a alors plus d'effet de la restriction.

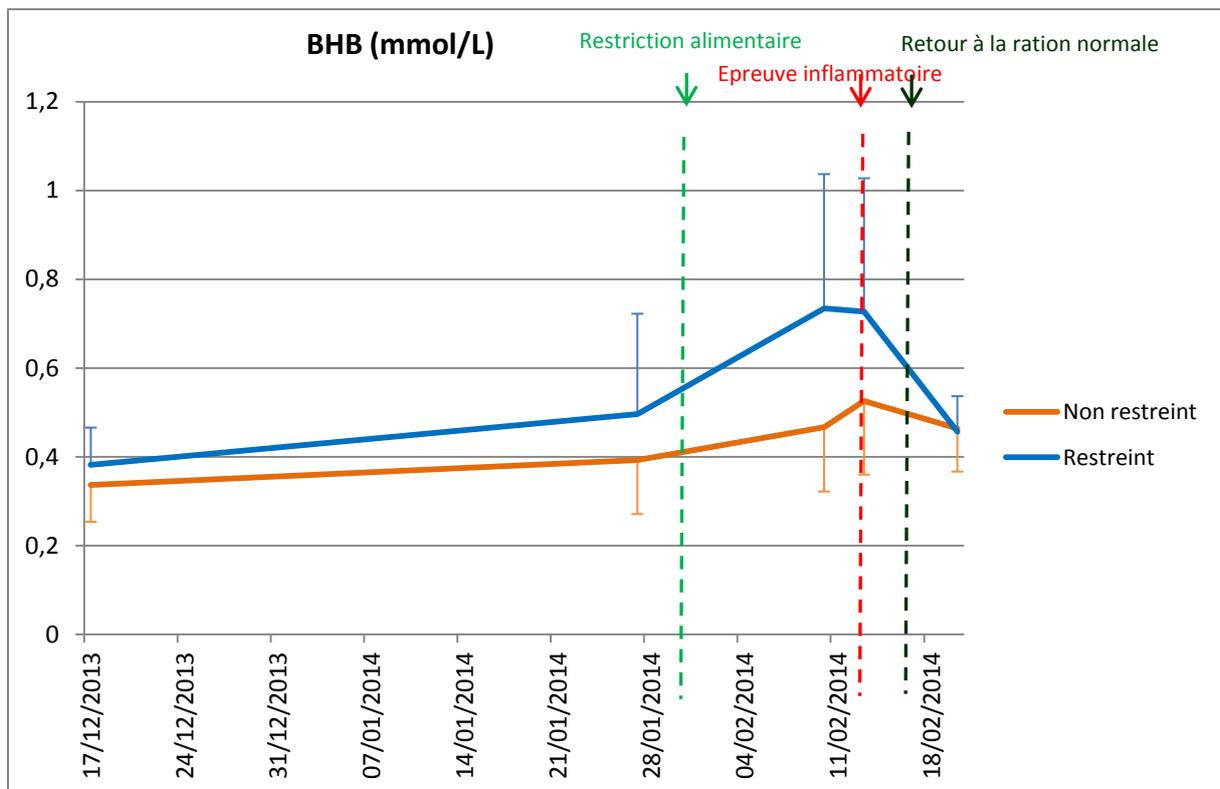


Figure 21 : Variations de la concentration plasmatique du BHB pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 16 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la concentration plasmatique du BHB

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à la ration normale
Effet de la restriction	* + 14%	*** + 50%	* + 41%	- 2%

Il y a une différence de la concentration plasmatique du BHB entre les lots avant la restriction, mais cette différence est légère (+ 14%), et peu significative du point de vue statistique. Lors de la restriction, l'augmentation de la concentration du BHB chez les brebis restreintes est forte, avec + 50% de la valeur mesurée chez les brebis du lot restreint par rapport à celles du lot non restreint : cette différence devient très significative (environ 0,7 mmol/L vs 0,5 mmol/L à la fin de la période de restriction seule). Après l'épreuve, les concentrations du BHB diminuent chez les brebis restreintes, mais elles restent supérieures à celles des brebis non restreintes (+ 41%). Au retour à la ration normale, les concentrations en BHB des deux lots sont équivalentes.

✓ GLUCOSE

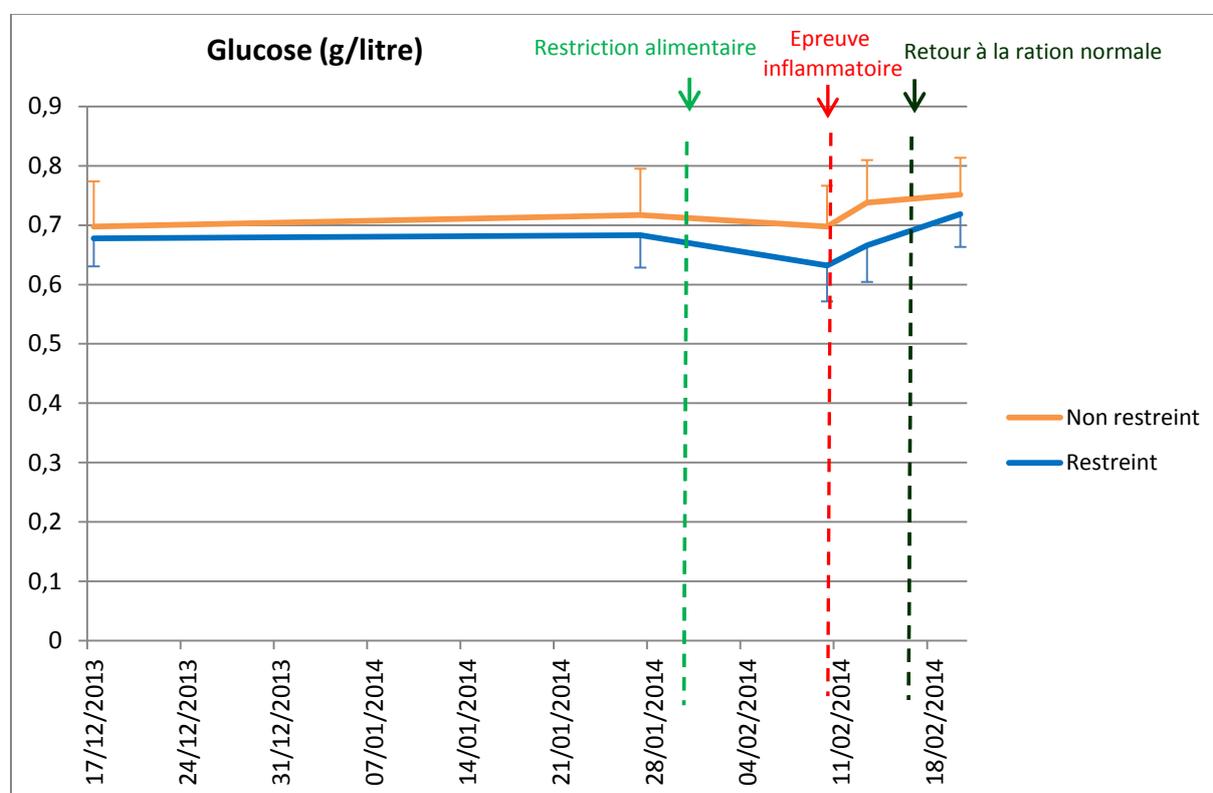


Figure 22 : Variations de la glycémie pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 17 : Effets de la restriction énergétique sur la variation de la glycémie

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à la ration normale
Effet de la restriction	- 3%	*** - 10%	*** - 10%	- 4%

Durant la période de restriction, on observe une diminution de la glycémie chez les deux lots de brebis. Les brebis restreintes ont une glycémie significativement plus basse (diminution modérée de 10% ; $p < 0,001$) que les brebis non restreintes pendant la restriction et pendant la période [restriction énergétique + épreuve]. Lors de l'épreuve inflammatoire, on observe cependant une augmentation de la glycémie dans les deux lots. La glycémie n'est pas différente entre les lots au retour à l'alimentation du troupeau.

E. REPOSE DE L'ÉPREUVE INFLAMMATOIRE

✓ CONCENTRATION DES CELLULES SOMATIQUES (CCS)

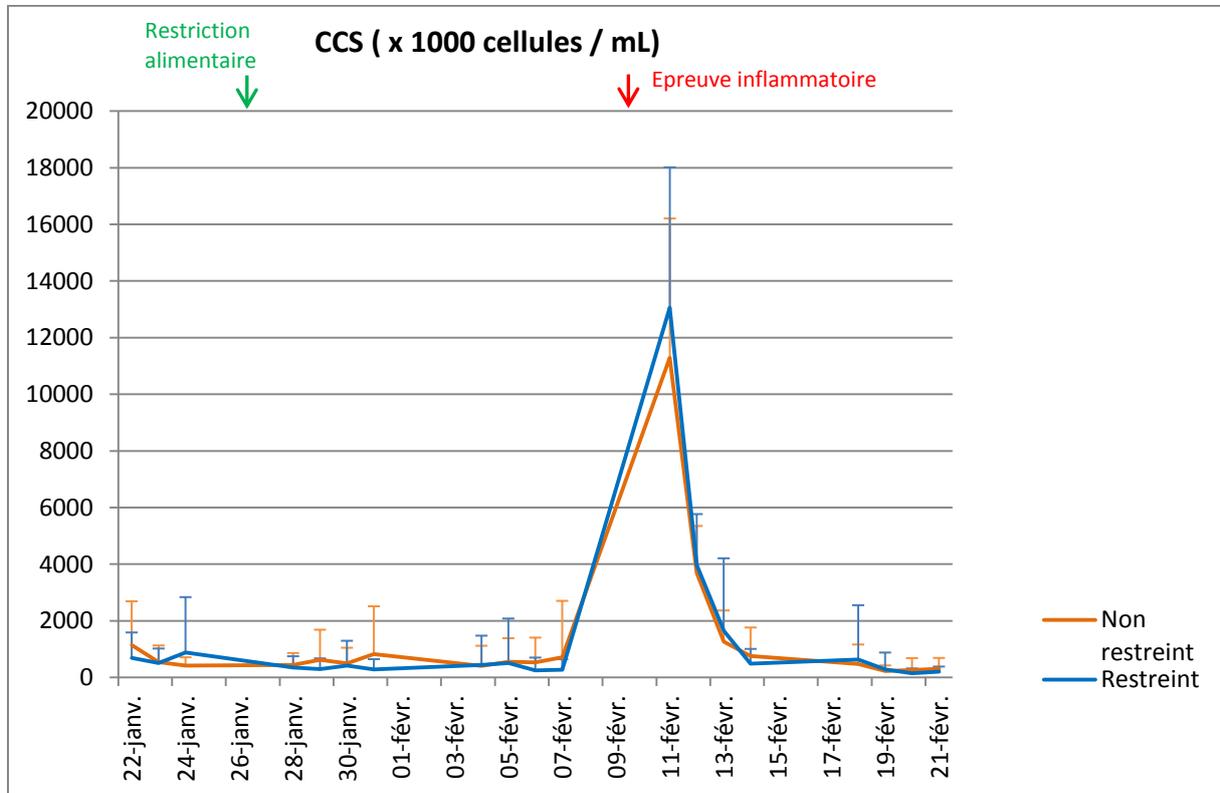


Figure 23 : Variations du Comptage de Cellules Somatiques (CCS) pour le lot restreint et le lot non restreint

On observe une augmentation très marquée, rapide mais transitoire des CCS pour tous les animaux à la suite de l'injection des composés phlogogènes (d'environ 800 000 cellules/mL à un pic d'environ 12×10^6 cellules/mL) ; l'épreuve inflammatoire a donc été efficace et a provoqué le résultat attendu. L'analyse de l'évolution des CCS dans les deux groupes montre qu'elle est identique ; il n'y a donc pas d'effet de la restriction sur la quantité de cellules recrutées dans le lait à la suite de l'épreuve inflammatoire.

✓

SCORE DE CELLULES SOMATIQUES (SCS)

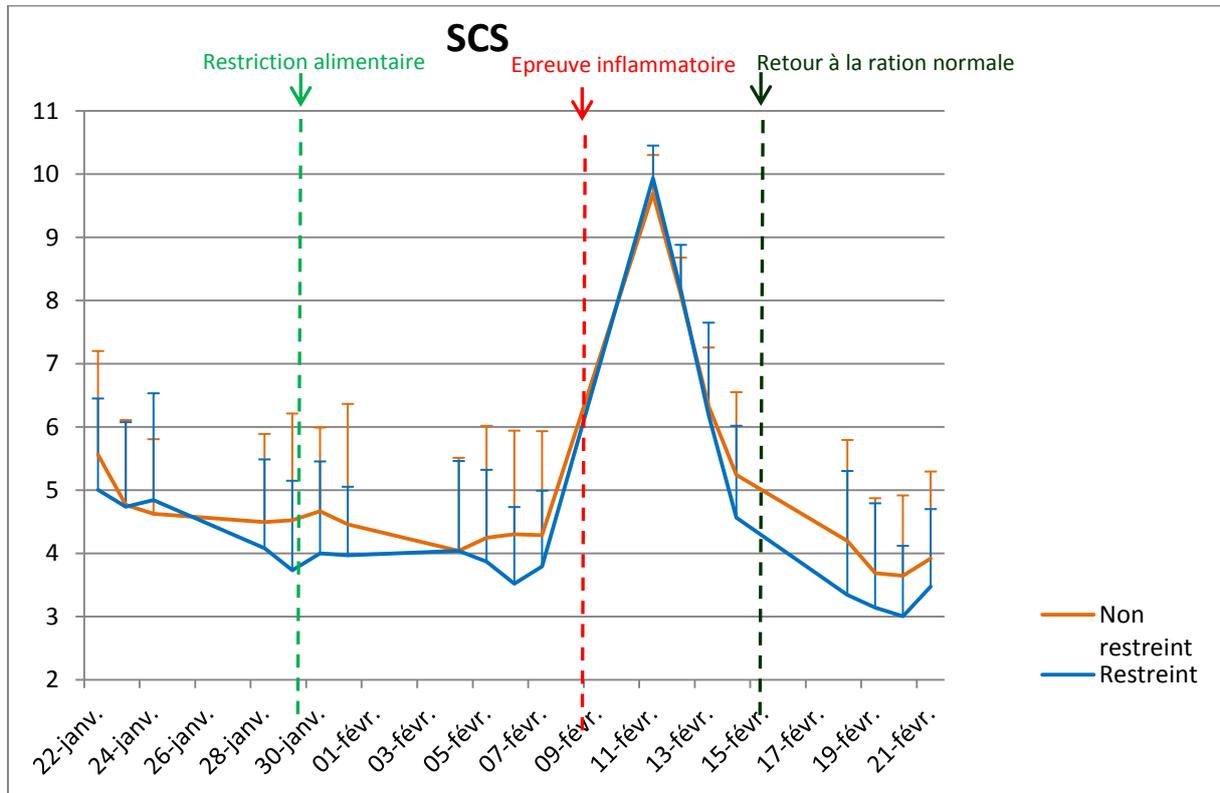


Figure 25 : Variations du Score de Cellules Somatiques (SCS) pour le lot restreint et le lot non restreint

Le Score de Cellules Somatiques (SCS) est une conversion logarithmique de base 2 des CCS. Le SCS est calculé de la façon suivante :

$$\text{SCS} = \log_2 (\text{SCC}/100\ 000) + 3.$$

Cette transformation permet d'obtenir une distribution normale des valeurs des CCS et permet donc d'analyser l'évolution des cellules somatiques du point de vue statistique.

L'évolution des SCS dans les deux lots est identique d'un point de vue statistique.

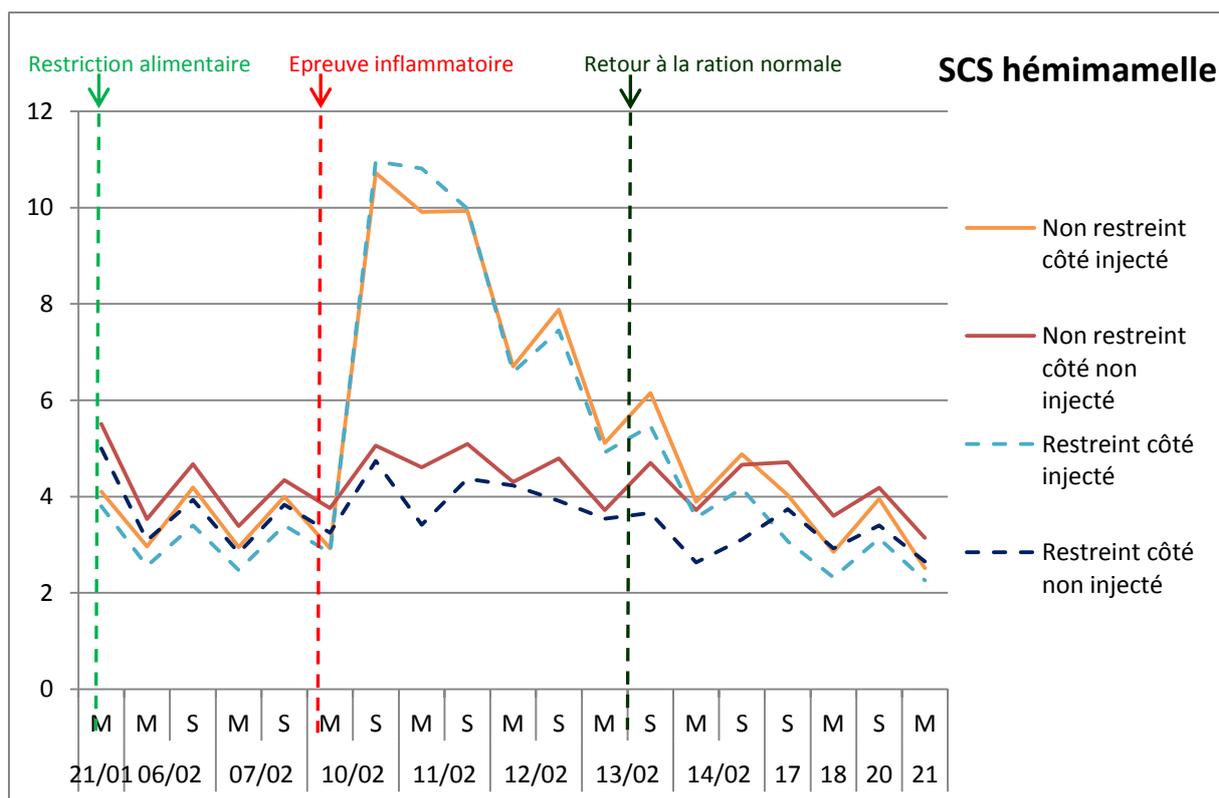


Figure 26 : Variations du SCS hémimamelle (côté injecté et côté contrôle) pour le lot restreint et le lot non restreint

Tableau 18 : Effets de la restriction énergétique sur la variation du SCS hémimamelle

(* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$)

Période	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à la ration normale
SCS côté injecté	- 7,5%	- 12,1%	- 0,6%	- 14,4%
SCS côté non injecté	- 9,2%	- 13,3%	- 13,4%	- 22,8%

L'analyse statistique ne montre pas d'effet de la restriction énergétique sur la variation du Score de Cellules Somatiques (SCS) en fonction de la restriction, que ce soit du côté injecté ou du côté non injecté.

✓ SOUS-POPULATIONS CELLULAIRES DU LAIT

Des analyses ont été réalisées pour dénombrer la proportion des différentes sous-populations cellulaires dans le lait : lymphocytes, neutrophiles et neutrophiles morts. Les différentes populations cellulaires ont été identifiées par cytométrie en flux après un marquage fluorescent permettant de les détecter. Afin d'analyser les données du point de vue statistique, la normalité des distributions a été vérifiée, et le cas échéant, les dénombrements cellulaires ont été transformés en logarithmes. Les dates analysées sont J-4, J0, et J+8h, J+24h, J+48h et J+72h avec J0, jour de l'épreuve inflammatoire.

On constate que les brebis restreintes ont un nombre de lymphocytes ($p=0,02$), de neutrophiles morts ($p=0,04$) et de neutrophiles ($p=0,08$) plus élevé que les brebis non restreintes, du côté injecté, 24 heures après l'injection des composés phlogogènes. Pour le côté non injecté (servant de contrôle), les brebis non restreintes ont une concentration de neutrophiles morts plus élevé ($p=0,008$) que les brebis restreintes, 24h après l'injection. (Figure 27)

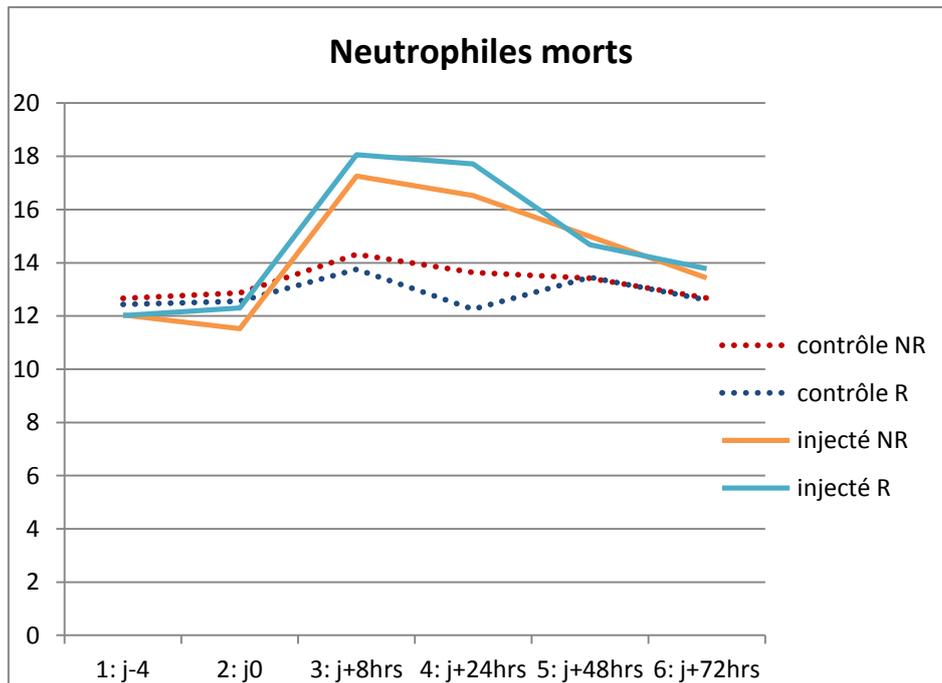


Figure 27 : Variations de la concentration de neutrophiles morts du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

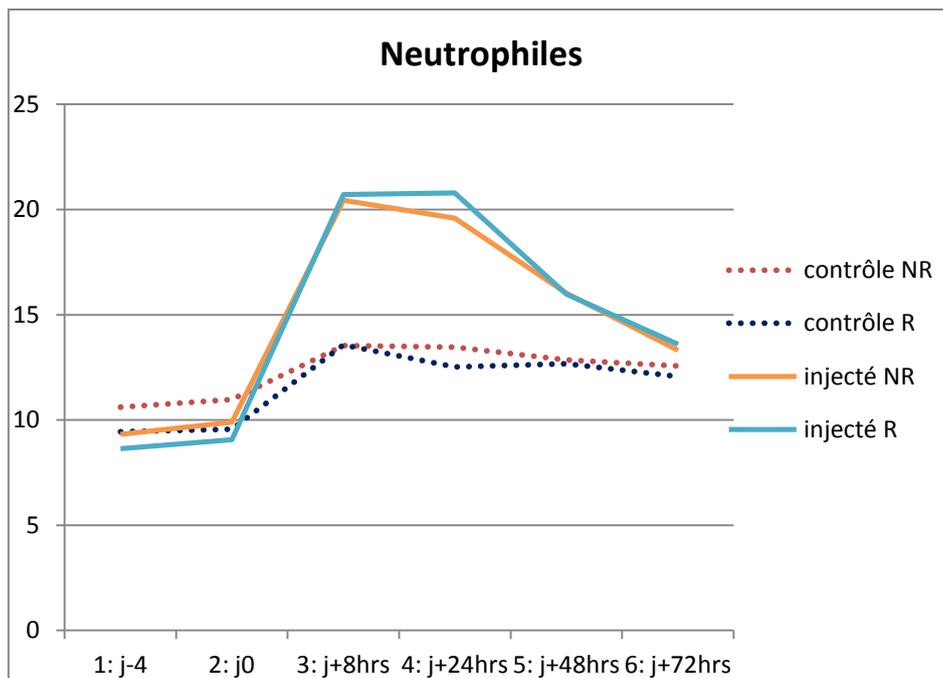


Figure 28 : Variations de la concentration de neutrophiles du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

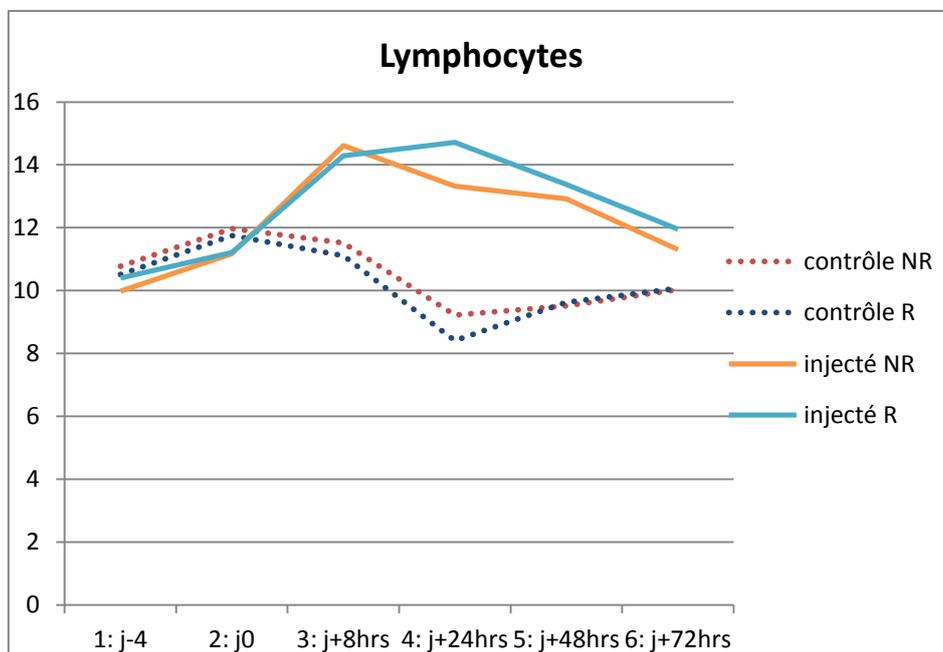


Figure 29 : Variations de la concentration de lymphocytes du lait (côté contrôle et côté injecté) pour le lot restreint (R) et le lot non restreint (NR)

✓ LEUCOCYTES SANGUINS

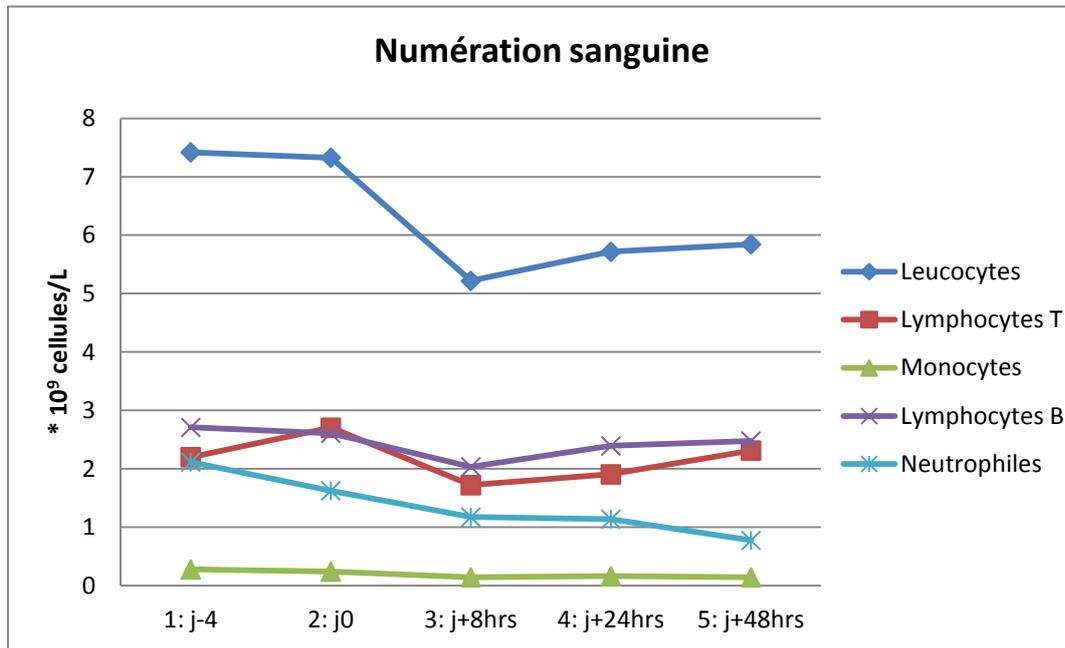


Figure 30 : Variations de la numération sanguine (moyennes des deux lots)

Après l'épreuve inflammatoire mammaire, il y a une diminution globale du nombre de leucocytes sanguins totaux par litre dans les huit heures suivant l'épreuve inflammatoire. Cette variation est en partie due à une diminution du nombre de neutrophiles et de lymphocytes. Il y a ensuite une augmentation du nombre de leucocytes au temps +8h à +48h, associée à une augmentation des lymphocytes B et T.

Une analyse statistique a également été réalisée sur la concentration des leucocytes sanguins des deux lots. Les temps analysés sont : J-4, J0, J+8h, J+24h et J+48h avec J0, jour de l'épreuve inflammatoire. On constate alors que pour l'ensemble des brebis, qu'elles appartiennent au lot restreint ou au lot non restreint, le nombre de leucocytes sanguins diminue significativement après l'injection ; la diminution est maximale huit heures après l'épreuve intra-mammaire.

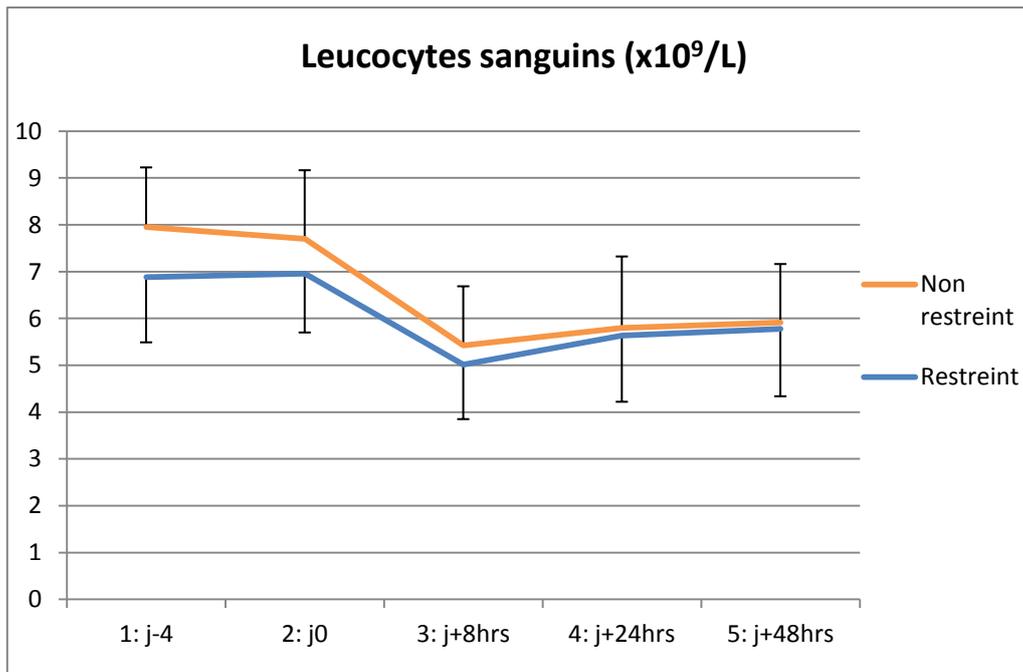


Figure 31 : Variations de la concentration de leucocytes sanguins pour le lot restreint et le lot non restreint

La restriction a un effet significatif sur le nombre de leucocytes sanguins à J-4 ($p=0,007$) et J0 ($p=0,06$) uniquement. Il y a davantage de leucocytes sanguins chez les brebis non restreintes ; cette différence disparaît après l'épreuve inflammatoire.

Cependant, l'analyse statistique ne montre pas d'effet significatif de la restriction sur les sous-populations sanguines (nombre de neutrophiles, monocytes, lymphocytes B et lymphocytes T).

F. SYNTHESE DES RESULTATS

Tableau 19 : Tableau récapitulatif des résultats en fonction des différentes périodes du protocole

	Avant restriction	Restriction énergétique	Restriction + Epreuve mammaire	Retour à l'alimentation du troupeau	Post-protocole
Critères zootechniques					
Variations de poids vif			- 5%	- 6%	- 5%
Variations de poids vif par rapport au 29-01		- 2%	- 4%	- 4%	- 3%
NEC		- 7%	- 5%		- 3%
Paramètres laitiers					
Variations de la PL			- 15%		
Variations de la PL par rapport à PL de réf.		- 14%	- 25%	- 17%	
TB		+ 19%	+ 28%	+ 10%	
QMG					
TP		- 6%	- 5%	+ 4%	
QMP			- 19%		
TB/TP		+ 28%	+ 35%	+ 5%	
Indicateurs métaboliques					
AGNE	+ 26%	+ 101%	+ 94%		
BHB	+ 14%	+ 50%	+ 41%		
Glucose		- 10%	- 10%		
Epreuve inflammatoire					
SCS					
SCS hémimamelle (côté injecté et côté non injecté)					

Peu significatif (p<0,05)	Significatif (p<0,01)	Très significatif (p<0,001)

III. Discussion

Cette étude a été réalisée pour répondre essentiellement à deux questions :

- 1. Quels sont les effets d'une restriction énergétique sur la production et le métabolisme des brebis laitières ?**
- 2. Quels sont les effets du déficit énergétique sur la réponse inflammatoire locale et systémique suite à l'épreuve mammaire ?**

A. VARIATIONS DU POIDS VIF ET DE LA NEC

Le bilan énergétique calculé correspondait à une couverture d'environ 60 % des besoins énergétiques chez les animaux restreints. Ce niveau de déficit est celui que nous souhaitons obtenir ; les conditions expérimentales sont donc satisfaites. Ce déficit était recherché car il est similaire au bilan énergétique spontané mesuré chez des vaches Holstein en début de lactation (Rastani et al. 2001).

Une perte de poids a été observée chez les animaux restreints dès le début de la restriction ; elle s'accroît à la fin de la phase de restriction et durant la période correspondant à l'épreuve inflammatoire. L'origine de cette plus forte diminution est difficile à définir. En effet, il est difficile de déterminer si cette perte de poids est accrue en raison de la réponse inflammatoire qui a été provoquée, ou si la diminution du poids s'aggrave en raison de la restriction qui se prolonge. Cette diminution a été suffisamment marquée pour qu'elle ne puisse pas être corrigée pendant la période du suivi expérimental. En effet, le lot restreint ne recouvre pas un poids corporel similaire à celui du groupe non restreint avant plusieurs semaines, et au moins quatre mois après le retour à la ration normale distribuée au reste du troupeau laitier.

Cette diminution du poids est corrélée à une diminution du volume des tissus adipeux sous-cutanés, et elle peut être évaluée par palpation des apophyses transverses lombaires, et quantifié à l'aide de la Note d'Etat Corporel. Comme attendu, la NEC diminue assez fortement après la mise-bas, et assez rapidement après la restriction, on observe une diminution de la NEC plus marquée et significative chez les animaux restreints.

Des vaches laitières, soumises à trois semaines de restriction correspondant à la couverture de 50% de leurs besoins énergétiques (restriction débutée 12 semaines post-partum), ont une diminution modérée, mais très significative de leur poids vif ($p < 0,001$), et une diminution légère mais très significative de la NEC, par rapport aux vaches non restreintes. Le poids vif diminue de 56 ± 4 kg, et la NEC diminue de $0,16 \pm 0,03$ (NEC évaluée sur une échelle de 1 à 5) suite aux trois semaines de restriction. Elles retrouvent un poids similaire aux vaches non restreintes après 2 semaines de réalimentation (Gross et al., 2011). De même, suite à la mise-bas, le poids vif diminuait de 23 ± 3 kg et la NEC diminuait modérément de $0,34 \pm 0,04$.

Les vaches restreintes ont également une diminution marquée de $0,8 \pm 0,1$ mm de l'épaisseur du gras dorsal ($p < 0,001$) et une diminution modérée de $2 \pm 0,4$ mm du diamètre du muscle long dorsal (*M. longissimus dorsi*) ($p < 0,001$) à la fin de la période de restriction. Après 8 semaines de réalimentation, l'épaisseur du gras dorsal reste plus faible chez les vaches qui ont été restreintes ($p < 0,05$). Les effets négatifs d'une restriction, même de relativement courte durée, peuvent être encore visibles ou détectables à plus ou moins long terme, en particulier sur le poids vif. Ces mesures, notamment celles réalisées à l'aide d'un échographe, auraient pu être réalisées dans notre essai de façon à quantifier la diminution des réserves corporelles. En effet, nous avons constaté une assez grande variabilité de la NEC entre expérimentateurs, ce qui en fait une valeur très relative. La mesure des épaisseurs de tissu adipeux ou du tissu musculaire serait probablement beaucoup plus précise et répétable dans le temps.

B. RESTRICTION ENERGETIQUE ET CARACTERES LAITIERS

La restriction énergétique a provoqué une diminution de la production laitière ($p < 0,01$) ainsi qu'une modification de la composition du lait : une augmentation très significative du taux butyreux ($p < 0,001$) et une diminution transitoire du taux protéique ($p < 0,001$ pendant la période de restriction seule). La quantité de matière grasse exportée n'est cependant pas modifiée et la restriction a peu d'effet sur la quantité de matière protéique ($p < 0,05$ pendant la restriction). Par contre, le rapport TB/TP est fortement augmenté pendant la restriction ($p < 0,001$).

L'augmentation du TB et du rapport TB/TP se trouve accrue lors de l'épreuve inflammatoire chez les animaux restreints. De même que pour l'évolution du poids vif, on ne peut pas discriminer l'effet de l'inflammation d'un effet prolongé de la restriction.

Dans l'étude de Gross et al. (2011), on retrouve une diminution modérée mais significative de la production laitière pendant la restriction : les vaches restreintes produisent en moyenne 3 kg de lait en moins par jour par rapport aux vaches non restreintes à la suite des trois semaines de restriction. Il y a également une diminution modérée du TP ($p < 0,001$) associée à une légère augmentation du TB ($p < 0,10$) après trois semaines de restriction. Il en résulte une augmentation modérée du rapport TB/TP ($p < 0,05$) dans le lot restreint par rapport au lot non restreint : le rapport est de 1,4 pour les vaches restreintes contre 1,3 pour celles qui ne le sont pas. Puis, durant la période de réalimentation, la production laitière et le rapport TB/TP du lot restreint sont identiques dans les deux lots. La teneur en lactose n'est pas affectée par la restriction. On retrouve une légère diminution de la production laitière après trois jours de restriction énergétique (deux jours de restriction à 75% des besoins suivis d'un jour à 50% des besoins) dans l'étude de Schütz et al. (2013), mais il n'y a pas de différence de production laitière entre les vaches avec une NEC basse et les vaches avec une NEC plus élevée. Les effets apparaissent après une durée de restriction énergétique suffisamment longue et d'au moins une semaine. On peut noter la grande similitude des résultats obtenus entre les espèces ovine et bovine dans des conditions de modulation des besoins énergétiques d'intensité identique ou proche.

C. INDICATEURS METABOLIQUES

La restriction énergétique induit une forte augmentation des concentrations plasmatiques des AGNE et du BHB. Les concentrations redeviennent identiques à celles du groupe témoin dès la fin de la restriction, indiquant que ces modifications sont très fidèles à l'évolution du bilan énergétique. Schütz et al., 2013 constatent également une augmentation des concentrations plasmatiques des AGNE et du BHB ($p < 0,001$) après 3 jours de restriction chez des vaches laitières. Les vaches dont la NEC est plus élevée ont tendance à avoir des concentrations des AGNE et du BHB plus élevées. De même, une restriction de 7 jours avec une couverture de seulement 60% des besoins énergétiques chez des vaches Holstein conduit à une augmentation très significative des concentrations des AGNE et du BHB, par rapport

aux vaches non restreintes (environ 1 vs 0,3 mmol/L pour la concentration des AGNE et environ 0,8 vs 0,5 mmol/L pour la concentration du BHB), pendant la période de restriction et de l'infection expérimentale intra-mammaire avec *Streptococcus uberis* (Moyes et al., 2009).

Les concentrations des AGNE et du BHB diminuent de façon modérée suite à l'épreuve inflammatoire. Ceci est également observé dans l'étude de Zarrin et al. (2014) : après l'administration intra-mammaire de LPS à des vaches Holstein, les concentrations plasmatiques en BHB diminuaient ($p < 0,01$).

La glycémie est diminuée de façon très significative chez les brebis restreintes durant toute la période de restriction. Au moment de la réalimentation et du retour à la ration normale, la glycémie se normalise. Une légère diminution de la glycémie ($0,16 \pm 0,02$ mmol/L ; $p < 0,05$) chez des vaches restreintes, accompagnée d'une augmentation de la concentration des AGNE ($0,08 \pm 0,02$ mmol/L ; $p < 0,001$) et du BHB ($0,13 \pm 0,03$ mmol/L ; $p < 0,001$), est retrouvée dans l'étude de Gross et al. (2011). Cependant, cette observation est en contradiction avec l'étude de Moyes et al. (2009) où la restriction pendant sept jours n'a pas modifié la glycémie.

La restriction énergétique entraîne donc une augmentation très significative des concentrations plasmatiques des AGNE et du BHB, et une diminution de la glycémie. Dans des conditions où le déficit énergétique est de même intensité, les variations mesurées chez la vache et chez la brebis laitière sont très semblables.

Ces modifications de la concentration plasmatique de divers métabolites peuvent avoir des conséquences négatives sur les fonctions immunitaires (Lacetera et al. 2004 ; Lacetera et al. 2002 ; Suriyasathaporn et al., 1999 ; Franklin et al., 1991 ; Cerone et al., 2007 ; Kluciński et al. 1988).

D. REPONSE INFLAMMATOIRE MAMMAIRE

Nous avons vu dans l'étude bibliographique présentée au début de ce travail qu'en présence d'un déficit énergétique, divers paramètres immunitaires pouvaient être altérés :

- atteinte de la fonction des lymphocytes avec diminution de la synthèse des IgM,
- diminution de la prolifération des lymphocytes,
- diminution du chimiotactisme des leucocytes sanguins et des neutrophiles du lait,

- diminution de la phagocytose par les macrophages.

Le recrutement des cellules somatiques est en partie le reflet de la réponse inflammatoire mammaire qui se développe à la suite d'une infection par exemple, ou dans notre cas de l'injection de phlogogènes d'origine bactérienne : les cellules présentes dans le lait font partie intégrante des mécanismes de défense et incluent des lymphocytes, des macrophages, des neutrophiles et parfois quelques cellules épithéliales, du fait de la desquamation de l'épithélium par apoptose.

Dans nos conditions, la restriction énergétique n'a pas modifié la Concentration des Cellules Somatiques et le Score de Cellules Somatiques suite à l'injection des composés Pam₃CSK₄ et MDP. Les CCS et SCS des deux lots sont en effet identiques dans l'hémi-mamelle éprouvée : on observe une augmentation marquée, rapide et transitoire du CCS (et du SCS) à la suite de l'injection des composés. Malgré le déficit énergétique, les animaux restreints sont capables d'initier une réponse inflammatoire intense et sans retard après l'injection intra-mammaire. Dans l'étude de Moyes et al. (2010) aucune différence des valeurs de CCS n'a été observée entre les vaches restreintes (à 60% des besoins énergétiques) et les vaches non restreintes suite à l'inoculation intra-mammaire de *Streptococcus uberis*.

Dans notre étude, les brebis restreintes ont des concentrations de certaines sous-populations cellulaires du lait (lymphocytes, neutrophiles et neutrophiles morts) plus élevées dans l'hémi-mamelle injectée des brebis non restreintes, 24 heures après l'épreuve inflammatoire mammaire. Ceci est en désaccord avec l'étude de Cerone et al (2007) montrant une diminution du chimiotactisme des neutrophiles du lait en présence de concentrations élevées de corps cétoniques. Le renouvellement cellulaire est donc différent entre les deux lots avant l'épreuve inflammatoire. Ce renouvellement est soit dû à une mobilisation des réserves médullaires plus marquée (mobilisation contrôlée par des facteurs solubles) soit à une exportation plus grande vers le tissu mammaire chez les brebis restreintes.

La numération des leucocytes sanguins est plus élevée chez les brebis non restreintes par rapport à celles qui le sont, quatre jours avant l'injection et le jour de l'épreuve. Il y a globalement un nombre de leucocytes sanguins plus élevé pour le lot non restreint, mais cette différence n'est plus significative après l'épreuve. Ceci est en accord avec l'étude de Morris et al. (2009) qui a constaté que les vaches avec un NEB sévère présentaient un comptage en globules blancs (et en lymphocytes) significativement plus faible que les vaches avec un NEB

modéré. Par ailleurs, cette différence de numération des leucocytes sanguins dans notre étude ne se traduit pas par une concentration différente des leucocytes du lait ; en effet, ce sont les brebis restreintes qui ont un nombre de sous-populations cellulaires du lait plus élevé après l'épreuve inflammatoire. Les leucocytes sanguins doivent traverser plusieurs barrières pour arriver dans le lait (barrière endothéliale, épithélium mammaire). On peut donc supposer qu'au moins une de ces étapes est affectée par la restriction et engendre des modifications au niveau des concentrations cellulaires. En outre, nous n'avons pas analysé les fonctions des cellules, telles que la phagocytose ou encore la production de facteurs bactéricides, qui peuvent être modifiées par le déficit énergétique.

Franklin et al. (1991) a également montré que la prolifération des lymphocytes *in vitro* à des concentrations faibles de glucose était diminuée dans des milieux contenant des corps cétoniques. Or, dans notre étude, il n'y a pas de différence entre les deux lots dans les numérations de lymphocytes sanguins, et les brebis restreintes (qui ont une glycémie plus faible que les brebis du lot non restreint) ont un nombre de lymphocytes dans le lait supérieur aux brebis non restreintes 24 heures après l'épreuve, dans l'hémi-mamelle qui a été injectée.

Suite à l'épreuve inflammatoire, il y a une augmentation de la concentration de neutrophiles, de neutrophiles morts et de lymphocytes du lait dans l'hémi-mamelle éprouvée, avec un pic observé entre huit et 24 heures post-injection. Une infection intra-mammaire à *Staphylococcus epidermidis* chez des brebis laitières induit également une augmentation intense et transitoire des leucocytes du lait à partir de 4 heures après l'inoculation, avec un pic qui apparaît environ huit heures après l'inoculation. Ce pic de leucocytes dans le lait est accompagné d'une leucopénie modérée (Winter et al., 2002). De même, dans notre expérience, on observe une diminution significative des leucocytes sanguins après l'épreuve mammaire, avec une diminution maximale huit heures après l'injection intra-mammaire, atteignant en moyenne 5×10^9 leucocytes/L pour le lot restreint et $5,5 \times 10^9$ leucocytes/L pour le lot non restreint.

L'augmentation des CCS suite à l'épreuve inflammatoire est similaire dans les deux groupes, alors que le groupe restreint présente des concentrations plasmatiques de BHB plus élevées que le groupe témoin avant l'épreuve inflammatoire. Ce résultat est différent de celui obtenu après une injection de LPS chez des vaches laitières avec des valeurs de BHB augmentées : Zarrin et al. (2014) ont observé une augmentation des CCS significativement plus faible ($p < 0,01$) chez les animaux hypercétonémiques (leur concentration plasmatique de

BHB a été augmentée par une perfusion intraveineuse de BHB pour atteindre une concentration comprise entre 1,5 et 2,0 mmol/L) que chez les animaux du groupe contrôle (normocétonémiques, perfusion intraveineuse de NaCl). Cependant, les deux études diffèrent par le fait que :

- i) les valeurs de BHB sont double par rapport aux autres études et à notre essai ;
- ii) les animaux hypercétanémiques de l'étude de Zarrin et al. (2014) ont une glycémie et une concentration des AGNE dans les valeurs usuelles, contrairement à notre étude où les brebis restreintes ont une glycémie plus faible et une concentration des AGNE plus élevées.

L'augmentation moins marquée des CCS en présence de concentrations plasmatiques élevées de BHB pourrait être expliquée par les effets négatifs du BHB sur le recrutement des neutrophiles. En effet, des études *in vitro* ont montré que des concentrations plasmatiques élevées de BHB diminuent le chimiotactisme des neutrophiles du lait (Cerone et al., 2007 ; Klucinsky et al., 1988).

Perkins et al. (2002) se sont intéressés aux effets d'une restriction énergétique sur la réponse clinique aiguë suite à l'injection intra-mammaire de LPS à des vaches laitières. L'impact du déficit énergétique sur la réponse clinique aiguë est minime : la température rectale, la fréquence cardiaque et respiratoire sont légèrement plus faibles chez les vaches restreintes dans les six premières heures post-injection. De plus, la restriction énergétique n'a pas d'effet sur les CCS suite au challenge intra-mammaire (ni d'effet sur la concentration plasmatique de TNF- α , la concentration des leucocytes ou les concentrations du TNF- α et des IgG dans le lait).

Pengov (2001) s'est intéressé à la valeur seuil des CCS qui permettrait de considérer qu'une mamelle est infectée chez la brebis laitière. A partir d'échantillons provenant de 251 brebis, il a établi un seuil de 250×10^3 cellules par mL, ce qui permet d'avoir une sensibilité de 97,6% et une spécificité de 82%. Selon cette étude, les CCS provenant de mamelles de brebis non infectées ou de mamelles infectées par des agents pathogènes majeurs sont similaires aux valeurs de CCS établies dans l'espèce bovine. Il y a cependant une différence entre vaches et brebis lors d'une infection par des staphylocoques à coagulase négative : les CCS des brebis sont en moyenne dix fois plus élevées que les CCS mesurées chez la vache.

Rivas et al. (2001) ont étudié l'évolution des sous-populations cellulaires du lait suite à une inoculation intra-mammaire de *Staphylococcus aureus*. Selon leur étude, la cytométrie en flux permet d'identifier trois « statuts » inflammatoires : pas d'inflammation, une inflammation précoce (1 à 8 jours post-inoculation) et une inflammation tardive (9 à 14 jours post-inoculation). Les lymphocytes sont prédominants dans les glandes mammaires non infectées alors que les neutrophiles sont prédominants dans la première phase de l'inflammation. Dans la phase d'inflammation précoce, le pourcentage de lymphocytes diminue alors que celui des neutrophiles augmente et inversement lors de la phase d'inflammation tardive. Le pourcentage de macrophages n'est pas modifié de façon significative après l'inoculation.

La cytométrie en flux est une approche diagnostique des mammites plus fiable que le Comptage de Cellules Somatiques pour identifier les échantillons dont les CCS sont faibles, dans des conditions où la spécificité du CCS est faible, mais la sensibilité de ces deux méthodes est similaire. (Rivas et al., 2001) De plus, le CCS est une méthode plus accessible et généralisée à la plupart des élevages laitiers. Elle reste donc la méthode préférentielle pour la détection des infections mammaires. Dans l'essai, malgré le recours à la cytométrie de flux pour distinguer les différentes sous-populations du lait, nous n'avons observé qu'un faible impact de la restriction énergétique sur le recrutement des cellules dans le lait lors d'une épreuve inflammatoire.

CONCLUSION

Un bilan énergétique négatif conduit à une lipomobilisation accrue à l'origine d'une augmentation des concentrations plasmatiques des acides gras non estérifiés et des corps cétoniques. Elles peuvent altérer les mécanismes immunitaires mobilisés lors d'une infection. On remarque notamment que l'incidence des maladies métaboliques et infectieuses est augmentée durant la période de transition, période durant laquelle les ruminants laitiers sont soumis à une demande énergétique accrue. Certaines études indiquent notamment qu'une concentration élevée des acides gras non estérifiés ou du béta-hydroxybutyrate est associée à un risque plus élevé de développement des mammites en début de lactation. Or, les mammites constituent une affection majeure à l'origine de pertes économiques marquées dans la filière laitière.

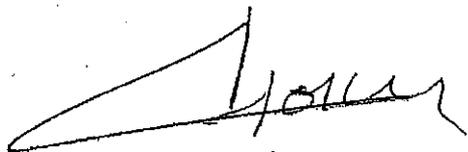
Des études principalement menées chez la vache laitière ont montré qu'un déficit énergétique et ses conséquences métaboliques peuvent altérer les fonctions des leucocytes, alors qu'à l'inverse, le glucose et la glutamine stimulent la réponse immunitaire. Le déficit énergétique a notamment des répercussions sur l'expression de gènes intervenant dans la réponse immunitaire locale et systémique (notamment hépatique) lors d'une épreuve infectieuse intra-mammaire.

Un déficit énergétique induit expérimentalement chez des brebis laitières entraîne une diminution significative de la production laitière associée à une augmentation de la cétonémie et une diminution de la glycémie. La détermination du Score de Cellules Somatiques et l'identification des sous-populations cellulaires du lait n'ont pas permis de mettre en évidence des différences majeures de la réponse inflammatoire des brebis restreintes suite à une épreuve intra-mammaire induite par des composés phlogogènes et ce, malgré l'augmentation des concentrations plasmatiques des AGNE et du BHB.

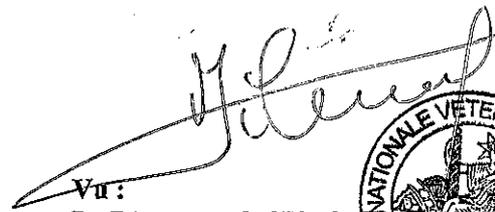
AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

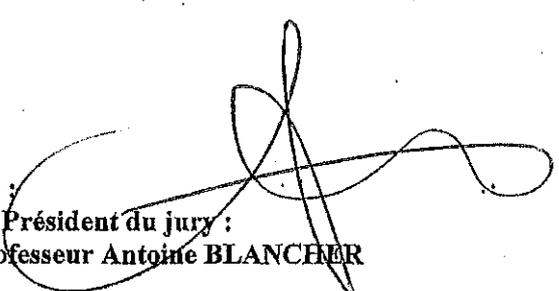
Je soussigné, *Gilles FOUCRAS*, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de *RIBEIRO Claudia* intitulée « *Evaluation expérimentale des conséquences d'une restriction énergétique en début de lactation sur la réponse inflammatoire mammaire chez la brebis laitière.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 17 novembre 2014
Professeur Gilles FOUCRAS
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



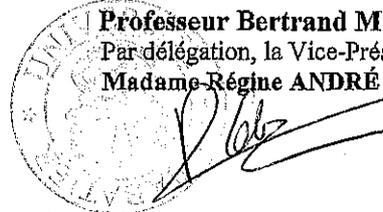
Vu :
Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Antoine BLANCHER

Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier

Professeur Bertrand MONTHUBERT
Par déléation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



Melle RIBEIRO Claudia
a été admis(e) sur concours en : 2009
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2013
a validé son année d'approfondissement le : 18/09/2014
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Ecole nationale Vétérinaire- 23, chemin des capelles - 31076 Toulouse Cedex 3 - France

BIBLIOGRAPHIE

- ABUTARBUSH, Sameeh M., 2010. Veterinary Medicine - A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats, 10th edition. *The Canadian Veterinary Journal*. mai 2010. Vol. 51, n° 5, pp. 541.
- AITKEN, Stacey L., CORL, Christine M. et SORDILLO, Lorraine M., 2011. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. décembre 2011. Vol. 16, n° 4, pp. 291-304.
- ALIBERTI, J., SERHAN, C. et SHER, A., 2002. Parasite-induced Lipoxin A4 Is an Endogenous Regulator of IL-12 Production and Immunopathology in *Toxoplasma gondii* Infection. *Journal of Experimental Medicine*. 4 novembre 2002. Vol. 196, n° 9, pp. 1253-1262.
- BAFICA, Andre, SCANGA, Charles A., SERHAN, Charles, MACHADO, Fabiana, WHITE, Sandy, SHER, Alan et ALIBERTI, Julio, 2005. Host control of *Mycobacterium tuberculosis* is regulated by 5-lipoxygenase-dependent lipoxin production. *Journal of Clinical Investigation*. 1 juin 2005. Vol. 115, n° 6, pp. 1601-1606.
- BARGHOUTH, S., EVERETT, K. D. et SPEERT, D. P., 1995. Nonopsonic phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* requires facilitated transport of D-glucose by macrophages. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. 1 avril 1995. Vol. 154, n° 7, pp. 3420-3428.
- BEAUDEAU, F., FOURICHON, C., SEEGER, H. et BAREILLE, N., 2002. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic-cell counts. *Preventive veterinary medicine*. 2002. Vol. 53, n° 1, pp. 43-54.
- BECHTEL, William, 2005. The Challenge of Characterizing Operations in the Mechanisms Underlying Behavior. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*. novembre 2005. Vol. 84, n° 3, pp. 313-325.
- BUCKLEY, Christopher D., GILROY, Derek W. et SERHAN, Charles N., 2014. Proresolving Lipid Mediators and Mechanisms in the Resolution of Acute Inflammation. *Immunity*. mars 2014. Vol. 40, n° 3, pp. 315-327.
- CERONE, S. I., SANSINANE, A. S. et GARCÍA, M. C., 2007. Effects of beta-hydroxybutyric acid on bovine milk leukocytes function in vitro. *General Physiology and Biophysics*. mars 2007. Vol. 26, n° 1, pp. 14-19.
- CHILLIARD, Y., 1987. [Bibliographic review: quantitative variations and metabolism of lipids in adipose tissue and liver during the gestation-lactation cycle. 2: In the ewe and the cow]. *Reproduction, Nutrition, Development*. 1987. Vol. 27, n° 2A, pp. 327-398.

COLLARD, B. L., BOETTCHER, P. J., DEKKERS, J. C. M., PETITCLERC, D. et SCHAEFFER, L. R., 2000. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *Journal of dairy science*. 2000. Vol. 83, n° 11, pp. 2683–2690.

CONTRERAS, G. A., MATTMILLER, S. A., RAPHAEL, W., GANDY, J. C. et SORDILLO, L. M., 2012. Enhanced n-3 phospholipid content reduces inflammatory responses in bovine endothelial cells. *Journal of Dairy Science*. décembre 2012. Vol. 95, n° 12, pp. 7137-7150.

CONTRERAS, G.A., RAPHAEL, W., MATTMILLER, S.A., GANDY, J. et SORDILLO, L.M., 2012. Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells. *Journal of Dairy Science*. septembre 2012. Vol. 95, n° 9, pp. 5011-5023.

DRACKLEY, J. K., VEENHUIZEN, J. J., RICHARD, M. J. et YOUNG, J. W., 1991. Metabolic changes in blood and liver of dairy cows during either feed restriction or administration of 1,3-butanediol. *Journal of Dairy Science*. décembre 1991. Vol. 74, n° 12, pp. 4254- 4264.

DOEPEL, L., LESSARD, M., GAGNON, N., LOBLEY, G. E., BERNIER, J. F., DUBREUIL, P. et LAPIERRE, H., 2006. Effect of postprandial glutamine supplementation on immune response and milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. août 2006. Vol. 89, n° 8, pp. 3107-3121.

DRACKLEY, J. K., 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*. novembre 1999. Vol. 82, n° 11, pp. 2259-2273.

DUFFIELD, T.F., LISSEMORE, K.D., MCBRIDE, B.W. et LESLIE, K.E., 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*. février 2009. Vol. 92, n° 2, pp. 571-580.

ENJALBERT, F., NICOT, M. C., BAYOURTHE, C. et MONCOULON, R., 2001. Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: Relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *Journal of dairy science*. 2001. Vol. 84, n° 3, pp. 583–589.

FRANKLIN, S. T., YOUNG, J. W. et NONNECKE, B. J., 1991. Effects of ketones, acetate, butyrate, and glucose on bovine lymphocyte proliferation. *Journal of Dairy Science*. août 1991. Vol. 74, n° 8, pp. 2507-2514.

FURUKAWA, S., SAITO, H., INOUE, T., MATSUDA, T., FUKATSU, K., HAN, I., IKEDA, S. et HIDEMURA, A., 2000. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vitro. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*. mai 2000. Vol. 16, n° 5, pp. 323-329.

GOFF, J. P., 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *Journal of Dairy Science*. 2006. Vol. 89, n° 4, pp. 1292–1301.

GOFF, J. P. et HORST, R. L., 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*. juillet 1997. Vol. 80, n° 7, pp. 1260-1268.

GROSS, J., VAN DORLAND, H.A., BRUCKMAIER, R.M. et SCHWARZ, F.J., 2011. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. *Journal of Dairy Science*. avril 2011. Vol. 94, n° 4, pp. 1820-1830.

HERINGSTAD, B., KLEMETSDAL, G. et STEINE, T., 2007. Selection Responses for Disease Resistance in Two Selection Experiments with Norwegian Red Cows. *Journal of Dairy Science*. mai 2007. Vol. 90, n° 5, pp. 2419-2426.

INGVARTSEN, K. L. et MOYES, K., 2013. Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *animal*. mars 2013. Vol. 7, n° s1, pp. 112-122.

JÁNOSI, Sz, KULCSÁR, Margit, KÓRÓDI, P., KATAI, L., REICZIGEL, J., DIELEMAN, S. J., NIKOLIC, Judit Anna, SÁLYI, G., RIBICZEY-SZABÓ, Piroška et HUSZENICZA, Gy, 2003. Energy imbalance related predisposition to mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica*. 2003. Vol. 51, n° 3, pp. 409-424.

JIANG, Li, SØRENSEN, Peter, RØNTVED, Christine, VELS, Lotte et INGVARTSEN, Klaus L, 2008. Gene expression profiling of liver from dairy cows treated intra-mammary with lipopolysaccharide. *BMC Genomics*. 2008. Vol. 9, n° 1, pp. 443.

KLUCIŃSKI, W., DEGÓRSKI, A., MIERNIK-DEGÓRSKA, E., TARGOWSKI, S. et WINNICKA, A., 1988. Effect of ketone bodies on the phagocytic activity of bovine milk macrophages and polymorphonuclear leukocytes. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin. Reihe A*. septembre 1988. Vol. 35, n° 8, pp. 632-639.

KREMER, W. D., NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N., GROMMERS, F. J., SCHUKKEN, Y. H., HEERINGA, R., BRAND, A. et BURVENICH, C., 1993. Severity of experimental *Escherichia coli* mastitis in ketonemic and nonketonemic dairy cows. *Journal of Dairy Science*. novembre 1993. Vol. 76, n° 11, pp. 3428-3436.

LACETERA, Nicola, FRANCI, Ombretta, SCALIA, Daniela, BERNABUCCI, Umberto, RONCHI, Bruno et NARDONE, Alessandro, 2002. Effects of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate on functions of mononuclear cells obtained from ewes. *American Journal of Veterinary Research*. mars 2002. Vol. 63, n° 3, pp. 414-418.

LACETERA, Nicola, SCALIA, Daniela, FRANCI, Ombretta, BERNABUCCI, Umberto, RONCHI, Bruno et NARDONE, Alessandro, 2004. Effects of Nonesterified Fatty Acids on Lymphocyte Function in Dairy Heifers. *Journal of dairy science*. 2004. Vol. 87, n° 4, pp. 1012-1014.

LOOR, Juan J., MOYES, Kasey M. et BIONAZ, Massimo, 2011. Functional Adaptations of the Transcriptome to Mastitis-Causing Pathogens: The Mammary Gland and Beyond. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. décembre 2011. Vol. 16, n° 4, pp. 305-322.

LU, Jing, ANTUNES FERNANDES, Elsa, PÁEZ CANO, Ana Elizabeth, VINITWATANAKHUN, Jantipa, BOEREN, Sjeff, VAN HOOIJDONK, Toon, VAN KNEGSEL, Ariette, VERVOORT, Jacques et HETTINGA, Kasper Arthur, 2013. Changes in Milk Proteome and Metabolome Associated with Dry Period Length, Energy Balance, and Lactation Stage in Postparturient Dairy Cows. *Journal of Proteome Research*. 5 juillet 2013. Vol. 12, n° 7, pp. 3288-3296.

MORRIS, D. G., WATERS, S. M., MCCARTHY, S. D., PATTON, J., EARLEY, B., FITZPATRICK, R., MURPHY, J. J., DISKIN, M. G., KENNY, D. A., BRASS, A. et WATHES, D. C., 2009. Pleiotropic effects of negative energy balance in the postpartum dairy cow on splenic gene expression: repercussions for innate and adaptive immunity. *Physiological Genomics*. 9 septembre 2009. Vol. 39, n° 1, pp. 28-37.

MOYES, Kasey M., DRACKLEY, James K., MORIN, Dawn E. et LOOR, Juan J., 2010. Greater expression of TLR2, TLR4, and IL6 due to negative energy balance is associated with lower expression of HLA-DRA and HLA-A in bovine blood neutrophils after intramammary mastitis challenge with *Streptococcus uberis*. *Functional & Integrative Genomics*. mars 2010. Vol. 10, n° 1, pp. 53-61.

MOYES, K.M., DRACKLEY, J.K., SALAK-JOHNSON, J.L., MORIN, D.E., HOPE, J.C. et LOOR, J.J., 2009. Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis* mastitis challenge in dairy cows during midlactation. *Journal of Dairy Science*. septembre 2009. Vol. 92, n° 9, pp. 4301-4316.

MOYES, K.M., LARSEN, T., FRIGGENS, N.C., DRACKLEY, J.K. et INGVARTSEN, K.L., 2009. Identification of potential markers in blood for the development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation. *Journal of Dairy Science*. novembre 2009. Vol. 92, n° 11, pp. 5419- 5428. DOI 10.3168/jds.2009-2088.

OGLE, C. K., OGLE, J. D., MAO, J. X., SIMON, J., NOEL, J. G., LI, B. G. et ALEXANDER, J. W., 1994. Effect of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and pediatric burn patient neutrophils. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*. avril 1994. Vol. 18, n° 2, pp. 128-133. OVIEDO-BOYSO, Javier, VALDEZ-ALARCÓN, Juan J., CAJERO-JUÁREZ, Marcos, OCHOA-ZARZOSA, Alejandra, LÓPEZ-MEZA, Joel E., BRAVO-PATIÑO, Alejandro et BAIZABAL-AGUIRRE, Víctor M., 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*. avril 2007. Vol. 54, n° 4, pp. 399-409.

PENGOV, A., 2001. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*. mars 2001. Vol. 84, n° 3, pp. 572- 574.

PERKINS, K. H., VANDEHAAR, M. J., BURTON, J. L., LIESMAN, J. S., ERSKINE, R. J. et ELSASSER, T. H., 2002. Clinical responses to intramammary endotoxin infusion in dairy cows subjected to feed restriction. *Journal of dairy science*. 2002. Vol. 85, n° 7, pp. 1724–1731.

PERKINS, K. H., VANDEHAAR, M. J., TEMPELMAN R.J. et BURTON, J. L., 2001. Negative energy balance does not decrease expression of leukocyte adhesion or antigen-presenting molecules in cattle. *Journal of dairy science*. 2001. Vol. 84, n° 2, pp. 421–428.

PITHON-CURI, Tania Cristina, DE MELO, Mariza Pires et CURI, Rui, 2004. Glucose and glutamine utilization by rat lymphocytes, monocytes and neutrophils in culture: a comparative study. *Cell Biochemistry and Function*. octobre 2004. Vol. 22, n° 5, pp. 321-326.

RASTANI, R. R., ANDREW, S. M., ZINN, S. A. et SNIFFEN, C. J., 2001. Body composition and estimated tissue energy balance in Jersey and Holstein cows during early lactation. *Journal of dairy science*. 2001. Vol. 84, n° 5, pp. 1201–1209.

REVILLARD J.-P., Immunologie 4^{ème} édition, 2001, éditeur De Boeck.

RIVAS, A. L., QUIMBY, F. W., BLUE, J. et COKSAYGAN, O., 2001. Longitudinal Evaluation of Bovine Mammary Gland Health Status by Somatic Cell Counting, Flow Cytometry, and Cytology. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1 septembre 2001. Vol. 13, n° 5, pp. 399-407.

RUPP, R., BERGONIER, D., DION, S., HYGONENQ, M.C., AUREL, M.R., ROBERT-GRANIÉ, C. et FOUCRAS, G., 2009. Response to somatic cell count-based selection for mastitis resistance in a divergent selection experiment in sheep. *Journal of Dairy Science*. mars 2009. Vol. 92, n° 3, pp. 1203-1219.

RUSSELL, Clark D. et SCHWARZE, Jürgen, 2014. The role of pro-resolution lipid mediators in infectious disease. *Immunology*. février 2014. Vol. 141, n° 2, pp. 166-173.

SCHMITZ, S, PFAFFL, M.W, MEYER, H.H.D et BRUCKMAIER, R.M, 2004. Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during LPS-induced mastitis. *Domestic Animal Endocrinology*. mars 2004. Vol. 26, n° 2, pp. 111-126.

SCHÜTZ, K.E., COX, N.R., MACDONALD, K.A., ROCHE, J.R., VERKERK, G.A., ROGERS, A.R., TUCKER, C.B., MATTHEWS, L.R., MEIER, S. et WEBSTER, J.R., 2013. Behavioral and physiological effects of a short-term feed restriction in lactating dairy cattle with different body condition scores at calving. *Journal of Dairy Science*. juillet 2013. Vol. 96, n° 7, pp. 4465-4476.

SERHAN, Charles N., CHIANG, Nan et VAN DYKE, Thomas E., 2008. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology*. mai 2008. Vol. 8, n° 5, pp. 349-361.

SORDILLO, L. M. et PEEL, J. E., 1992. Effect of interferon-gamma on the production of tumor necrosis factor during acute Escherichia coli mastitis. *Journal of Dairy Science*. août 1992. Vol. 75, n° 8, pp. 2119- 2125.

SORDILLO, Lorraine M., 2005. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*. décembre 2005. Vol. 98, n° 1-2, pp. 89- 99.

SURIYASATHAPORN, W., DAEMEN, A. J., NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N., DIELEMAN, S. J., NIELEN, M. et SCHUKKEN, Y. H., 1999. Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. mai 1999. Vol. 68, n° 2-4, pp. 177-186.

SURIYASATHAPORN, Witaya, HEUER, Cord, NOORDHUIZEN-STASSEN, Elsbeth N. et SCHUKKEN, Ynte H., 2000. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Veterinary Research*. 2000. Vol. 31, n° 4, pp. 397-412.

VELS, L., RØNTVED, C. M., BJERRING, M. et INGVARTSEN, K. L., 2009. Cytokine and acute phase protein gene expression in repeated liver biopsies of dairy cows with a lipopolysaccharide-induced mastitis. *Journal of Dairy Science*. mars 2009. Vol. 92, n° 3, pp. 922-934.

WALLACE, C. et KEAST, D., 1992. Glutamine and macrophage function. *Metabolism: Clinical and Experimental*. septembre 1992. Vol. 41, n° 9, pp. 1016-1020.

WEISDORF, D. J., CRADDOCK, P. R. et JACOB, H. S., 1982. Glycogenolysis versus glucose transport in human granulocytes: differential activation in phagocytosis and chemotaxis. *Blood*. octobre 1982. Vol. 60, n° 4, pp. 888-893.

WELLNITZ, O., REITH, P., HAAS, S. C. et MEYER, H. H. D., 2006. Immune relevant gene expression of mammary epithelial cells and their influence on leukocyte chemotaxis in response to different mastitis pathogens. *VETERINARNI MEDICINA-PRAHA*-. 2006. Vol. 51, n° 4, pp. 125.

WELLNITZ, Olga et BRUCKMAIER, Rupert M., 2012. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *The Veterinary Journal*. mai 2012. Vol. 192, n° 2, pp. 148-152.

WINTER, P. et COLDITZ, I. G., 2002. Immunological responses of the lactating ovine udder following experimental challenge with *Staphylococcus epidermidis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 8 octobre 2002. Vol. 89, n° 1-2, pp. 57-65.

YASSAD, A., LAVOINNE, A., BION, A., DAVEAU, M. et HUSSON, A., 1997. Glutamine accelerates interleukin-6 production by rat peritoneal macrophages in culture. *FEBS letters*. 11 août 1997. Vol. 413, n° 1, pp. 81-84.

ZARRIN, M., WELLNITZ, O., VAN DORLAND, H.A. et BRUCKMAIER, R.M., 2014. Induced hyperketonemia affects the mammary immune response during lipopolysaccharide challenge in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. janvier 2014. Vol. 97, n° 1, pp. 330-339.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Composition des mashes

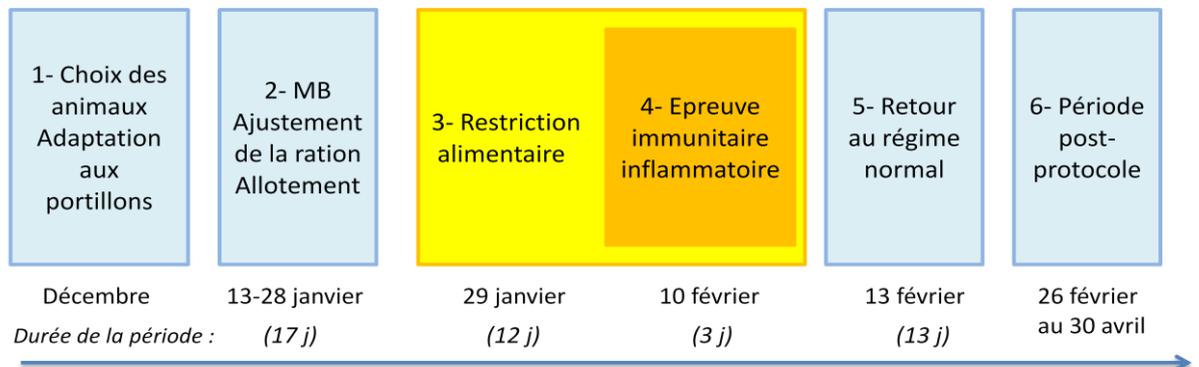
ANNEXE 1A : Composition en matières premières du mash Gestation (fin de gestation)

Mash Gestation			Composition en matières premières (%)
Luzerne déshydratée MAT	17%		22,00
Orge			38,60
Tourteau de soja 48			6,70
Graine de lin extrudée			14,20
Son de blé tendre			14,20
Mélasse de canne			2,90
Premix			1,40

ANNEXE 1B : Composition en matières premières du mash Lactation (début de lactation)

Mash Lactation			Composition en matières premières (%)
Luzerne déshydratée MAT	17%		79,50
Tourteau de colza			3,60
Graine de lin extrudée			2,20
Son de blé tendre			9,30
Mélasse de canne			3,00
Premix			1,20
Sodium, bicarbonate			1,20

ANNEXE 2 : Protocole expérimental et dates de prélèvements

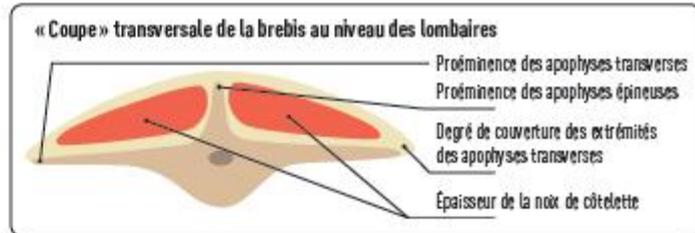


Prélèvements	Période 1	Période 2	Période 3	Période 4	Période 5
Pesée	5 (1fois par semaine)	2	5	2	2
NEC	1	1	1	2	1
Contrôle laitier		Journalier	Journalier	Journalier	Journalier
Lait pour bactériologie		2		2	
Lait pour CCS héli-mamelle		1	4	10	4
Lait pour AG		1	1	1	1
Lait pour FACS			1	5	
Prise de sang	1	1	1	5	1
Dosage (Insuline, T3, AGNE, glucose, BHB)	1	1	1	1	1
Hématologie, transcriptome et métabolome		1	1	5	

ANNEXE 3 : Evaluation de la Note d'Etat Corporel

La grille de notation de l'état corporel: une notation de 0 à 5, de très maigre à suiffarde

Les notes 0 et 5 sont peu utilisées: la note 0 correspond à une brebis cachexique en train de mourir.



Note 1 : brebis très maigre

Les apophyses épineuses et transverses sont saillantes et pointues. Les doigts passent facilement sous leurs extrémités et entre elles. Il n'y a pas de gras de couverture.



Note 3 : brebis en état

Les apophyses épineuses forment de très légères ondulations souples. Les os peuvent être individualisés sous l'effet d'une pression des doigts. Les apophyses transverses sont bien couvertes. Seule une forte pression permet d'en distinguer les extrémités. La noix de muscle est pleine.



Note 2 : brebis assez maigre

Les apophyses épineuses et transverses sont arrondies et sans viscosité. Il est possible d'engager les doigts sous l'extrémité des apophyses transverses. L'épaisseur de la noix du muscle est moyenne. La couverture adipeuse est moyenne.



Note 4 : brebis grasse

Seule une pression permet de détecter les apophyses épineuses sous la forme d'une ligne dure entre deux muscles. Il est impossible de sentir les apophyses transverses.

D'après l'Institut de l'Elevage

NOM Prénom : RIBEIRO Claudia

Evaluation expérimentale des conséquences d'une restriction énergétique en début de lactation sur la réponse inflammatoire mammaire chez la brebis laitière

Résumé :

La période de transition entre la fin de la gestation et le début de la lactation est une période critique du cycle de production des ruminants laitiers. Un déficit énergétique est souvent présent et a des répercussions sur le métabolisme et les fonctions immunitaires, qui peuvent être altérées, dont notamment l'expression de gènes leucocytaires.

Notre étude a porté sur l'influence d'une restriction énergétique d'une durée de 15 jours sur la production et le métabolisme de 24 brebis. Ses conséquences sur la réponse inflammatoire mammaire après injection de composés phlogogènes ont été évaluées. Après restriction, une diminution du poids vif, de la note d'état corporel et de la production laitière ont été observées. Un bilan énergétique négatif entraîne une augmentation marquée de la concentration des acides gras non estérifiés et du bêtahydroxybutyrate, ainsi qu'une diminution de la glycémie ; il a une influence légère sur la réponse inflammatoire mammaire.

Mots clés :

Ovins ; Mammites ; Restriction énergétique ; Inflammation ; Métabolisme ; Immunité.

Experimental evaluation of the consequences of energy restriction in early lactation on mammary inflammatory response in dairy sheep

Abstract :

The transition from the late gestation to the beginning of lactation is a critical period in the production cycle of dairy ruminants. A negative energy balance with possible consequences on metabolism and immune functions is often present. Mobilization of fatty acids seems to affect immune functions of leukocytes and their gene expression.

We studied the consequences of a 15-days energy restriction on production and metabolism in a group of 24 ewes and their controls, and the impact of energy imbalance on the mammary inflammatory response. After restriction, there is a decrease of the body weight, of the Body Condition Score and milk yield. Negative energy balance is associated to a pronounced increase of non-esterified fatty acids and β -OH-butyrate concentrations in blood, and to a decrease of plasma glucose concentration. Nevertheless, energy restriction slightly affects the mammary immune response after intra-mammary challenge.

Key words :

Sheep ; Mastitis ; Energy restriction ; Inflammation ; Metabolism ; Immunity.