



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 : 14483

To cite this version :

Gros, Louise. *Impact du bilan énergétique sur l'inflammation génitale chez la vache laitière*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 133 p.

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

IMPACT DU BILAN ENERGETIQUE SUR L'INFLAMMATION GENITALE CHEZ LA VACHE LAIETIERE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

GROS Louise

Née, le 15 Août 1989 à Paris 13ème (75)

Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD

JURY

PRESIDENT :

M. Olivier PARANT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Sylvie CHASTANT

M. Gilles FOUCRAS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITES :

M. René FOURNIER

M. Christian ENGEL

Responsable Technique Gamme Reproduction, Laboratoire MSD

Docteur Vétérinaire à la Clinique de la Rance (Broons)

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

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- 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. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

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*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **DOSSIN Olivier**, *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 **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- 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. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- 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 **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- 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)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- M. **TANIS Jean-Benoît**, *Anatomie – Imagerie Médicale*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Olivier PARANT

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Gynécologie - Obstétrique

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie de la Reproduction,

Qui nous a fait l'honneur d'encadrer ce travail,
Pour sa patience, sa disponibilité et sa bonne humeur,
Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Gilles FOUCRAS

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pathologie des Ruminants,

Qui a très aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse,
Sincères remerciements.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Docteur Christian ENGEL,

Vétérinaire praticien à la clinique de la Rance (22)

Pour son soutien dans ce projet,
Pour son écoute, ses précieux conseils et le partage de ses connaissances,
Qu'il trouve ici ma reconnaissance la plus sincère et mes profonds remerciements.

A Monsieur René FOURNIER

Responsable technique Gamme reproduction bovine, MSD, Beaucauzé

Pour sa contribution dans notre recherche,
Sincères remerciements.

Aux éleveurs de la clientèle de la clinique vétérinaire de la Rance,

Pour leur patience et leur disponibilité dans cette étude,
Pour avoir accepté de participer à ce projet,
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Hanna MILA

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pour son aide précieuse et sa disponibilité,
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES	17
LISTE DES TABLEAUX	21
LISTE DES ABREVIATIONS	22
INTRODUCTION	23
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	25
1. LES PERTURBATIONS DU PERIPARTUM	27
a. Les changements métaboliques du peripartum.....	27
i. Le déficit énergétique et la lipomobilisation.....	27
ii. Le stress oxydatif.....	29
b. La contamination utérine	31
c. L'immunodépression.....	32
2. LES DEFENSES IMMUNITAIRES DE L'UTERUS PERIPARTUM	33
a. Les barrières anatomiques et physiologiques.....	33
b. La réponse inflammatoire non spécifique.....	34
i. Activation du système TLR	34
ii. Les cytokines	36
iii. Les chimiokines	36
iv. Peptides antimicrobiens.....	37
v. Protéines de phase aiguë	37
vi. Les neutrophiles	37
c. La réponse spécifique.....	38
i. L'immunité humorale.....	38
ii. L'immunité cellulaire.....	38
3. DEFICIT ENERGETIQUE ET INFLAMMATION	41
a. A l'échelle des « voies inflammatoires »	41
i. Activation de la voie NFκB par les AGNE.....	41
ii. Production de médiateurs pro-inflammatoires	42
iii. Modification de l'expression des enzymes cyclo-oxygénases	43
iv. Stress oxydatif et inflammation	44

b.	A l'échelle cellulaire.....	45
i.	Perturbation de la fonction des macrophages et neutrophiles en <i>peripartum</i>	45
ii.	Impact des AGNE sur la fonction immunitaire des leucocytes	46
iii.	Impact des BHB sur l'activité des leucocytes	47
4.	LES OUTILS A DISPOSITION DU VETERINAIRE	49
a.	Les indicateurs d'un déficit énergétique	49
i.	Les AGNE	49
ii.	Les corps cétoniques	49
iii.	Cinétique des AGNE et des BHB	50
iv.	La note d'état corporel.....	51
b.	La détection de l'inflammation génitale	52
	 ETUDE EXPERIMENTALE.....	 55
1.	MATERIELS ET METHODES.....	57
a.	Echantillon d'étude	57
i.	Elevage	57
ii.	Critère d'inclusion	57
iii.	Critère d'exclusion.....	57
b.	Protocole expérimental.....	57
c.	Prélèvements.....	59
i.	Identification des prélèvements.....	59
ii.	Prélèvements sanguins pour le dosage d'AGNE	60
iii.	Prélèvements sanguins pour le dosage des BHB.....	60
iv.	Prélèvements des sécrétions vaginales.....	61
v.	Prélèvements cytologiques cervical et utérin	61
d.	Analyse des prélèvements et notation.....	63
i.	Dosage des AGNE	63
ii.	Dosage des BHB.....	65
iii.	Notation des sécrétions vaginales.....	65
iv.	Comptage cellulaire des frottis cervicaux et utérins.....	66
v.	Notation de l'état corporel.....	67
e.	Analyse statistique des données	67
i.	Outils statistiques	67
ii.	Tests statistiques	67

2. RESULTATS	69
a. Validation de l'utilisation du VetPhotometer sur le terrain.....	69
i. Données.....	69
ii. Corrélation entre les deux méthodes.....	71
iii. Détermination des seuils utilisés.....	71
b. Description de l'inflammation génitale	72
i. Formes cliniques.....	72
ii. Inflammation cervicale.....	72
iii. Inflammation utérine	74
iv. Inflammation génitale	75
c. Description de l'état énergétique des vaches.....	76
i. Note d'état corporel.....	76
ii. Variation de la note d'état corporel.....	78
iii. Les AGNE	80
iv. Les BHB.....	83
d. Relation avec le taux de neutrophiles génitaux	84
i. Corrélation entre les différents paramètres et le taux de neutrophiles cervicaux.....	84
ii. Corrélation entre les différents paramètres et le taux de neutrophiles utérins.....	86
e. Impact sur la présence d'inflammation.....	88
i. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la fréquence de la cervicite.....	88
ii. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la fréquence de l'endométrie.....	92
iii. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la présence ou non d'une inflammation génitale	97
f. Impact sur la prévalence d'inflammation	101
3. DISCUSSION	103
a. Aspects méthodologiques.....	103
i. Élevages choisis	103
ii. Protocole expérimental.....	104
iii. Notation de l'état corporel.....	104
iv. Dosage des AGNE et des BHB.....	104
v. Choix de la méthode de diagnostic de l'inflammation génitale.....	105
vi. Choix des seuils utilisés	105

b. Résultats	107
i. Prévalences.....	107
ii. Validité de l'appareil VetPhotometer	108
iii. Impact des indicateurs du métabolisme énergétique sur l'inflammation génitale	108
CONCLUSION	113
BIBLIOGRAPHIE	115
ANNEXES	123
Annexe 1 : Organigramme de la note d'état corporel : brochure technique ELANCO	124
Annexe 2 : Fiche récapitulative utilisée dans les élevages. Une fiche par vache.	126
Annexe 3 : Tableaux de contingence	129

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : Evolution de la capacité d'ingestion autour du vêlage (Invargtsen et Andersen 2000)	27
FIGURE 2 : Lipomobilisation et devenir des AGNE (Enjalbert, 2011)	29
FIGURE 3 : Activité des lymphocytes (aptitude à la blastogenèse) et des neutrophiles (aptitude à ingérer et tuer des bactéries) en <i>peripartum</i> (Goff et Horst, 1997)	32
FIGURE 4 : Coupe médiane du col de l'utérus de la vache (Barone, 2001).....	33
FIGURE 5 : Les Toll Like Receptors (TLR) et leurs voies de signalisation en aval (Nakamoto et Kanai, 2014).....	35
FIGURE 6 : Schéma simplifié de la voie NFκB	36
FIGURE 7 : Voie de défenses de l'utérus bovin face à la contamination bactérienne physiologique péripartum (Deguillaume et Chastant-Maillard, 2012).....	39
FIGURE 8 : Synthèse des médiateurs lipidiques	42
FIGURE 9 : Actions pro- et anti-inflammatoires des acides gras polyinsaturés oméga 3 et 6 (Calder, 2005).....	44
FIGURE 10 : Métabolisme oxydatif du neutrophile (Reeves, 2002)	45
FIGURE 11 : Effet de la concentration en AGNE sur le burst oxydatif des polynucléaires (Ster et al., 2012).....	46
FIGURE 12 : Relation entre l'activité myéloperoxydase des neutrophiles et la concentration plasmatique en AGNE ($r=0.44$, $p < 0.0001$) (Hammon et al., 2006).....	46
FIGURE 13 : Résumé des actions des métabolites énergétiques sanguins à l'échelle des « voies inflammatoires » et à l'échelle du neutrophile	48
FIGURE 14 : Cinétique des AGNE et du BHB lors du péri-partum chez la vache laitière.....	50
FIGURE 15 : Evolution souhaitable de l'état corporel en <i>peripartum</i> (Enjalbert, 2014)	51
FIGURE 16 : Protocole expérimental	59
FIGURE 17 : Photo du matériel nécessaire pour réaliser les prélèvements cytologiques	62
FIGURE 18 : Appareil VetPhotometer	63
FIGURE 19 : Echelle de score pour le contenu vaginal (Deguillaume, 2010)	66
FIGURE 20 : Granulocyte neutrophile FIGURE 21 : Cellules épithéliales	66
FIGURE 22 : Représentation de la concentration sérique en AGNE pour chaque prélèvement en fonction de la méthode utilisée	69

FIGURE 23 : Corrélation entre les résultats obtenus avec le VetPhotometer et avec le laboratoire LABEO	71
FIGURE 24 : Distribution de la note des sécrétions vaginales entre 21 et 35 jours après vêlage (n=117) .	72
FIGURE 25 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles cervicaux (n=118)	73
FIGURE 26 : Distribution des vaches avec cervicite et sans cervicite selon la parité (n=115)	73
FIGURE 27 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles utérins (n=115).....	74
FIGURE 28 : Distribution des vaches avec endométrite et sans endométrite selon la parité (n=112)	75
FIGURE 29 : Distribution de la note d'état corporel entre 14 et 3 jours avant vêlage (n=116)	76
FIGURE 30 : Distribution de la note d'état corporel entre 3 et 14 jours après vêlage (n=118)	77
FIGURE 31 : Distribution de la note d'état corporel entre 21 et 35 jours après vêlage (n=116)	78
FIGURE 32 : Evolution de la note d'état corporel autour du vêlage (n=116).....	79
FIGURE 33 : Distribution de la variation de note d'état corporel (n=116)	79
FIGURE 34 : Distribution de la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant le vêlage (n=93)	80
FIGURE 35 : Distribution de la concentration sérique en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=93)	81
FIGURE 36 : Evolution de la concentration sérique en AGNE autour du vêlage (n=91)	82
FIGURE 37 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE (n=91).....	82
FIGURE 38 : Distribution de la concentration sanguine en BHB 3 à 14 jours après vêlage (n=118)	83
FIGURE 39 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et a) la note d'état corporel 14 à 3 jours avant vêlage (n=116) ; b) la note d'état corporel 3 à 14 jours après vêlage (n=118) ; c) la variation de note d'état corporel avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=116)	84
FIGURE 40 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et a) la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant vêlage (n=93) ; b) la concentration sérique en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=92) ; c) la variation de concentration en AGNE avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=91).....	85
FIGURE 41 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et la concentration sanguine en BHB après vêlage (n=118)	85
FIGURE 42 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et a) la note d'état corporel 14 à 3 jours avant vêlage (n=113) ; b) la note d'état corporel 3 à 14 jours après vêlage (n=115) ; c) la variation de note d'état corporel avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=113)	86
FIGURE 43 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et a) la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant vêlage (n=92) ; b) la concentration en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=91) ; c) la variation de concentration sérique en AGNE avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=90).....	87
FIGURE 44 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et la concentration sanguine en BHB après vêlage (n=115)	87

FIGURE 45 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=26) ou non (n=90) d'une cervicite	88
FIGURE 46 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=26) ou non (n=90) de cervicite	89
FIGURE 47 : Distribution de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=72) d'une cervicite	90
FIGURE 48 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=71) d'une cervicite	90
FIGURE 49 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=70) d'une cervicite	91
FIGURE 50 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=27) ou non (n=91) d'une cervicite	92
FIGURE 51 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=52) ou non (n=61) d'une endométrite.....	93
FIGURE 52 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=52) ou non (n=61) d'une endométrite.....	93
FIGURE 53 : Variation de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=39) ou non (n=53) d'une endométrite	94
FIGURE 54 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=39) ou non (n=52) d'une endométrite.....	95
FIGURE 55 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=37) ou non (n=53) d'une endométrite	96
FIGURE 56 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=54) ou non (n=61) d'une endométrite.....	96
FIGURE 57 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=59) ou non (n=54) d'une inflammation génitale	97
FIGURE 58 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=59) ou non (n=54) d'une inflammation génitale	98
FIGURE 59 : Distribution de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=45) ou non (n=47) d'une inflammation génitale	99
FIGURE 60 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=45) ou non (n=46) d'une inflammation génitale	99
FIGURE 61 : Distribution de la variation de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=43) ou non (n=47) d'une inflammation génitale	100

FIGURE 62 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=61) ou non (n=54) d'une inflammation génitale 101

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : Caractéristiques de l'équilibre énergétique en début de lactation en fonction de la parité (Devries et al. 1999)	28
TABLEAU 2 : Comparaison de la valeur diagnostique de différentes techniques de détection des endométrites en comparaison de la cytologie utérine ⁽¹⁾ (Fournier et al., 2014)	52
TABLEAU 3 : Données pour le calcul du coefficient de variation intra-essai	65
TABLEAU 4 : Données pour le calcul du coefficient de variation inter-essai	65
TABLEAU 5 : Comparaison des résultats de lecteurs entre les deux opérateurs.....	667
TABLEAU 6 : Détermination des seuils utilisés.....	72
TABLEAU 7 : Association entre état inflammatoire de l'utérus et du col (n=115)	75
TABLEAU 8 : Valeurs diagnostiques de la variation de concentration en AGNE pour la prédiction de la survenue d'une inflammation génitale	102
TABLEAU 9 : Valeur des seuils en AGNE et BHB au-dessus desquels il y a un effet sur la santé génitale selon les études.....	106
TABLEAU 10 : Valeurs des seuils de pourcentage de neutrophiles utilisés dans le diagnostic d'une cervicite et d'une endométrite en fonction de la période de prélèvement selon les études	107
TABLEAU 11 : Synthèse bibliographique de l'effet de la concentration en AGNE et BHB sur l'endométrite cytologique	109

LISTE DES ABREVIATIONS

AGNE = Acides Gras Non Estérifiés
AMP = Antimicrobial Peptides
AOA = Acide Oxalo-acétique
APPs = Acute-Phase Proteins
AUC = Area Under Curve
BHB = Béta-hydroxybutyrate
COX = Cyclo-oxygénase
DHA = Acide Docosahexaénoïque
EPA = Acide Eicosapentaénoïque
IA = Insémination Artificielle
Ig = Immunoglobulines
IL = Interleukine
LPS = Lipopolysaccharide
NEC = Note d'Etat Corporel
NFκB = Nuclear Factor-kappa B
NOS = Nitric Oxide Synthase
PAMP = Pathogen-Associated Molecular Patterns
PMN = Polymorphonucléaires
ROC = Receiver Operating Characteristic
ROS = Reactive Oxygene Species
SAA = Sérum Amyloïde A
TLR = Toll Like Receptor
TNF = Tumor Necrosis Factor
VLDL = Very Low Density Lipoprotein

INTRODUCTION

En élevage laitier, la période autour du vêlage est cruciale pour l'éleveur puisque la rentabilité des vaches dépend de sa bonne gestion. En effet, la réussite de la période de transition (qui couvre les 3 semaines avant et après vêlage) conditionne les performances de production et de reproduction ainsi que la santé de l'animal (Drackley 1999). Le métabolisme ainsi que l'état inflammatoire de l'appareil génital sont plus particulièrement à surveiller.

D'une part, les besoins énergétiques de la vache sont extrêmement différents entre la période de tarissement et le début de lactation, et les apports ne peuvent subvenir aux nouveaux besoins ; le métabolisme énergétique autour du vêlage est alors perturbé. Bien qu'un déficit énergétique soit inévitable en post-partum, celui-ci peut devenir pathologique s'il persiste trop longtemps ou s'il devient trop intense.

D'autre part, la contamination bactérienne de l'utérus est systématique au moment du part ; si le nombre et la nature des bactéries l'emportent sur les défenses immunitaires ou si la réaction inflammatoire de la vache est exacerbée, alors la santé génitale est altérée, avec développement de métrite et/ou d'endométrite.

L'endométrite est une inflammation de la muqueuse utérine persistant au-delà de 3 semaines post-partum, et ne s'accompagnant pas de signes généraux. Sheldon et al. (2006) ont distingué deux types d'endométrite : clinique et subclinique. L'endométrite clinique est caractérisée par la présence d'un écoulement utérin purulent (c'est-à-dire contenant plus de 50% de pus) dans le vagin à partir de 21 jours après la parturition ; ou par la présence d'un écoulement mucopurulent (c'est-à-dire composé d'environ 50% de mucus et 50% de pus) dans le vagin après 26 jours post-partum (Sheldon et al. 2009).

Une endométrite subclinique est quant à elle définie par la présence de neutrophiles en quantité anormale sur des prélèvements cytologiques utérins effectués entre 21 et 60 jours post-partum. Le seuil de neutrophiles varie selon les auteurs et la date de prélèvement : il va de 4 % entre 40 et 60 jours (Gilbert et al. 2005) à 18% entre 21 et 35 jours (Sheldon et al. 2006).

Les endométrites sont fréquentes et constituent la première cause d'infécondité chez la vache laitière forte productrice (Fournier et al. 2014). En effet, le taux de conception diminue d'environ 20% pour les vaches atteintes d'endométrite et l'intervalle vêlage - insémination fécondante est allongé de 30 jours par rapport à des vaches saines (Sheldon et al. 2009). En outre, une vache atteinte d'endométrite a 1,7 fois plus de risque d'être réformée qu'une vache saine (Gilbert et al. 2005).

L'inflammation du col de l'utérus ou cervicite, bien que moins étudiée que l'endométrite, exerce également des effets négatifs sur les performances de reproduction. La cervicite, définie par la présence d'un pourcentage de neutrophiles supérieur ou égal à 5% sur les prélèvements cytologiques du col effectués entre 21 et 35 jours post-partum, a pour conséquence une augmentation de l'intervalle vêlage-insémination fécondante de 24 jours en moyenne par rapport aux vaches saines (Deguillaume et Chastant-Maillard 2012).

Dans une première partie bibliographique, nous décrivons les phénomènes *peripartum*, en particulier métaboliques, en relation avec une diminution de l'immunité et donc favorisant l'installation d'une inflammation génitale. Puis dans une deuxième partie expérimentale nous étudierons chez la vache laitière la relation entre déficit énergétique *peripartum* et inflammation génitale, et plus particulièrement l'intérêt prédictif de paramètres facilement mesurables par le praticien.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LES PERTURBATIONS DU PERIPARTUM

Le *peripartum* peut se définir comme la période allant de 3 semaines avant vêlage à 3 semaines après vêlage. Les vaches passent alors d'un état de gestation et non lactation à un état de non-gestation et de lactation, ce qui est source de perturbations. C'est en effet au cours de cette période qu'a lieu le pic d'incidence des affections de la vache laitière, qu'elles soient métaboliques (fièvre de lait, cétose...) ou infectieuses (métrite, mammite...) (Salat 2005).

Les perturbations principales auxquelles nous nous intéresserons touchent le métabolisme, la contamination bactérienne de l'utérus et les défenses immunitaires. Les autres troubles du *peripartum* (Salat 2005) ne seront pas abordés.

a. Les changements métaboliques du peripartum

i. Le déficit énergétique et la lipomobilisation

- Diminution de la capacité d'ingestion

Dans les jours précédant le vêlage, la capacité d'ingestion est réduite de 30 à 50% par rapport à celle du début de tarissement. Cette baisse de la quantité de matière sèche ingérée est progressive pour les multipares (3 semaines) et brutale pour les primipares (1 semaine avant vêlage) (Salat 2005). Selon certaines sources, la capacité d'ingestion des génisses diminuerait dès 26 semaines avant vêlage, à raison de 1,5% par jour et ce jusqu'à 3 semaines avant le vêlage (Ingvartsen et Andersen 2000). Ensuite, la capacité d'ingestion augmente à partir du 2ème jour après vêlage, pour atteindre son maximum 2 à 4 mois après le part (Hayirli et al. 2002 ; FIGURE 1).

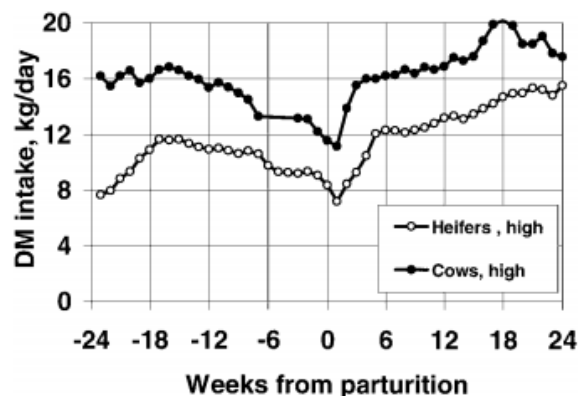


FIGURE 1 : Evolution de la capacité d'ingestion autour du vêlage (Ingvartsen et Andersen 2000)

La diminution de la capacité d'ingestion est due pour 56% au jour de gestation (plus la gestation est avancée, plus la capacité d'ingestion diminue), pour 20% à des facteurs liés à l'animal (plus la vache est grasse, moins la quantité de matière sèche ingérée est grande et une multipare ingère une plus grande quantité de matière sèche qu'une génisse) et pour 24% à des facteurs alimentaires (composition de la ration) (Hayirli et al. 2002).

- Augmentation des besoins

A l'inverse de cette diminution de l'ingestion, les besoins nutritionnels augmentent au début de la lactation par rapport au pré-partum : ils sont triplés pour l'énergie, doublés à triplés pour le glucose et doublés pour les acides aminés (Salat 2005). En outre, les besoins de la mamelle utilisent 97% de l'apport en énergie et 83% de l'apport en protéines métabolisables, ce qui ne laisse que peu de nutriments disponibles pour couvrir les besoins d'entretien (Drackley 1999).

Ainsi, les besoins en énergie excèdent de 25% les apports et les besoins en protéines métabolisables de 26% les apports 4 jours après le vêlage (Drackley 1999).

Un **bilan énergétique négatif** est donc systématique en début de lactation et celui-ci dure plus ou moins longtemps selon la parité (TABLEAU 1).

TABLEAU 1 : Caractéristiques de l'équilibre énergétique en début de lactation en fonction de la parité (Devries et al. 1999)

	Demande maximale d'énergie	Maximum d'énergie consommée	Moment où le bilan énergétique négatif est maximum	Moment où le bilan énergétique redevient positif
Primipares	7 ^e semaine	12 ^e semaine	4,8 jours	56,2 jours
2 ^e lactation	5 ^e semaine	14 ^e semaine	5,4 jours	85,3 jours
Multipares	6 ^e semaine	16 ^e semaine	2,5 jours	85,4 jours

- La lipomobilisation

En début de lactation, la supériorité des besoins en énergie et en protéines métabolisables par rapport aux apports induit une mobilisation des réserves corporelles. Or les seules réserves mobilisables sont les graisses : dans des conditions normales, la vache peut ainsi mobiliser 30 à 60 kg de tissu adipeux en début de lactation. Cette mobilisation est associée à une augmentation de la concentration sanguine en AGNE (Acides Gras Non

Estérifiés), qui seront utilisés essentiellement par les muscles squelettiques, laissant ainsi le glucose disponible pour le métabolisme foetal et la synthèse de lactose (Salat 2005).

Les AGNE sont issus de l'hydrolyse des triglycérides du tissu adipeux. Ils peuvent être utilisés par la mamelle pour la synthèse de matière grasse dans le lait, ou par le foie. Les AGNE captés par le foie suivent deux grandes voies métaboliques (FIGURE 2) :

- Soit ils pénètrent dans les mitochondries où ils sont dégradés en acétylcoenzyme A, intermédiaire qui peut être intégré dans le cycle de Krebs lors de disponibilité en acide oxalo-acétique (AOA) (oxydation complète), ou alors transformés en corps cétoniques (oxydation partielle),
- Soit ils restent dans le cytosol où ils sont transformés en triglycérides (estérification) et exportés par les VLDL (Very Low Density Lipoprotein), ou alors accumulés dans les hépatocytes lorsque les capacités d'exportation sont saturées.

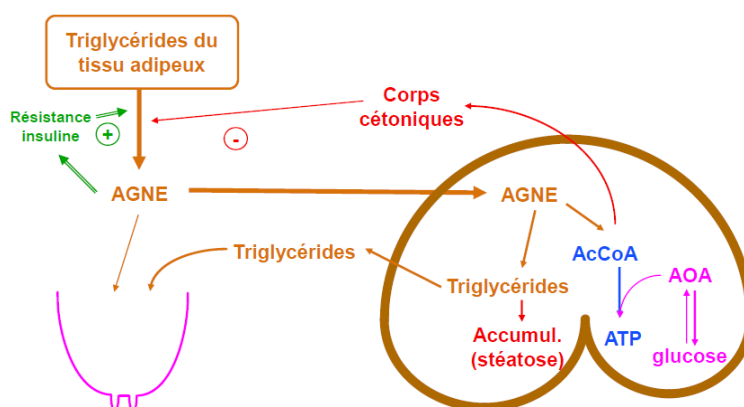


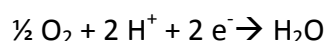
FIGURE 2 : Lipomobilisation et devenir des AGNE (Enjalbert, 2011)

Les AGNE sont le reflet du degré de lipomobilisation chez une vache laitière. Une concentration élevée en AGNE est un indicateur d'un déficit énergétique, tout comme une concentration élevée en corps cétoniques (Adewuyi et al. 2005).

ii. Le stress oxydatif

La respiration cellulaire fournit 90 % de l'énergie nécessaire au fonctionnement d'une cellule eucaryote normale, en utilisant des réactions d'oxydo-réduction. Ces réactions font intervenir des oxydants, ou accepteurs d'électrons, et des réducteurs ou donneurs

d'électrons. L'oxygène est l'accepteur final d'électrons après une cascade de réactions d'oxydo-réductions, selon l'équation suivante :



Cependant, 2 à 3% de l'oxygène n'est pas réduit en eau ; il est dévié pour former des radicaux libres (Auberval 2010). On parle alors de ROS pour Reactive Oxygen Species. Il s'agit par exemple des radicaux superoxydes $\text{O}_2^{\bullet-}$, hydroxyles HO^\bullet , peroxydes ROO^\bullet ou encore du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , qui n'est pas un radical mais qui est considéré comme un ROS car il peut rapidement se dismuter en deux radicaux hydroxyles.

Les ROS sont majoritairement produits par les neutrophiles et les macrophages et sont essentiels pour la destruction des bactéries phagocytées. En effet, ces dérivés oxygénés ont des effets potentiellement toxiques sur les agents infectieux : désorganisation des membranes par peroxydation lipidique, altérations protéiques, notamment enzymatiques, altérations chromosomiques par interaction avec l'ADN (Weill et Batteux 2003).

Bien que les ROS ont de nombreux effets bénéfiques pour la réponse immune et inflammatoire, ils peuvent également occasionner des dommages sur les cellules si leur production devient excessive (Sordillo et Raphael 2013). Afin de pallier l'effet négatif des ROS, de nombreuses entités anti-oxydantes sont synthétisées in vivo ou prélevées de l'alimentation afin de neutraliser et d'éliminer les entités oxydantes. Il s'agit par exemple d'enzymes telles que les superoxydes dismutases, les catalases ou encore le glutathion peroxydase, une sélénoprotéine. Les antioxydants non enzymatiques sont par exemple les tocophérols (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les caroténoïdes (Sordillo et Aitken 2009). En conditions physiologiques, un équilibre entre entités oxydantes et antioxydants est maintenu. Lorsqu'un déséquilibre apparaît en faveur des entités oxydantes, on parle de **stress oxydatif** (Auberval 2010).

La production massive de radicaux libres peut être la conséquence d'un métabolisme intense (production laitière importante), de situations de stress (transitions, changement de lot...) ou d'inflammations (Lamer 2014). Ces trois situations se rencontrant lors du *peripartum*, la quantité d'entités oxydantes augmente donc fortement à cette période.

En outre, la quantité d'antioxydants diminue pendant le *peripartum*. Par exemple, la concentration en vitamine E diminue de 47% quelques jours avant le vêlage (Goff et Horst 1997).

On comprend dès lors que le péri-partum est une période favorable au **stress oxydatif** chez la vache laitière.

b. La contamination utérine

Au moment de la parturition, la contamination microbienne est presque systématique chez la vache. En effet, lors du vêlage, la vulve, le vagin et le col se dilatent et ne jouent ainsi plus leurs rôles de barrières anatomiques. L'ouverture du col favorise la colonisation de l'utérus par les bactéries en provenance de l'environnement, de la peau et des fèces (Deguillaume et Chastant-Maillard 2012). Ainsi, l'utérus est infecté chez environ 95% des vaches dans les 15 jours qui suivent la parturition, 80% entre 16 et 30 jours, 50 % entre 31 et 45 jours et 10% entre 46 et 60 jours (Elliott et al. 1968, Singh et al. 2008).

L'utérus en post-partum est un milieu propice au développement bactérien, du fait de la présence de lochies, constituées des liquides fœtaux, du sang et des débris tissulaires (Gier et Marion 1968). Ainsi, plus de 82 bactéries de 33 espèces différentes ont été isolées entre 3 et 60 jours après le vêlage dans une étude menée sur 106 utérus de vaches (Elliott et al. 1968). Plus récemment, des approches métagénomiques ont montré que la diversité bactérienne utérine est plus complexe que ce qu'ont décrit Elliott et al. (1968). Ainsi, dans l'étude de Santos et Bicalho (2012), jusqu'à 1800 unités taxonomiques opérationnelles ont été détectées dans l'utérus d'une vache saine juste après la parturition. La composition de la flore bactérienne fluctue constamment pendant les 7 premières semaines suivant le vêlage. Il semble que l'utérus passe par des cycles de contamination/décontamination jusqu'à ce que l'involution utérine soit complète (Griffin et al. 1974).

La **contamination** est donc systématique. C'est uniquement si la contamination bactérienne, par la nature ou le nombre de bactéries impliquées, prend le dessus sur les capacités de défense de l'hôte, que la contamination, physiologique à l'origine, se transforme en une infection pathologique (Deguillaume et Chastant-Maillard 2012).

c. L'immunodépression

Autour du vêlage, une **immunodépression** physiologique de plusieurs semaines a lieu, atteignant son paroxysme une semaine post-partum (Salat 2005 ; Leblanc 2012). Elle est liée en partie aux fortes concentrations d'œstrogènes et à l'augmentation de la cortisolémie lors du vêlage (Goff et Horst 1997).

Cette immunodépression est caractérisée par (Salat 2005) :

- une diminution de la capacité des phagocytes à tuer les bactéries : diminution de l'activité myéloperoxydase et de la capacité cytotoxique à médiation cellulaire des neutrophiles (Cai et al. 1994) (FIGURE 3) ;
- une diminution de la réponse des lymphocytes aux agents mitogènes (Goff et Horst 1997) (FIGURE 3) ;
- une baisse de la teneur sérique en immunoglobulines, complément et cong lutinine.

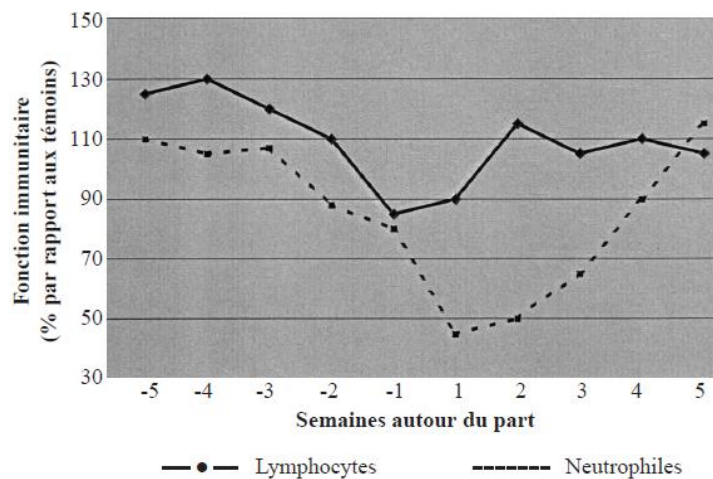


FIGURE 3 : Activité des lymphocytes (aptitude à la blastogénèse) et des neutrophiles (aptitude à ingérer et tuer des bactéries) en *peripartum* (Goff et Horst, 1997)

Conclusion : Le *peripartum* est une période critique pour la vache puisqu'elle est soumise systématiquement à de nombreux changements : déficit énergétique, stress oxydatif, contamination utérine et immunodépression.

2. LES DEFENSES IMMUNITAIRES DE L'UTERUS *PERIPARTUM*

Comme nous venons de le voir, la contamination bactérienne est systématique au moment du vêlage. Cette intrusion bactérienne déclenche alors très rapidement une réponse immunitaire de l'animal. Ainsi, 48 heures après un vêlage normal sans assistance, les leucocytes s'accumulent dans la lumière utérine, ce qui est la marque du processus d'involution de l'utérus (Dhaliwal et al. 2001). La réaction de l'organisme repose sur la reconnaissance des contaminants et le déclenchement de la réponse immunitaire innée et acquise.

a. Les barrières anatomiques et physiologiques

La vulve, le vestibule du vagin et le col constituent les barrières anatomiques entre la lumière utérine et l'environnement contaminé (Azawi 2008).

Les parois du col de l'utérus sont rigides et forment des plis longitudinaux. Elles délimitent un canal cervical irrégulier obturé par des plis circulaires caractéristiques au nombre de trois ou quatre (Barone 2001, FIGURE 4). Du fait de sa conformation, le col utérin constitue une barrière très efficace.

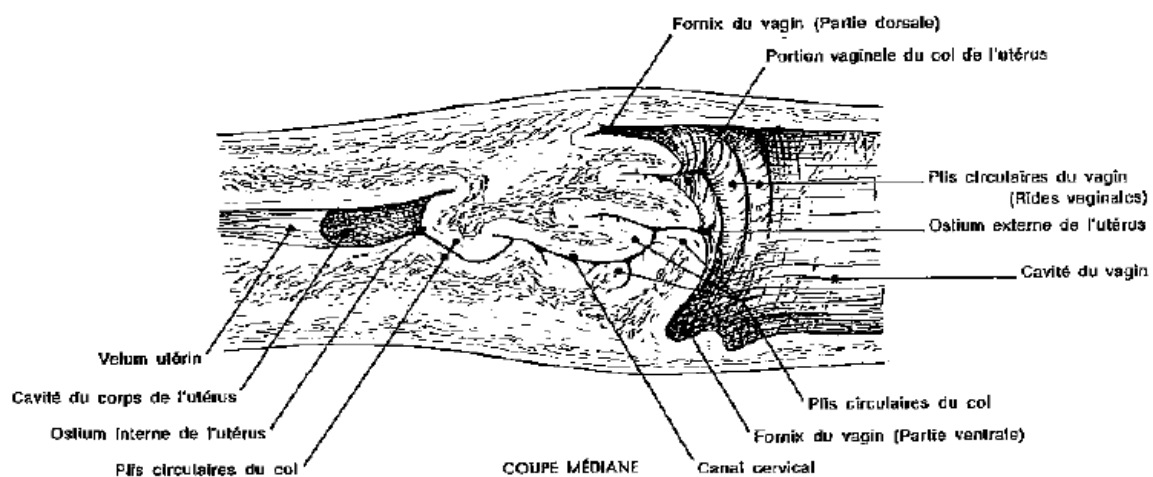


FIGURE 4 : Coupe médiane du col de l'utérus de la vache (Barone, 2001)

D'un point de vue histologique, l'épithélium de la muqueuse du vagin ainsi que celui du versant vaginal du col utérin est stratifié, pavimenteux et non glandulaire. Le col utérin est essentiellement constitué de tissu collagène résistant contenant relativement peu de

muscle lisse. La stratification de l'épithélium assure la protection de celui-ci. En outre, l'épithélium forme une barrière particulièrement efficace grâce aux jonctions serrées entre les cellules (Wira et al. 2005).

Le mucus endo-cervical est également un obstacle à l'ascension des bactéries dans le tractus génital (Singh et al. 2008). Il a 4 rôles (Barrière et Lopes 1987) :

- Filtre mécanique
- Création d'un flux descendant
- Neutralisation des antigènes grâce à ses immunoglobulines G et A
- Action antibactérienne grâce à ses lyzozymes qui favorisent la phagocytose par hydrolyse de la paroi bactérienne, ses lactoferrines qui inhibent la croissance bactérienne en piégeant le fer nécessaire, et ses peroxydases.

Enfin, les contractions des muscles circulaires et longitudinaux de l'utérus permettent une expulsion physique des bactéries contenues dans le mucus (Singh et al. 2008).

b. La réponse inflammatoire non spécifique

Lors d'une contamination utérine, ce sont les cellules épithéliales de l'utérus qui sont les premières en contact avec les pathogènes. Outre leur rôle de barrière physique, ces cellules fonctionnent comme de véritables sentinelles qui reconnaissent les antigènes et déclenchent une réponse dont le but est d'éliminer les bactéries et virus (Wira et al. 2005).

i. Activation du système TLR

Les cellules épithéliales de l'endomètre possèdent à leur surface des Toll Like Receptors (TLR) qui reconnaissent chez les pathogènes des séquences conservées, les Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP). Les PAMP sont, par exemple, des constituants de la paroi des bactéries : l'acide lipotéichoïque des bactéries à Gram positif, reconnu par les TLR1, TLR2 et TLR6 ; ou encore le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram négatif reconnu par le TLR4. L'activation des TLR initie une cascade de signalisation aboutissant à la synthèse de chimiokines et cytokines pro-inflammatoires, notamment des interleukines (IL), des molécules de la famille du Tumor Necrosis Factor (TNF) et des prostaglandines (FIGURE 5). Les cytokines agissent à leur tour en mobilisant et activant les

cellules immunitaires ; il s'agit principalement, dans le cas des endométrites chez la vache, du chimiotactisme des neutrophiles dans la cavité utérine (Sheldon et al. 2009).

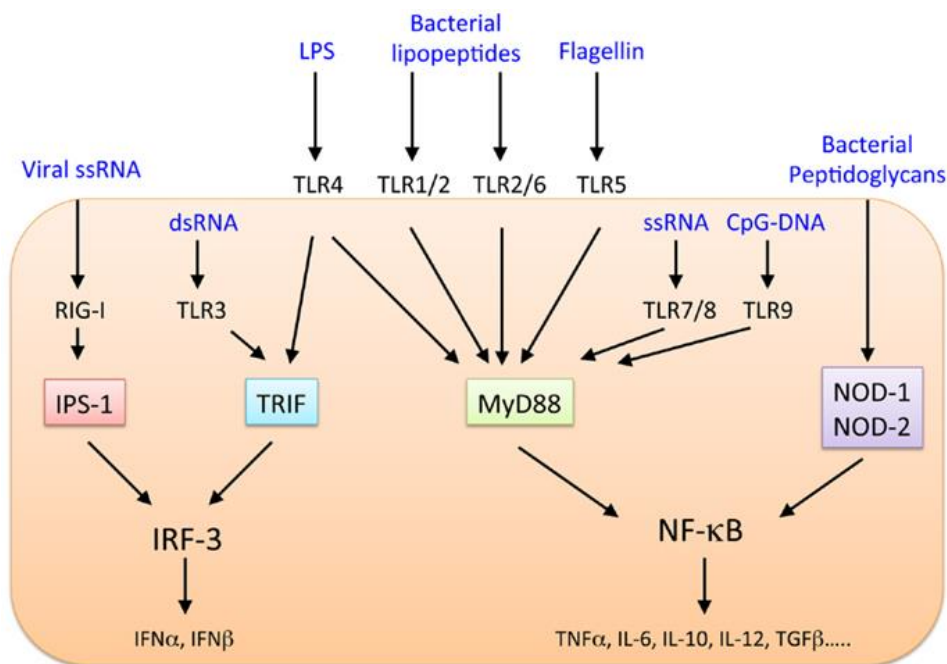


FIGURE 5 : Les Toll Like Receptors (TLR) et leurs voies de signalisation en aval (Nakamoto et Kanai, 2014)

LPS = lipopolysaccharide, TLR = toll like receptor, RIG-I = retinoic acid-inducible gene 1, IPS = interferon- β promoter stimulator, TRIF = Toll/IL-1 receptor (TIR)-domain-containing adaptor inducing IFN-beta, MyD88 = myeloid differentiation factor gene 88, NOD = nucleotide-binding and oligomerization domain, IRF-3 = interferon regulatory factor 3, NF- κ B = nuclear factor-kappa B, IFN = interferon, TNF = tumor necrosis factor, IL = interleukin, TGF = transforming growth factor

Le NF κ B (nuclear factor-kappa B) est une famille de petites protéines dimériques (p50-p65) dont le rôle est d'activer la transcription de gènes cibles et conduisant à l'établissement d'une réponse pro-inflammatoire. Les molécules dont la synthèse est induite par le NF κ B sont des cytokines (TNF α , IL-1, IL-6..), des chimiokines (IL-8..), des molécules immunitaires effectrices (Cyclo-oxygénase-2 (COX-2)...), des molécules d'adhérence (Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1), Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1)...) et des facteurs favorisant la survie (c-Inhibitor of Apoptosis 1 et 2 (c-IAP1,2)...) (DeFranco et al. 2009) (FIGURE 6).

La voie des NF κ B est activée par la superfamille des récepteurs TLR (FIGURE 5 et 6).

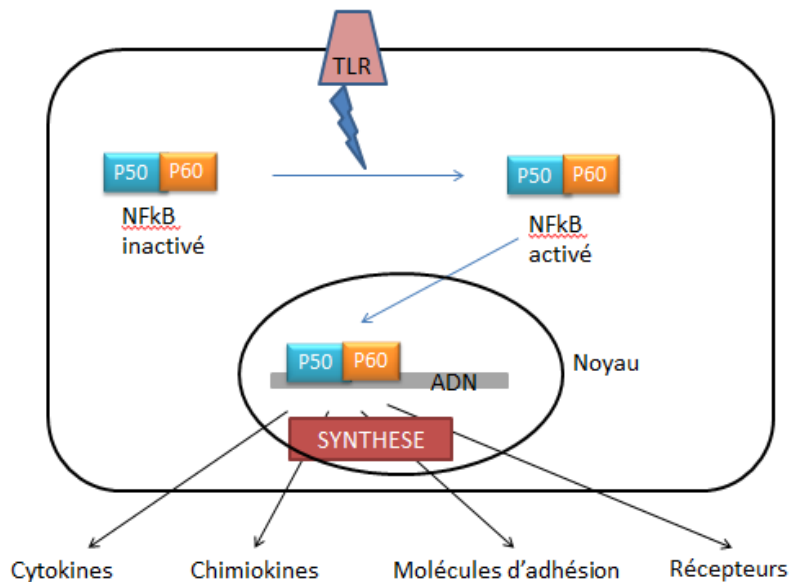


FIGURE 6 : Schéma simplifié de la voie NFκB

ii. Les cytokines

Le $\text{TNF}\alpha$ est la cytokine produite la plus précocement après activation des TLR. Le $\text{TNF}\alpha$ déclenche un relargage local de cytokines et chimiokines, et favorise l'adhérence, la migration et l'activation des leucocytes sur le site de l'inflammation. Le $\text{TNF}\alpha$ est un médiateur essentiel de l'inflammation car il est responsable des signes cardinaux de l'inflammation : chaleur, douleur, rougeur et œdème. En outre, il agit sur les neutrophiles en les attirant sur le site de l'inflammation, en augmentant leur adhésion aux cellules de l'endothélium des vaisseaux, en stimulant la phagocytose et la production d'entités oxydantes. Il amplifie et prolonge l'inflammation en augmentant la synthèse d'IL-1, de NOS2 (Nitric Oxide Synthase) et de COX-2 par les macrophages.

Quant aux interleukines, l'IL-1 β augmente l'adhésion des neutrophiles aux cellules endothéliales des vaisseaux et stimule la synthèse de NOS2 et de COX-2 par les macrophages. L'IL-6 agit sur l'inflammation et sur l'immunité acquise. C'est un médiateur de la phase aiguë et du choc septique. Le relargage d'IL-1 α par les cellules épithéliales de l'utérus augmente la sécrétion de prostaglandines E2 et F2 (Wira et al. 2005)

iii. Les chimiokines

Ce sont de petites protéines qui contrôlent la migration cellulaire. Par exemple l'interleukine 8 (IL-8 ou CXCL8) attire et active les neutrophiles.

iv. Peptides antimicrobiens

Les cellules épithéliales de l'utérus synthétisent des peptides antimicrobiens (AMP pour Antimicrobial Peptides) : le Lingual AMP (LAP), le Tracheal AMP (TAP) et les défensines β bovines (BBD19, BBD123 et BBD124) (Sheldon et al. 2009). Leur action est de détruire les membranes des micro-organismes et donc conduire à leur mort (Tizard 2009).

v. Protéines de phase aiguë

Les cytokines pro-inflammatoires stimulent la production de protéines de phase aiguë (APPs pour Acute-Phase Proteins) par le foie. Ainsi la concentration sanguine d'APPs augmente au cours des premières semaines post-partum (Sheldon et al. 2009). Par exemple, la concentration sanguine en α 1 glycoprotéine acide augmente lorsque l'utérus d'une vache est infecté par *E.coli* (Singh et al. 2008).

Le rôle des APPs diffère selon les protéines. Par exemple, le sérum amyloïde A (SAA) est chimioattractant pour les neutrophiles, les monocytes et les lymphocytes T ; alors que l'haptoglobine est capable de fixer le fer, le rendant indisponible pour les bactéries (Tizard 2009).

vi. Les neutrophiles

La principale fonction des neutrophiles est l'élimination des bactéries par phagocytose. La phagocytose utérine commence normalement 48h post-partum et exceptionnellement pré-partum. La phagocytose comporte plusieurs étapes : chimiotaxie, opsonisation, adhérence et attachement, ingestion et digestion. Après que les neutrophiles se soient déplacés vers le site infecté, ils adhèrent aux micro-organismes après opsonisation puis les enferment dans une vacuole connue sous le nom de phagosome. Les granules contenus dans le cytoplasme des neutrophiles (riches en enzymes telles que myéloperoxydase, lysozymes, élastase) fusionnent alors avec le phagosome (Hussain 1989). Le phagosome possède ainsi une très grande action bactéricide (Tizard 2009).

Conclusion : la première défense de l'utérus vis-à-vis d'infections bactériennes est la phagocytose par les leucocytes utérins, et plus particulièrement par les neutrophiles.

c. La réponse spécifique

La réponse immunitaire acquise, humorale et cellulaire, vient ensuite compléter l'immunité innée.

i. L'immunité humorale

L'immunité humorale est assurée par des anticorps glycoprotéiques, les immunoglobulines (Ig), produites par les lymphocytes B.

Lorsque l'utérus est soumis à la présence de micro-organismes pathogènes, apparaissent dans l'ordre les immunoglobulines IgM, IgG et IgA. Les IgG prédominent dans la lumière utérine et les IgA dans le vagin. Les IgA sont synthétisées localement dans l'utérus des bovins au niveau de l'endomètre et les IgG proviennent d'une part de la synthèse par l'endomètre et d'autre part de la circulation sanguine (Azawi 2008).

Les immunoglobulines agissent en favorisant la lyse des bactérie, en stimulant la voie du complément et en participant à l'opsonisation et donc à la phagocytose (Hussain 1989 ; Singh et al. 2008).

ii. L'immunité cellulaire

Le rôle défensif de l'immunité humorale étant limité, l'immunité cellulaire joue un rôle critique dans les défenses immunitaires de l'utérus. L'immunité cellulaire repose sur le pouvoir cytotoxique des lymphocytes T.

Au cours de la gestation, la population utérine des lymphocytes et macrophages varie. Du début jusqu'au milieu de la gestation, la quantité de ces cellules est faible dans l'utérus des bovins, contribuant à éviter un rejet immunologique du fœtus. Plus tardivement, vers la fin de gestation, les lymphocytes et les macrophages sont retrouvés dans l'endomètre inter-caronculaire mais pas au niveau des caroncules, indiquant une fonction de reconnaissance et de protection contre les antigènes qui pénétreraient dans l'utérus. Les cellules sub-épithéliales de l'utérus contiennent une forte concentration de lymphocytes Th (CD4+), de lymphocytes B et de macrophages présentateurs d'antigènes (CD14+). Les cytokines stimulent la prolifération de lymphocytes T et B dans les nœuds lymphatiques régionaux. Les lymphocytes migrent ensuite vers l'endomètre et agissent comme des effecteurs de l'immunité cellulaire et de l'immunité humorale (Singh et al. 2008).

Les mécanismes physiologiques de défenses immunitaires de l'utérus *postpartum* chez la vache sont récapitulés dans la FIGURE 7.

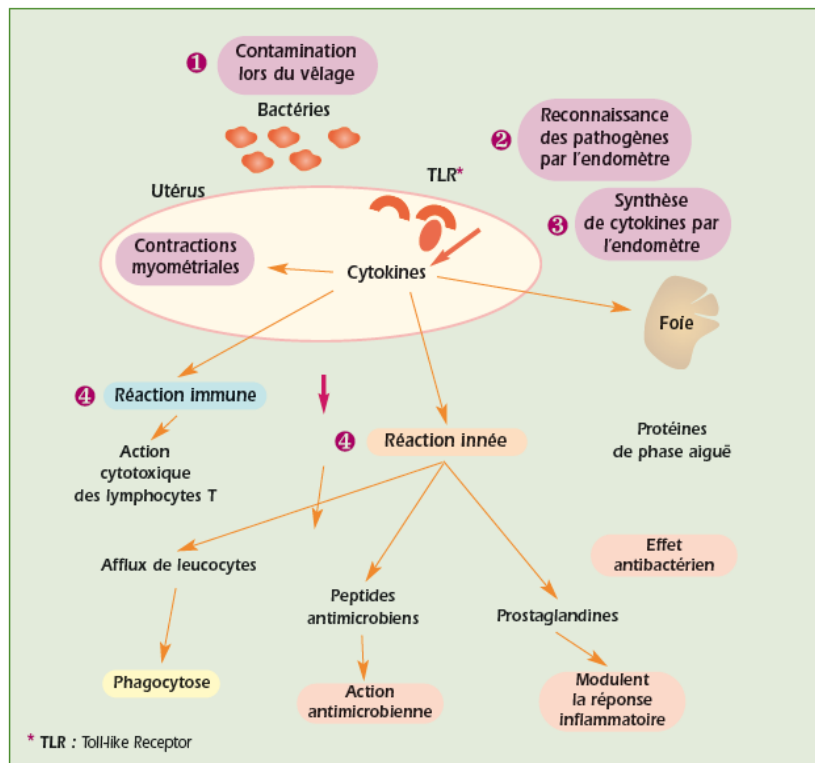


FIGURE 7 : Voie de défenses de l'utérus bovin face à la contamination bactérienne physiologique péripartum (Deguillaume et Chastant-Maillard, 2012)

Chez la majorité des vaches, la réponse inflammatoire conduit à l'élimination des bactéries au cours des 3 semaines post-partum et à la cicatrisation tissulaire (involution), ce qui a pour conséquence l'arrêt de la réponse inflammatoire (LeBlanc 2012). Cependant, si un déséquilibre apparaît entre la pathogénicité des bactéries et les défenses immunitaires de l'utérus, alors la santé de l'appareil génital (au sens de son état inflammatoire) est compromise (Sheldon et al. 2009).

Conclusion : Le déclenchement d'une réponse inflammatoire en post-partum est physiologique. L'inflammation pathologique se distingue de la physiologique par sa sévérité, sa durée et le moment post-partum où elle est la plus prononcée (LeBlanc 2012). Ainsi endométrite et cervicite, présentes 3 semaines après le part, sont pathologiques.

3. DEFICIT ENERGETIQUE ET INFLAMMATION

De nombreuses études suggèrent que certains aspects du métabolisme énergétique, notamment la lipomobilisation, peuvent avoir un impact négatif sur la réponse inflammatoire *peripartum*. Un dysfonctionnement ou un dérèglement de la réponse inflammatoire pourrait être le lien commun entre l'augmentation de la fréquence des maladies métaboliques et de celle des maladies infectieuses au cours de cette période. Bien qu'aucun lien de causalité n'ait été établi, de nombreuses preuves suggèrent que le développement de maladie métaboliques et infectieuses pendant cette période est symptomatique d'un dysfonctionnement du système immunitaire (Sordillo et Raphael 2013).

a. A l'échelle des « voies inflammatoires »

L'augmentation de la lipomobilisation pendant le *peripartum* modifie à la fois la concentration et la composition en acides gras non estérifiés (AGNE) plasmatiques. En effet, le palmitate, le stéarate et l'acide oléique sont les acides gras prédominants autour du vêlage, tandis que la quantité d'acide eicosapentaénoïque (EPA) et d'acide docosahexaénoïque (DHA) diminue par rapport au début de la gestation (Sordillo et Raphael 2013).

i. Activation de la voie NFκB par les AGNE

Comme vu précédemment (2.b.i.), la voie NFκB active l'expression des gènes de l'inflammation, conduisant à l'établissement d'une réponse pro-inflammatoire par synthèse de cytokines, chimiokines et molécules d'adhésion vasculaire. La voie NFκB peut être activée par tous les récepteurs TLR (FIGURE 6).

Or les AGNE, dont l'acide palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0), peuvent activer le TLR-4 et ainsi initier la réponse inflammatoire via la voie NFκB. De même le TLR-2 peut aussi être activé par les acides gras saturés tel que l'acide dodécanoïque (C12:0) (Nguyen et al. 2007 ; Contreras et Sordillo 2011).

En outre, les AGNE oméga 3 polyinsaturés (DHA, EPA) inhibent la production de NFκB, allant dans le sens d'une suppression de la réaction inflammatoire. Or les concentrations en oméga 3 diminuent au cours de la période de transition.

Conclusion : les AGNE libérées au cours du *peripartum* exercent donc une action pro-inflammatoire.

ii. Production de médiateurs pro-inflammatoires

Les acides gras polyinsaturés oméga 3 (DHA, EPA...) et oméga 6 (acide arachidonique...) sont des substrats pour les médiateurs lipidiques (FIGURE 8).

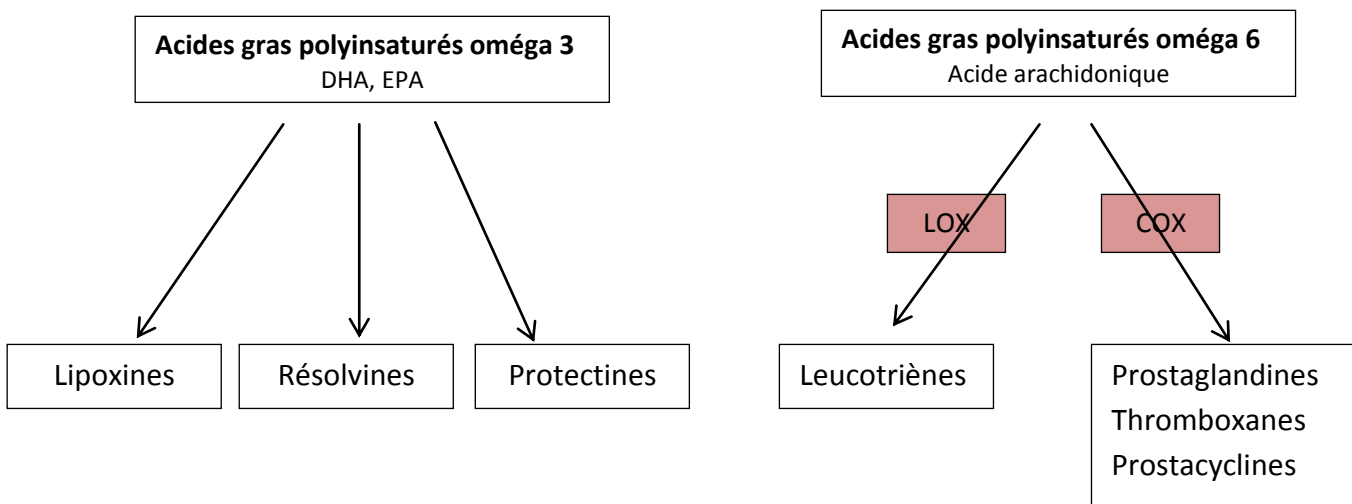


FIGURE 8 : Synthèse des médiateurs lipidiques

DHA : acide docosahexaénoïque, EPA : acide eicosapentaénoïque, LOX : lipoxygénase, COX : cyclooxygénase

Ainsi l'acide arachidonique est le précurseur des **eicosanoïdes** : leucotriènes, prostanoïdes (prostaglandines, thromboxane, prostacycline). DHA et EPA sont quant à eux des précurseurs des lipoxines, des résolvines et des protectines.

Or les médiateurs lipidiques sont des modulateurs, positifs ou négatifs selon les molécules, de la réponse inflammatoire.

Nous pouvons citer comme médiateurs lipidiques pro-inflammatoires (Calder 2005) :

- la prostaglandine PGE₂, qui induit de la fièvre, augmente la perméabilité vasculaire et la vasodilatation et induit la production d'interleukine 6 par les macrophages ;
- le leucotriène LTB₄, qui augmente la perméabilité vasculaire, induit le relargage d'enzymes lysosomiales et augmente la production de cytokines inflammatoires TNF α , IL-1 et IL-6.

De même, nous pouvons citer comme médiateurs lipidiques anti-inflammatoires (Kohli et Levy 2009) :

- les résolvines RvD1 et RvE2 qui réduisent l'infiltration des neutrophiles et l'expression/sécrétion de cytokines pro-inflammatoires ;
- la résolvine RvD2 qui diminue l'interaction leucocytes-cellules endothéliales et réduit l'inflammation associée aux infections bactériennes ;
- la résolvine RvE1 qui réduit la mobilisation des neutrophiles vers les foyers inflammatoires et facilite l'élimination des peptides inflammatoires de ces foyers.

Comme vu précédemment, le profil typique des AGNE autour du vêlage est une augmentation des concentrations en oméga 6 et une diminution des concentrations en oméga 3. Ainsi la quantité de médiateurs lipidiques pro-inflammatoires augmente tandis celle de médiateurs anti-inflammatoires diminue.

Conclusion : l'équilibre entre médiateurs lipidiques pro-inflammatoires et anti-inflammatoires penche plutôt du côté des substances pro-inflammatoires autour du vêlage.

iii. Modification de l'expression des enzymes cyclo-oxygénases

En plus d'être des substrats, les acides gras peuvent aussi modifier l'expression génique des enzymes COX. Par exemple le palmitate (C16:0) et le stéarate (C18:0) peuvent induire l'expression de COX₂ dans les leucocytes par l'activation du TLR4 (Contreras et Sordillo 2011).

Au contraire, les acides gras polyinsaturés oméga 3 peuvent diminuer l'expression de COX2 dans les cellules endothéliales (via la voie NFκB comme vu précédemment).

Ainsi autour du vêlage la quantité de COX2 augmente et par voie de conséquence la possibilité de synthétiser des facteurs pro-inflammatoires.

Les actions pro- et anti-inflammatoires des acides gras polyinsaturés oméga 3 et oméga 6 sont résumées dans la FIGURE 9.

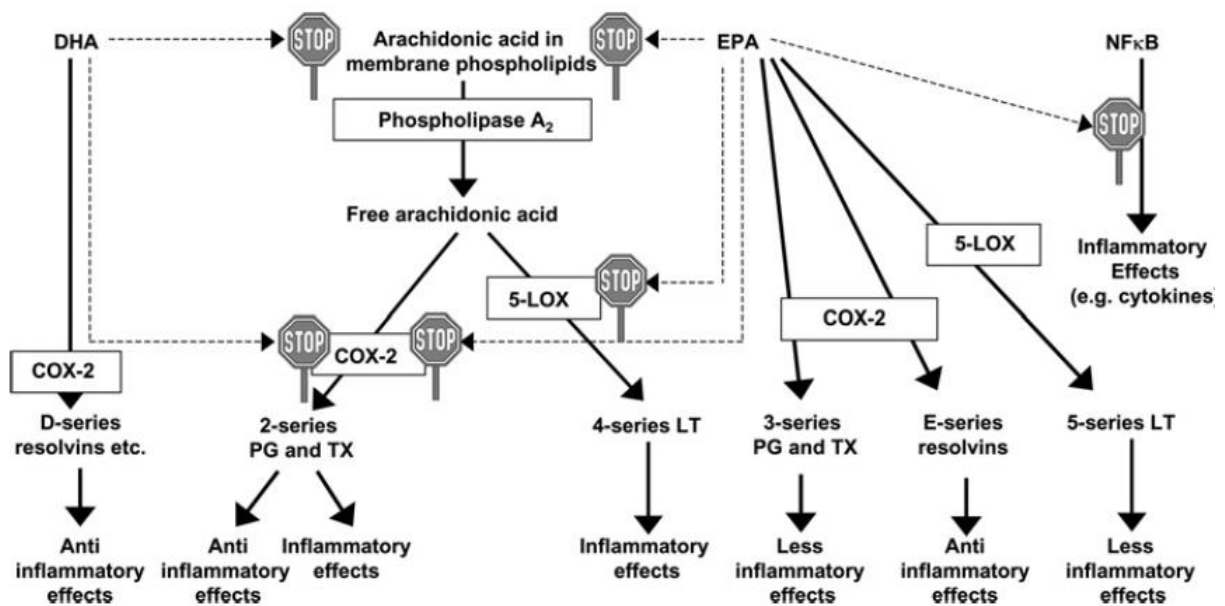


FIGURE 9 : Actions pro- et anti-inflammatoires des acides gras polyinsaturés oméga 3 et 6 (Calder, 2005)

iv. Stress oxydatif et inflammation

Des études *in vitro* et *in vivo* appuient l'idée que le stress oxydatif pendant la période de transition joue un rôle important dans le dysfonctionnement inflammatoire et immunitaire chez la vache laitière. En effet, le stress oxydatif accroît l'inflammation primaire via l'activation de voies pro-inflammatoires. Par exemple, les ROS peuvent activer la voie NFκB et ainsi augmenter l'expression de plusieurs cytokines inflammatoires (TNFα, IL1β, IL6 et IL8) et de molécules vasculaires d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1) chez la vache. En outre, le TNFα peut accroître la formation de ROS dans les mitochondries des macrophages et des cellules endothéliales et donc augmenter l'intensité du stress oxydatif (Sordillo et Raphael 2013).

Conclusion : Stress oxydatif et inflammation sont étroitement liés et agissent de façon synergique pour aggraver les désordres pathologiques du péri-partum.

b. A l'échelle cellulaire

L'essentiel de la population phagocytaire qui afflue vers la lumière utérine est constituée par les granulocytes neutrophiles. Le caractère fonctionnel des neutrophiles peut être évalué selon 6 critères : la migration aléatoire, la chimiotaxie, la capacité d'ingestion, l'activité myéloperoxydase (qui mesure la capacité à tuer des bactéries), la production de superoxyde (produit intermédiaire formé lors de burst oxydatif) et la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (Cai et al. 1994). Le burst oxydatif correspond à une brusque augmentation de la consommation d'oxygène en réponse à un stress infectieux, qui conduit à la formation de dérivés oxygénés (FIGURE 10). Comme vu précédemment, les dérivés oxygénés ont des effets toxiques sur les agents infectieux (Weill et Batteux 2003).

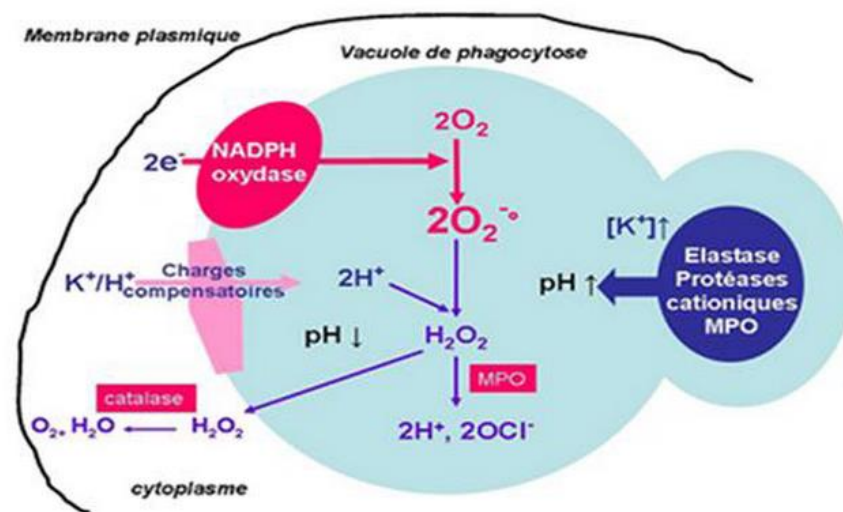


FIGURE 10 : Métabolisme oxydatif du neutrophile (Reeves, 2002)

La fonction immunitaire des monocytes est quant à elle évaluée par leur prolifération et la production d'interféron γ .

i. Perturbation de la fonction des macrophages et neutrophiles en *peripartum*

Les macrophages et neutrophiles ont besoin de beaucoup d'énergie pour assurer leur fonction antimicrobienne. Le glucose étant la principale source d'énergie, l'importante diminution de la glycémie pendant le péri-partum affecte les cellules immunitaires en limitant la quantité d'énergie disponible (Sordillo et Raphael 2013).

ii. Impact des AGNE sur la fonction immunitaire des leucocytes

In vitro, l'activité phagocytaire des neutrophiles, n'est pas affectée par l'ajout d'AGNE dans le milieu et ce quelle qu'en soit la concentration (Scalia et al. 2006). Cependant, la capacité des neutrophiles à produire des formes réactives de l'oxygène est très variable selon la concentration en AGNE avec laquelle les neutrophiles sont incubés. Scalia et al. (2006) ont montré que des concentrations faibles à modérées d'AGNE (0,0625, 0,125, 0,25 et 0,5 mM) induisent une diminution significative du burst oxydatif, ce qui n'est pas vérifié aux fortes concentrations (2mM). Ster et al. (2012) ont quant à eux obtenu que des concentrations élevées en AGNE diminuent significativement le burst oxydatif (FIGURE 11).

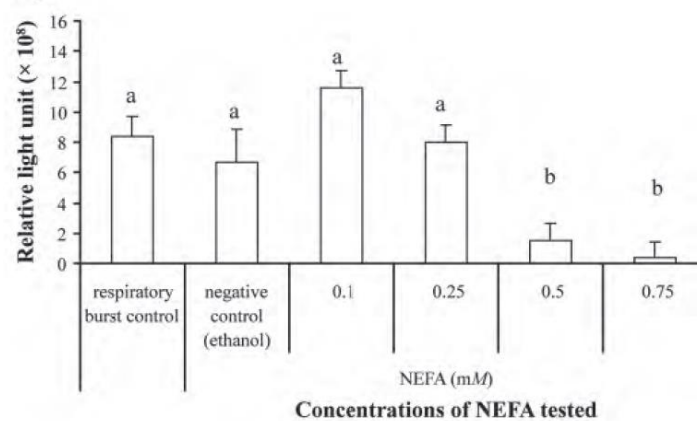


FIGURE 11 : Effet de la concentration en AGNE sur le burst oxydatif des polynucléaires (Ster et al., 2012)

En outre, la capacité des neutrophiles à tuer, mesurée par l'activité myéloperoxydase des neutrophiles, est négativement corrélée à la concentration en AGNE pendant la première semaine post-partum (Hammon et al. 2006 ; FIGURE 12).

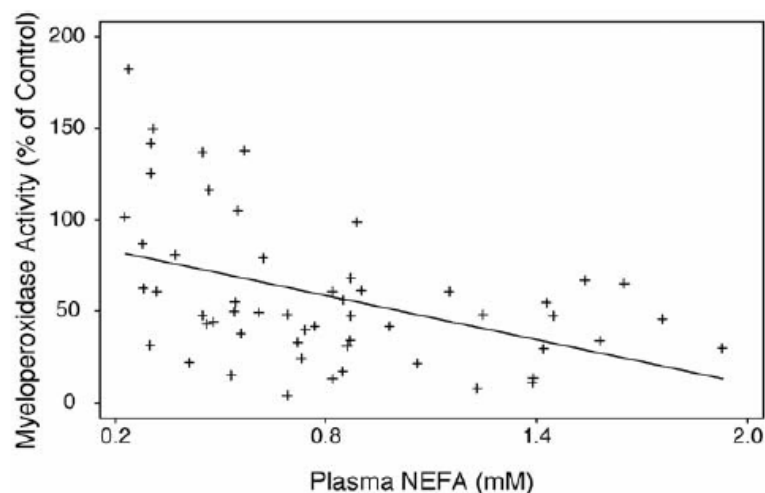


FIGURE 12 : Relation entre l'activité myéloperoxydase des neutrophiles et la concentration plasmatique en AGNE ($r=0.44$, $p < 0.0001$) (Hammon et al., 2006)

De plus, les AGNE ont un effet sur la prolifération des monocytes : plus la concentration en AGNE est grande, moins la prolifération des monocytes est importante (Ster et al. 2012).

Enfin, les AGNE semblent avoir un effet négatif sur la sécrétion d'interféron γ par les monocytes (Ster et al. 2012).

iii. Impact des BHB sur l'activité des leucocytes

L'élévation sérique des corps cétoniques tend à inhiber l'activité des neutrophiles dans le sang et le lait. En effet, la capacité chimiotaxique des leucocytes de vaches ayant une concentration sanguine élevée en BHB (bêta-hydroxybutyrate) (>1,6 mM) est significativement plus faible que celle de vaches ayant une concentration faible en BHB (<0,8 mM) (Suriyasathaporn et al. 1999).

Hoeben et al. (1997) ont quant à eux montré *in vitro* qu'une concentration en acide butyrique correspondant à un état de subcétose chez la vache (1 à 2,5 mM) induit une inhibition significative sur l'activité de burst oxydatif des PMN (polymorphonuclear) comparée à l'effet qu'a une concentration normale (0,01 à 1 mM).

La prolifération et la production d'interféron γ par les monocytes ne semblent pas être affectées par les BHB (Ster et al. 2012).

Conclusion : Un déficit énergétique perturbe donc l'activité des PMN et des monocytes, ce qui pourrait expliquer en partie la plus grande susceptibilité vis-à-vis d'infections locales et systémiques des vaches en post-partum.

Sur la FIGURE 13 sont résumés les effets des métabolites énergétiques sanguins à la fois à l'échelle des voies inflammatoires et à l'échelle du neutrophile.

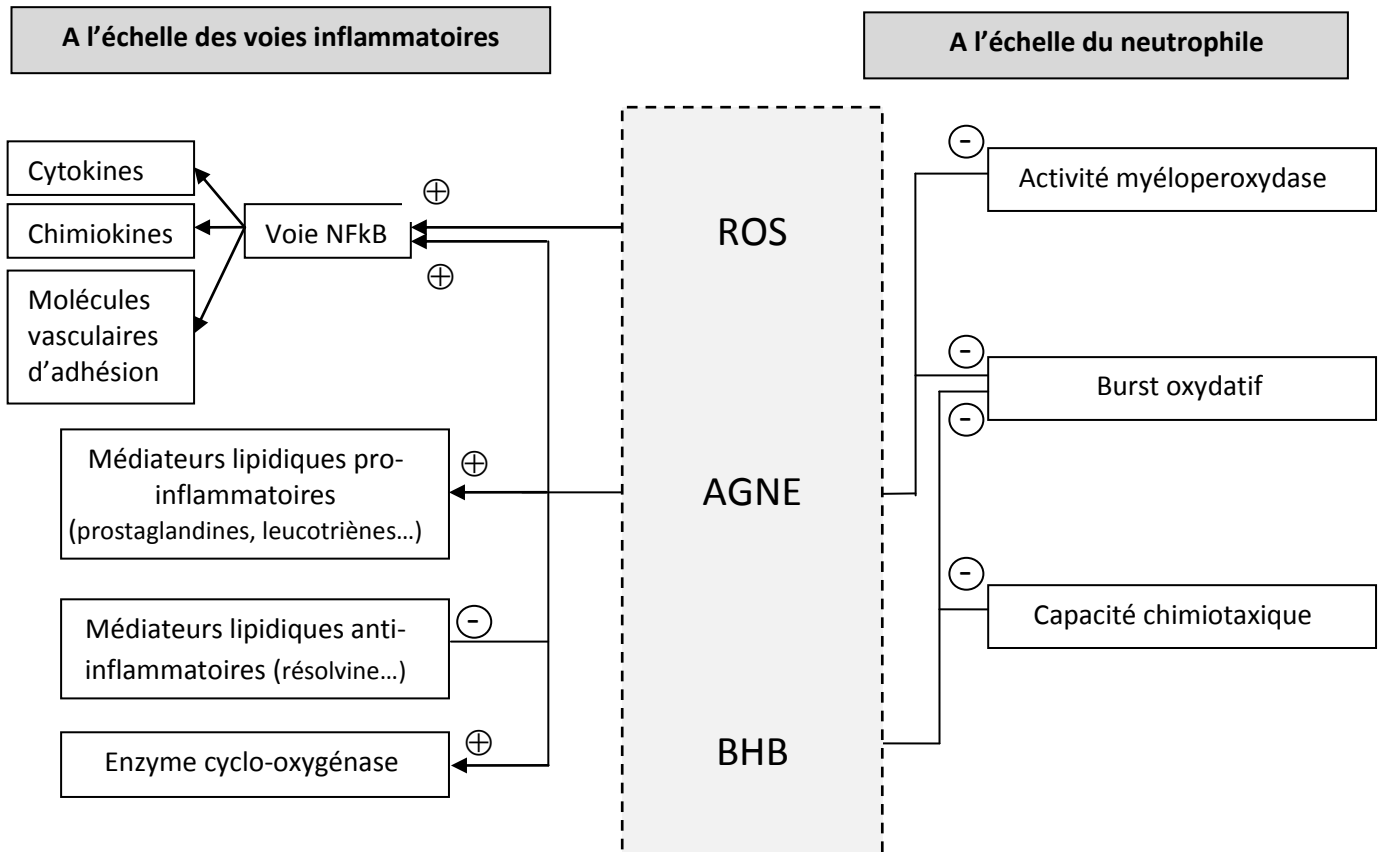


FIGURE 13 : Résumé des actions des métabolites énergétiques sanguins à l'échelle des « voies inflammatoires » et à l'échelle du neutrophile

ROS = Reactive Oxygen Species ; AGNE = Acides Gras Non Estérifiés ; BHB = Béta-hydroxybutyrate, NFkB = Nuclear Factor-kappa B

Un déficit énergétique perturbe donc le système immunitaire, ce qui rend les vaches plus susceptibles vis-à-vis d'infections locales et systémiques en post-partum.

Nous pouvons alors poser l'hypothèse suivante : un bilan énergétique négatif pourrait avoir un impact sur l'inflammation génitale en post-partum. Plus précisément nous pouvons nous demander si les marqueurs d'un déficit énergétique peuvent permettre, en pratique, de prédire la survenue d'une inflammation génitale.

4. LES OUTILS A DISPOSITION DU VETERINAIRE

Nous verrons dans cette partie les différents indicateurs énergétiques qui pourraient être mesurés pour prédire une future inflammation génitale si l'hypothèse citée-ci-dessus est vérifiée. Nous verrons également quelle est la méthode de référence pour détecter une inflammation génitale.

a. Les indicateurs d'un déficit énergétique

Nous détaillerons ici seulement les paramètres facilement mesurables par le vétérinaire qui sont le plus révélateurs d'un déficit énergétique et qui fournissent une réponse rapide.

Nous verrons également à quel moment autour du *peripartum* il est le plus judicieux de les mesurer.

i. Les AGNE

Comme vu précédemment, les AGNE proviennent de la lipomobilisation. Ils permettent de mettre en évidence un bilan énergétique négatif (Adewuyi et al. 2005) : en effet, ils sont fortement corrélés au bilan énergétique (Raboisson et Schelcher 2009).

La valeur seuil utilisée pour évaluer un déficit énergétique trop important 2 à 14 jours avant vêlage varie selon les auteurs de 0,3 mmol/L (Ospina et al. 2010 ; Chapinal et al. 2011) à 0,5 mmol/L (Leblanc et al. 2005) ; et celle après le vêlage est de 0,72 mmol/L (Ospina et al. 2010).

Le dosage des AGNE peut se faire sur sérum par des laboratoires ; la méthode de référence est la chromatographie en phase gazeuse. Les résultats sont parfois longs à obtenir. Un des objectifs de la thèse est de valider l'utilisation d'un nouvel appareil qui permettrait de doser les AGNE directement au cabinet (VetPhotometer® ; Diaglobal GmbH, Berlin, Allemagne).

ii. Les corps cétoniques

Le BHB est un des 3 corps cétoniques fabriqués en grande quantité lors d'un déficit énergétique. Lorsque la quantité d'AGNE excède la capacité du foie à les oxyder complètement, la quantité de corps cétoniques augmente (Leblanc 2010). Son dosage dans le sang constitue le Gold Standard pour diagnostiquer une cétose (clinique et subclinique), entre 5 et 50 jours après le vêlage (Duffield et al. 2009). Les seuils varient selon les auteurs entre 1,00 mmol/L (Ospina et al. 2010) et 1,40 mmol/L (Duffield et al. 2009).

Les méthodes de dosage du BHB dans le sang peuvent être réalisées en laboratoire ou au chevet de l'animal via des lecteurs portables tel que le lecteur Optium Xceed® (ABBOTT France). Lorsque la cétose subclinique est définie par une concentration sanguine en BHB \geq 1,2 mmol/L, la sensibilité et la spécificité de cette méthode dans le diagnostic de cétose subclinique sont respectivement de 85% et 94% et si elle est définie par une concentration sanguine \geq 1,4 mmol/L alors elles sont respectivement de 90% et 98% (Voyvoda et Erdogan 2010).

Les corps cétoniques étant excrétés dans l'urine, il est également possible de les y détecter. Il est possible de le faire au chevet de l'animal à l'aide, par exemple, de bandelette KetoStix® (Bayer Diagnostics Europe Ltd., Dublin, Irlande). La sensibilité et la spécificité ont été établies respectivement à 78% et 99% (Krogh et al. 2011).

Enfin il est possible de les détecter dans le lait, à l'aide de bandelettes (KetoLac® par exemple (Sanwa Kagaku Kenkyusho Co. Ltd., Nagoya, Japon)) ou par des modules d'analyse installés sur le robot de traite. La sensibilité et la spécificité des bandelettes KetoLac® sont respectivement de 58% et 99% (Krogh et al. 2011).

iii. Cinétique des AGNE et des BHB

L'apparition des AGNE est plus précoce que celle des BHB, comme le montre la FIGURE 14. Les AGNE sanguins permettent de mettre en évidence une lipomobilisation excessive avant même que la vache n'ait vêlé. Ainsi en pratique les AGNE constituent un bon indicateur dans les deux dernières semaines avant le vêlage et les BHB dans les deux semaines après le vêlage.

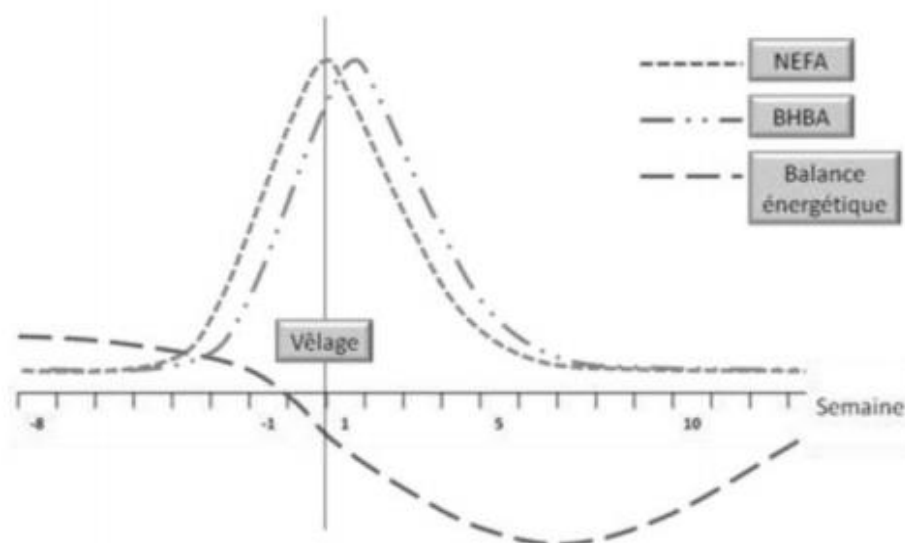


FIGURE 14 : Cinétique des AGNE et du BHB lors du péri-partum chez la vache laitière (d'après Staufenbiel et Spieser, 2012)

iv. La note d'état corporel

Le niveau énergétique, qu'il soit positif ou négatif, se traduit par un changement des réserves de graisses. La notation de l'état corporel des bovins permet de déterminer approximativement les réserves corporelles mobilisables dont ils disposent. L'échelle de note la plus utilisée va de 1 (animaux extrêmement maigres) à 5 (animaux extrêmement gras) et les subdivisions peuvent aller de 0,25 à 0,5 points (Edmonson et al. 1989 ; Ferguson et al. 1994). La note d'état corporel (NEC) est évaluée selon l'apparence des tissus graisseux recouvrant les éminences osseuses de la région pelvienne (notamment sur les processus transverses et épineux des vertèbres lombaires, les tubérosités iléales et ischiales, le ligament sacro-iliaque et ischio-coccygien). La couverture graisseuse peut être évaluée par palpation et/ou inspection visuelle (Ferguson et al. 1994).

Les recommandations pour la note d'état corporel au vêlage sont généralement comprises entre 3 et 3,5 sur une échelle allant de 0 à 5 (Enjalbert 2003 ; Roche et al. 2009) et elle doit baisser de moins de un point en début de lactation (Enjalbert 2003 ; López-Gatius et al. 2003) (FIGURE 15).

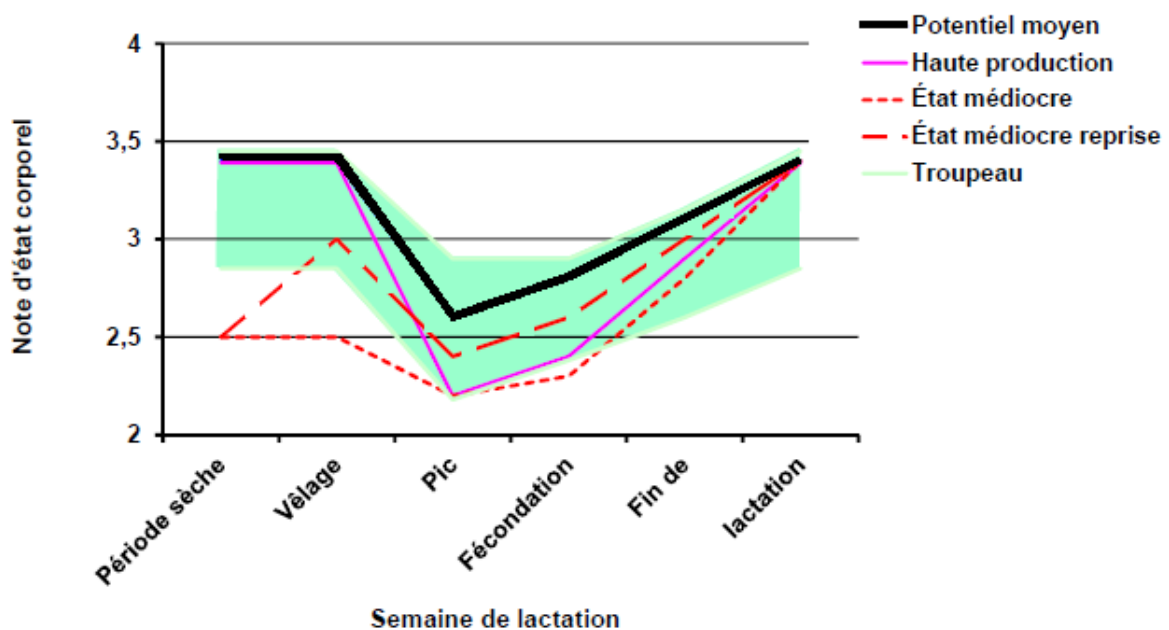


FIGURE 15 : Evolution souhaitable de l'état corporel en *peripartum* (Enjalbert, 2014)

La méthode de notation est subjective, mais reste une référence car elle est non invasive et précise. Pour garantir la répétabilité et la fiabilité de la notation, des arbres décisionnels ont été créés avec des schémas et des descriptions précises afin de définir toutes les caractéristiques correspondantes à une NEC (Annexe 1).

b. La détection de l'inflammation génitale

Nous parlerons principalement de la méthode de référence, puisque c'est en se comparant à celle-ci que nous pourrions confirmer ou infirmer notre hypothèse. Il s'agit de la cytologie génitale, cervicale pour détecter une inflammation du col, et utérine pour détecter une inflammation de l'utérus. Les cellules cervicales et endométriales sont collectées à l'aide d'une cytobrosse ou par lavage utérin, puis étalées sur une lame avant de les dénombrer au microscope (Madoz et al. 2014).

Cette méthode est peu envisageable en pratique en raison de sa difficulté (elle nécessite un cathétérisme cervical) et du temps qu'elle exige (prélèvement, coloration, préparation, lecture du frottis), et ce malgré son faible coût en matériel (Fournier et al. 2014).

Ainsi il serait intéressant de pouvoir s'affranchir de cette méthode pour détecter une inflammation génitale. D'autant plus que les autres méthodes de diagnostic utilisées aujourd'hui ont peu de valeur diagnostique en comparaison à la cytologie génitale (TABLEAU 2). En effet, l'appréciation du tonus utérin et l'évaluation du diamètre cervical et des cornes par palpation transrectale conduisent à une forte proportion de faux positifs et à une faible sensibilité (25% à 43%) ; la recherche de liquide à l'échographie conduit également à une forte proportion de faux positifs (47%) et à une faible spécificité (42%), tout comme l'examen des sécrétions vaginales (respectivement 53% et 56%) (Fournier et al. 2014).

TABLEAU 2 : Comparaison de la valeur diagnostique de différentes techniques de détection des endométrites en comparaison de la cytologie utérine ⁽¹⁾ (Fournier et al., 2014)

MÉTHODE/CRITÈRE	SENSIBILITÉ	SPÉCIFICITÉ	VPP	VPN
Palpation transrectale : diamètre cervical \geq 7,5 cm	36 %	89 %	70 %	64 %
Palpation transrectale : diamètre d'une corne \geq 4 cm	25 %	85 %	56 %	60 %
Palpation transrectale : consistance utérine anormale ⁽²⁾	43 %	47 %	38 %	52 %
Échographie : présence de liquide	69 %	42 %	47 %	64 %
Examen des sécrétions vaginales : score 3 ou 4 ⁽³⁾	60 %	83 %	73 %	73 %
Examen des sécrétions vaginales : score 2, 3 ou 4 ⁽³⁾	80 %	53 %	56 %	78 %

Sensibilité = vrais positifs/(vrais positifs + faux négatifs)

Spécificité = vrais négatifs/(vrais négatifs + faux positifs)

Valeur prédictive positive (VPP) = vrais positifs/(vrais positifs + faux positifs)

Valeur prédictive négative (VPN) = vrais négatifs/(vrais négatifs + faux négatifs)

(1) Au seuil de 6% de neutrophiles, étude chez 93 vaches holstein entre 21 et 35 jours *post-partum*

(2) Dure ou pâteuse

(3) Score 2 : mucus trouble ou rares avec des flocons de pus ; score 3 : mucus contenant moins de 50% de pus ; score 4 : mucus contenant plus de 50% de pus

Enfin, des études récentes ont mis en évidence que le test à l'estérase leucocytaire sur mucus utérin à l'aide de bandelettes urinaires Multistix® (Bayer, Dublin, Irlande) pourrait être une alternative à la cytologie endométriale pour détecter les endométrites subcliniques : en effet, 3 études sur 4 indiquent une sensibilité satisfaisante associée à une très bonne spécificité (respectivement 83% et 94% pour l'étude menée par Santos et al. (2006) par exemple) (Fournier et al. 2014).

Notre travail expérimental a analysé au cours de suivis longitudinaux le statut énergétique de 118 vaches issues de 10 élevages commerciaux de 14 jours pré-partum à 35 jours post-partum et l'état inflammatoire de leur appareil génital de 21 à 35 jours post-partum.

Les questions biologiques posées sont les suivantes :

- est-il possible en pratique de prédire la survenue d'une inflammation génitale à l'aide des indicateurs du métabolisme énergétique ;
- et en particulier une inflammation génitale peut-elle être prédite jusqu'à 2 semaines avant le vêlage à l'aide de ces indicateurs ;
- valider l'utilisation du Vetphotometer®, appareil qui pourrait permettre de doser les AGNE au cabinet vétérinaire.

ETUDE EXPERIMENTALE

1. MATERIELS ET METHODES

a. Echantillon d'étude

i. Elevage

Entre le 4 mars et le 12 juin 2015, 143 vaches laitières de race Prim'Holstein ont été recrutées pour cette étude. Ces 143 vaches proviennent de 10 exploitations différentes, toutes situées en Bretagne dans les Côtes-d'Armor (22) et font partie de la clientèle du groupement vétérinaire de la Rance, situé à Broons. Ces exploitations sont de taille variable (65 à 110 vaches en lactation) et la production moyenne par vache est située entre 8000 et 10 300 L. Les exploitations sont équipées de salle de traite conventionnelle, de traite rotative ou encore de robot. Le nombre de vaches recrutées pour l'étude varie de 4 à 24 selon les exploitations.

Toutes les exploitations font parties d'un programme de suivi de reproduction par le Dr. Engel, le Dr. Berger ou par l'inséminateur, ce qui était un critère de recrutement à l'étude. L'adhésion à cette étude a été basée sur le volontariat de la part des éleveurs.

ii. Critère d'inclusion

Les vaches incluses dans cette étude sont toutes les vaches de race Prim'Holstein des 10 exploitations sélectionnées qui ont été inséminées entre le 07 juin 2014 et le 15 août 2014.

iii. Critère d'exclusion

Toutes vaches ayant vêlé avant 270 jours de gestation, ayant subi une césarienne ou ayant présenté une mammite colibacillaire étaient exclues de l'étude. Ainsi 10 vaches ont été exclues pour avoir vêlé prématurément et 1 vache pour avoir présenté une mammite colibacillaire post-partum. Aucune vache incluse dans l'étude n'a subi de césarienne.

b. Protocole expérimental

Toutes les informations préalables à l'étude (date d'IA (Insémination Artificielle) fécondante, date de tarissement, rang de lactation à venir, nombre d'IA avant IA fécondante, production au cours de la lactation précédente) ont été recueillies à l'aide du logiciel VETELEVAGE® (SNGTV, Paris, France) ou auprès des éleveurs.

Chaque vache est vue au moins 3 fois (FIGURE 16) :

- la 1^{ère} fois à 270 jours post IA fécondante, afin que le prélèvement soit effectué dans les 14 à 3 jours avant le vêlage (en visant un vêlage à 280 jours post IA fécondante). Deux tubes secs sont alors prélevés, afin d'échantillonner deux aliquots de sérum pour le dosage des AGNE. Au cours de cette première visite, l'état corporel est noté avec deux méthodes différentes. Si la vache n'a pas vêlé dans les 280 jours après l'IA fécondante, une 1^{ère} visite « bis » est réalisée, et les mêmes prélèvements de nouveau effectués.
- la 2^{ème} fois dans les 3 à 14 jours qui suivent le vêlage. Au cours de cette deuxième visite, l'état corporel de la vache est de nouveau évalué avec les deux mêmes méthodes. Des prélèvements de sang sont alors effectués sur 4 tubes : un sur tube sec pour doser les AGNE, deux sur tubes héparinés pour doser le calcium, et un sur tube EDTA pour une étude ultérieure sur la génétique. Les informations sur le déroulement du vêlage sont également recueillies au cours de cette visite.
- la 3^{ème} fois dans les 21 à 35 jours après le vêlage. Au cours de cette troisième visite, l'état corporel de la vache est de nouveau évalué avec les deux mêmes méthodes et une note d'aplomb est attribuée. Les sécrétions vaginales recueillies à l'aide d'une main gantée introduite dans le vagin sont alors scorées et des frottis cytologiques du col utérin puis de l'utérus sont réalisés. Quatre pots de lait annotés sont laissés à l'éleveur pour chacune des vaches prélevées au cours de cette visite, afin que celui-ci collecte du lait des quatre quartiers au cours de la traite du lendemain matin. Les informations concernant l'état de santé de l'animal sont également recueillies au cours de cette visite.

Le jour de la 3^{ème} visite, les frottis utérins et cervicaux sont lus afin de déterminer si la vache a ou non une inflammation de l'appareil génital.

Le lendemain de la 3^{ème} visite, une 4^{ème} visite est effectuée afin de récupérer les pots de lait et de traiter éventuellement l'inflammation génitale (céfapirine 500 mg, Métricure®, MSD, Beaucozéz, France).

Une fiche par animal a été créée afin d'y consigner toutes les informations (Annexe 2).

INFORMATIONS PREALABLES

- Numéro de travail
- Date de tarissement
- Rang de lactation à venir
- Production laitière de la lactation précédente

INFORMATIONS VELAGE

- Date
- Assistance ou non
- Veau vivant ou non

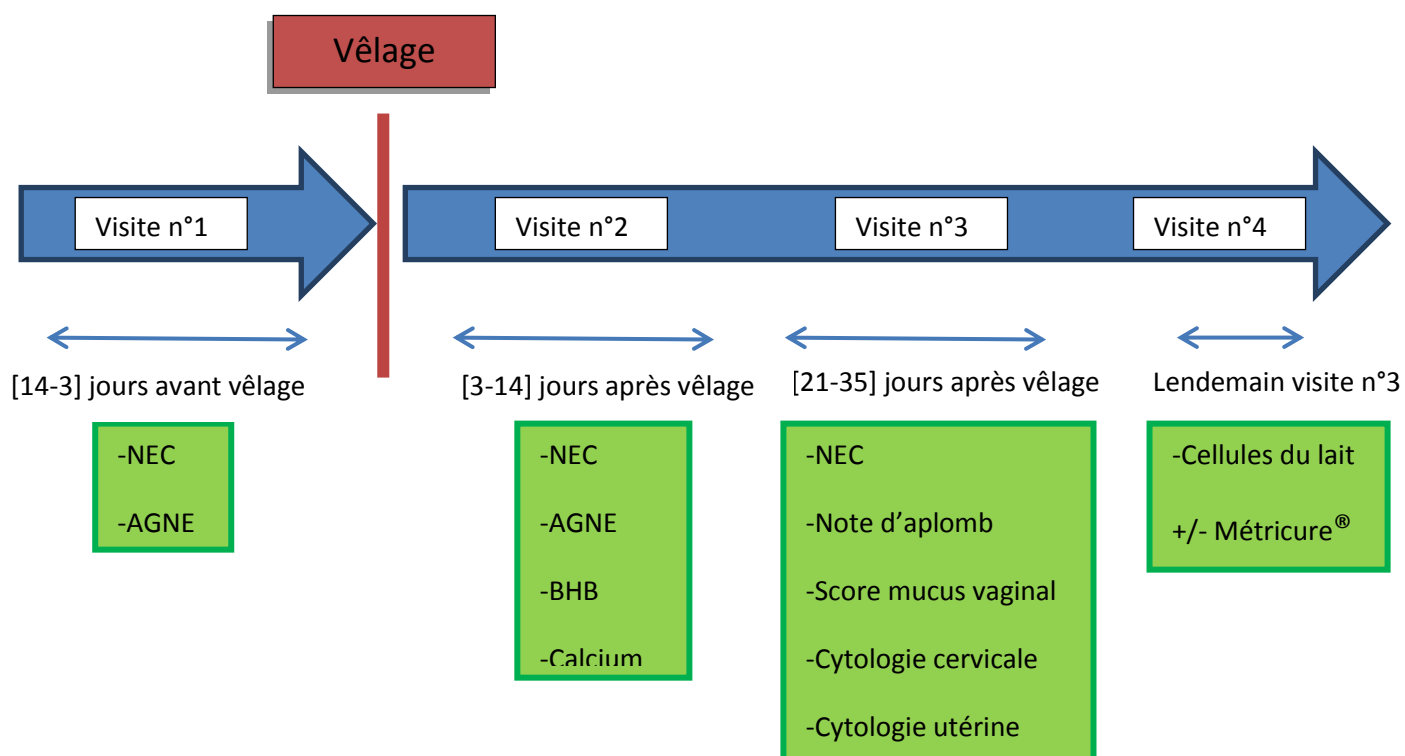


FIGURE 16 : Protocole expérimental

NEC = note d'état corporel, AGNE = acides gras non estérifiés, BHB= bêta-hydroxybutyrate

c. Prélèvements

i. Identification des prélèvements

Chaque vache recevait un numéro d'identification selon ce schéma : initiales de l'élevage suivi d'un chiffre correspondant à la n-ième vache incluse dans cet élevage.

Ex : **BJ 2** → 2^{ème} vache de l'élevage « Bois Julienne » incluse dans l'étude.

Chaque prélèvement sanguin était centrifugé puis aliquoté. Le code sur l'aliquot était alors le suivant : numéro d'identification de la vache suivi de M1 s'il s'agissait du prélèvement réalisé lors de la première visite en vue du dosage d'AGNE, de M2 s'il s'agissait du prélèvement réalisé lors de la deuxième visite en vue du dosage d'AGNE ou de M3 s'il s'agissait du prélèvement réalisé lors de la deuxième visite en vue du dosage de calcium.

Ex : **BS 3 – M2** → élevage Beau Soleil, 3^{ème} vache incluse dans l'étude dans cet élevage, sérum provenant du tube sec prélevé lors de la deuxième visite en vue du dosage d'AGNE.

Enfin, chaque lame sur laquelle était étalé le produit du prélèvement de la cytobrosse était identifiée de cette manière : numéro d'identification de la vache, suivi de C ou de U selon si le prélèvement provenait du col ou de l'utérus, suivi de I, II, III ou IV s'il s'agissait du 1^{er}, 2^e, 3^e ou 4^e étalement à partir d'une même cytobrosse.

Ex : **LA 4 - U II** → Elevage « Lefeuvre Alix », 4^{ème} vache incluse dans cet élevage, prélèvement réalisé dans l'utérus, 2^{ème} étalement.

ii. Prélèvements sanguins pour le dosage d'AGNE

Les échantillons sanguins en vue du dosage d'AGNE sont prélevés entre 14 et 3 jours avant vêlage (au cours de la visite n°1) puis entre 3 et 14 jours après vêlage (au cours de la visite n°2) au niveau de la veine coccygienne. Tous les prélèvements sont réalisés sur tube sec sous-vide de 5 mL (VenoSafe[®], Terumo Europe NV, Leuven, Belgique) avec une aiguille de 22 G puis sont immédiatement identifiés. Les prélèvements sont ensuite conservés à 4°C dans les 4 heures suivant le prélèvement et centrifugés dans les 24 heures (EBA III, Hettich[®], Tuttlingen, Allemagne). Le sérum est alors prélevé avec une micropipette 1000 µL et placé dans un microtube de 2 mL qui est immédiatement conservé à -20°C jusqu'à analyse.

iii. Prélèvements sanguins pour le dosage des BHB

Les prélèvements de sang en vue de doser les corps cétoniques sont prélevés entre 3 et 14 jours après vêlage au niveau de la veine coccygienne avec une aiguille de 18G. Le sang total

est alors placé sur la bandelette et la valeur des BHB est directement lue sur le lecteur Optimum Xceed® (Abbott, Rungis, France). Le résultat n'est pas communiqué à l'éleveur afin qu'aucun traitement ne soit administré dans le cas où la valeur serait élevée et pour ainsi ne pas biaiser l'étude.

iv. Prélèvements des sécrétions vaginales

Le nettoyage de la zone péri-anales nécessite deux opérateurs et se déroule ainsi : l'opérateur n°1 introduit son bras ganté dans le rectum de la vache et vide celui-ci. L'opérateur n°2 tient alors la queue de la vache sur le côté afin de dégager la zone péri-anales pendant que l'opérateur n°1 réalise trois séries de lavage à l'aide d'eau tiède et de savon antiseptique (Vétédine savon® Vétoquinol, Lure, France). La zone péri-anales est ensuite séchée à l'aide de papier absorbant. Le manipulateur n°1 introduit alors sa main droite gantée (Sensigan®- gant d'exploration, Génia, Saint-Hilaire-de-Chaléons, France) dans le vagin de la vache et progresse jusqu'au col de l'utérus. Il recueille les sécrétions vaginales présentes sur le plancher du vagin et après retrait de sa main, il écarte ses doigts afin de visualiser la transparence de celles-ci. Les deux opérateurs procèdent enfin à la notation du mucus vaginal.

v. Prélèvements cytologiques cervical et utérin

Les frottis cytologiques cervicaux et utérins sont réalisés à l'aide d'une cytobrosse stérile (Cytobrush® Plus GT, Medscand® medical, redistribuée par Alcyon, Paris, France) insérée dans un pistolet d'insémination en acier inoxydable (Pistolet Kombicolor, IMV, l'Aigle, France) de diamètre interne de 4,1 mm. La cytobrosse est fixée à l'extrémité du pistolet à l'aide d'Adhéroplaste® fibranne. Le montage est ensuite placé dans une gaine plastique d'insémination artificielle afin de protéger la cytobrosse. Le tout est recouvert d'une chemise sanitaire. Lors du montage, les opérateurs prennent bien garde de ne pas toucher directement ni la cytobrosse, ni toute partie qui sera ensuite introduite dans l'utérus de la vache.

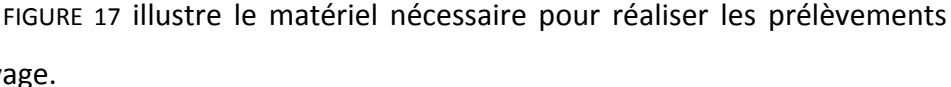
La photo de la  FIGURE 17 illustre le matériel nécessaire pour réaliser les prélèvements cytologiques en élevage.



FIGURE 17 : Photo du matériel nécessaire pour réaliser les prélèvements cytologiques

- *Prélèvement cytologique cervical*

L'opérateur n°1 introduit sa main gantée préalablement lubrifiée (GELECOgraphic®, Qalian, Segré, France) dans le rectum de la vache et saisit le col de l'utérus. L'opérateur n°2 lui tend le pistolet d'insémination monté et écarte les lèvres de la vulve afin que celui-ci puisse insérer le montage dans le vagin sans difficulté. L'opérateur n°1 fait alors progresser le pistolet en le guidant par voie transrectale jusque au 2^{ème} anneau du col. L'opérateur n°2 exerce alors une traction sur la chemise sanitaire afin de percer celle-ci. Le pistolet d'insémination est ensuite poussé dans la gaine plastique afin de découvrir la cytobrosse. Une rotation dans le sens horaire de la cytobrosse est réalisée afin de la frotter contre la paroi du col. Le pistolet d'insémination est ensuite tiré afin de rentrer la cytobrosse dans la gaine plastique, et tout le dispositif est sorti de l'animal.

- *Prélèvement cytologique utérin*

Le prélèvement cytologique utérin est réalisé de la même manière que le prélèvement cervical, à la différence que le pistolet d'insémination doit progresser jusque dans l'utérus, après avoir cathétérisé entièrement le col.

- *Réalisation des frottis*

L'opérateur n°2 récupère le dispositif et extériorise la cytobrosse hors de la gaine plastique.

Il fait alors rouler délicatement la cytobrosse sur des lames rodées, en veillant à ce que la cytobrosse fasse au moins un tour complet. Le prélèvement issu du col de l'utérus est étalé sur au moins 2 lames, et celui issu du corps utérin sur au moins 3 lames. Le nombre de frottis effectué peut varier selon l'imbibition de la cytobrosse. Les lames sont ensuite rangées dans une boîte porte-lame.

Au cabinet, toutes les lames sont colorées avec le kit RAL 555® (RAL Diagnostics, Martillac, France).

d. Analyse des prélèvements et notation

i. Dosage des AGNE

Cent échantillons ont été dosés par le laboratoire LABEO (Frank Ducombe, Caen, France) avec un kit de la société RANDOX (Roissy-en-France, France).

L'ensemble des prélèvements réalisés ont été dosés avec le lecteur VetPhotometer® (Diaglobal GmbH, Berlin, Allemagne) (FIGURE 18). Il s'agit d'un appareil qui mesure l'absorbance de l'échantillon par spectrophotométrie puis réalise le calcul suivant :

$$\mathbf{C \text{ [mmol/L]} = 1.00 \times \text{Absorbance de l'échantillon} / \text{Absorbance du standard}}$$

Tous les résultats sont donc donnés en mmol/L.

Quatre séries de dosage ont été réalisées. Chaque série nécessite l'utilisation d'un kit, qui permet de doser environ 50 échantillons. Avant chaque série de dosage, deux solutions de réactifs ont été préparées puis laissées à température ambiante pendant 15 minutes.



FIGURE 18 : Appareil VetPhotometer

- Préparation des échantillons

Chaque tube en verre est préalablement identifié au marqueur :

- « BLANC » pour le témoin négatif
 - « STANDARD » pour le témoin positif
 - 50 tubes avec le même code que celui de l'aliquot sanguin (ex : BS3-M2 pour le prélèvement lors de la 2^{ème} visite dans l'élevage Beausoleil).
-
- 1mL du réactif 1 est pipeté dans chaque tube ;
 - 50µL d'eau sont pipetés dans le tube « BLANC », 50µL de solution standard dans le tube « STANDARD » et 50µL de sérum de la vache à tester dans le 3^{ème} tube ;
 - Chaque tube est rebouché puis remué doucement ;
 - Nous laissons réagir 10 minutes à température ambiante ;
 - Chaque tube est débouché puis 0,5 mL de réactif R2 sont placés dans chacun des tubes ;
 - Chaque tube est rebouché puis remué doucement : petit à petit les tubes se colorent plus ou moins en violet ;
 - De nouveau nous laissons incuber pendant 10 minutes à température ambiante.

- Mesure

Après avoir sélectionné « NEFA » sur l'appareil, le tube « BLANC » est inséré. La valeur « 0 » est alors lue sur l'appareil. Le tube « STANDARD » est ensuite inséré, ce qui permet de lire sur l'appareil l'absorbance de la solution standard. Chaque échantillon est ensuite placé dans l'appareil, la valeur de la concentration en AGNE en mmol/L est directement lue sur l'écran.

L'appareil mesure des concentrations situées entre 0,02 mmol/L et 4 mmol/L.

- Contrôle de la précision

Pour étudier la reproductibilité et la précision de la mesure avec l'appareil VetPhotometer®, nous avons calculé le coefficient de variation inter-essai et intra-essai.

Pour calculer le coefficient de variation intra-essai, nous avons dosé 5 fois le même échantillon au cours d'une même série, puis fait le calcul suivant :

$$CV \% = (\text{Ecart-type/moyenne}) \times 100$$

Les résultats sont donnés dans le TABLEAU 3.

TABLEAU 3 : Données pour le calcul du coefficient de variation intra-essai
(Les résultats des dosages sont donnés en mmol/L)

Echantillon	Dosage 1	Dosage 2	Dosage 3	Dosage 4	Dosage 5	Ecart-type	Moyenne	CV %
FE15-M1	0,13	0,12	0,12	0,13	0,13	0,01	0,126	4,35

Le coefficient de variation intra-essai est donc de 4,35%, ce qui est très faible (un coefficient intra-essai < 10% étant généralement considéré comme acceptable).

De même, nous avons calculé le coefficient inter-essai en dosant 5 fois les mêmes échantillons au cours de 4 séries différentes (TABLEAU 4).

TABLEAU 4 : Données pour le calcul du coefficient de variation inter-essai
(Les résultats des dosages sont donnés en mmol/L)

Echantillon	Dosage 1	Dosage 2	Dosage 3	Dosage 4	Ecart-type	Moyenne	CV%
BS1-M1	0,06	0,05	0,07	0,06	0,01	0,06	13,61
BS1-M2	1,17	1,08	1,32	1,28	0,11	1,21	8,97
BS2-M1	0,1	0,11	0,09	0,09	0,01	0,1	9,82
BS2-M2	0,46	0,7	0,94	0,91	0,22	0,75	29,54
BS3-M1	0,09	0,09	0,1	0,1	0,01	0,09	6,08

4 des 5 coefficients de variation inter-essai sont inférieurs à 15% (15% étant le seuil acceptable). Le coefficient de variation inter-essai moyen est de 17,81%.

ii. Dosage des BHB

Tous les dosages de BHB ont été réalisés au chevet de l'animal à l'aide du lecteur portable Optium Xceed® (Abbott, Rungis, France). Cet appareil donne une valeur de BHB en plaçant une goutte d'au moins 1,5 µL sur la bandelette. La valeur est directement lue sur l'appareil au bout de 10 secondes. L'unité est le mmol/L.

iii. Notation des sécrétions vaginales

Les sécrétions vaginales ont été notées directement après leur prélèvement à l'aide d'une grille de notation allant de 1 à 4 (FIGURE 19).

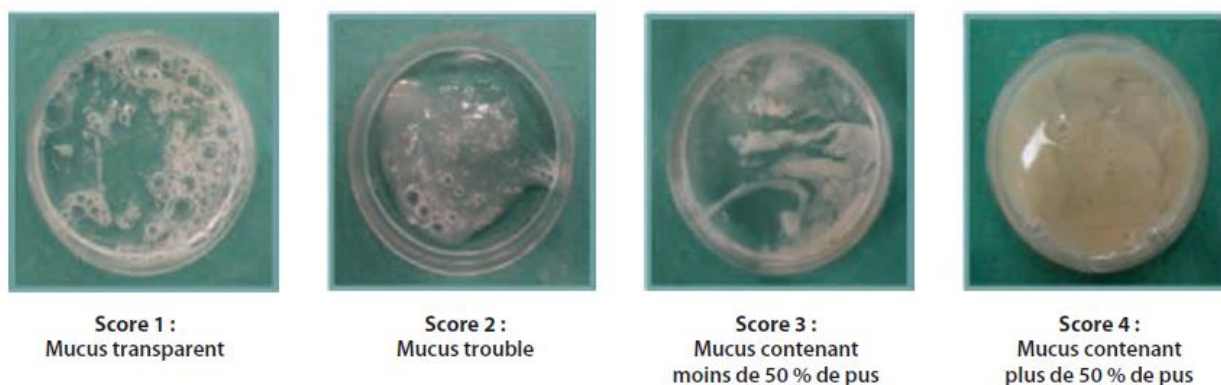


FIGURE 19 : Echelle de score pour le contenu vaginal (Deguillaume, 2010)

iv. Comptage cellulaire des frottis cervicaux et utérins

La lecture des frottis est réalisée par microscope optique (Olympus 41, Olympus, France), tout d'abord au grossissement x 100 afin d'évaluer l'homogénéité de la lame et de rechercher une lecture de zone correcte, puis au grossissement x 1000 (objectif à immersion) en faisant des créneaux. Un comptage des différentes cellules observées est effectué à l'aide d'un compteur manuel. Deux cent cellules sont comptées par frottis. Seuls les granulocytes neutrophiles matures (FIGURE 20) et les cellules épithéliales (agranulaire, granuleuse ou squameuse) (FIGURE 201) sont pris en compte.



FIGURE 20 : Granulocyte neutrophile

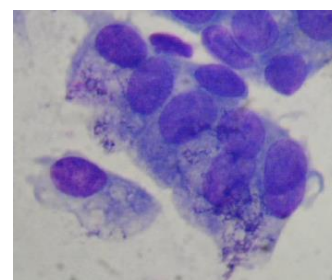


FIGURE 21 : Cellules épithéliales

Pour pouvoir être comptées, les cellules devaient posséder une membrane cytoplasmique et une membrane nucléaire intègres. Les cellules anucléées et abimées n'étaient pas comptées.

Un maximum de 20 cellules sont comptées par champ et en cas d'amas cellulaire, seules sont comptabilisées les cellules qui répondent au critère précédent.

A l'issue de la lecture, la proportion de neutrophiles parmi les deux cents cellules comptées par frottis est calculée.

Les frottis ont été lus par les deux opérateurs. Afin d'écartier tout biais lié aux lecteurs, 20 lames ont été lues par les deux opérateurs. Quand le pourcentage de neutrophiles est < 15%, la différence dans le comptage du nombre de neutrophiles n'excède pas 4, ce qui revient à une différence maximum de 2% entre les deux opérateurs. Pour une lecture il y a eu une différence de 7 cellules (moyenne du taux de neutrophiles 16,75%) et une autre de 8 cellules (moyenne du taux de neutrophiles 74%) (TABLEAU 5). Le seuil pathologique étant de 5%, la concordance des deux lecteurs a donc été considérée comme bonne.

TABLEAU 5 : Comparaison des résultats de lecteurs entre les deux opérateurs

L1 et L2 : Nombre de neutrophiles comptés sur 200 cellules comptés par le lecteur 1 et le lecteur 2, L1-L2 : Différence du nombre de neutrophiles comptés entre le lecteur 1 et le lecteur 2

L1	5	30	2	8	1	11	144	1	0	1	20	107	143	0	0	10	37	0	5	16
L2	5	34	4	10	0	10	152	3	0	0	16	106	146	0	0	10	30	0	8	18
L1-L2	0	-4	-2	-2	1	1	-8	-2	0	1	4	1	-3	0	0	0	7	0	-3	-2

v. Notation de l'état corporel

Au cours de nos visites, nous avons noté l'état corporel des animaux à l'aide :

- d'une grille de notation standardisée pour les vaches de race Prim'holstein (Annexe 1)
- du logiciel COW-Note (Obione, Mâcon, France). Après avoir identifié les animaux selon différents critères (parité, stade du tarissement ou de lactation), des photos de vaches sont présentées. C'est en sélectionnant les photos qui ressemblent le plus à la vache observée qu'une note est attribuée par le logiciel.

e. Analyse statistique des données

i. Outils statistiques

Les données de cette étude ont été analysées à l'aide du logiciel EXCEL® (Microsoft 2010) et de TANAGRA® (Tanagra 1.4, Lyon, France).

ii. Tests statistiques

Les moyennes sont indiquées sous la forme moyenne \pm SD avec SD correspondant à l'écart-type de la moyenne. Les médianes sont exprimées de la manière suivante : médiane [quartile 1 ; quartile 3].

Pour tester la normalité de chacun des paramètres, nous avons utilisé le test de Shapiro-Wilk. Le test de Friedman's ANOVA a été utilisé pour comparer des mesures répétées. La corrélation entre les différents paramètres a été testée avec le test Rho de Spearman. La régression logistique binaire a été utilisée pour chercher l'influence d'une variable discrète sur une variable continue. Le test des rangs de Mann-Whitney, test non paramétrique, nous a permis de comparer les moyennes de deux échantillons. Les proportions ont quant à elles été comparées avec le test du Chi². Des courbes ROC ont été établies pour déterminer la valeur seuil optimale d'un test.

Nous avons considéré deux valeurs significativement différentes si $p < 0,05$.

2. RESULTATS

a. Validation de l'utilisation du VetPhotometer sur le terrain

i. Données

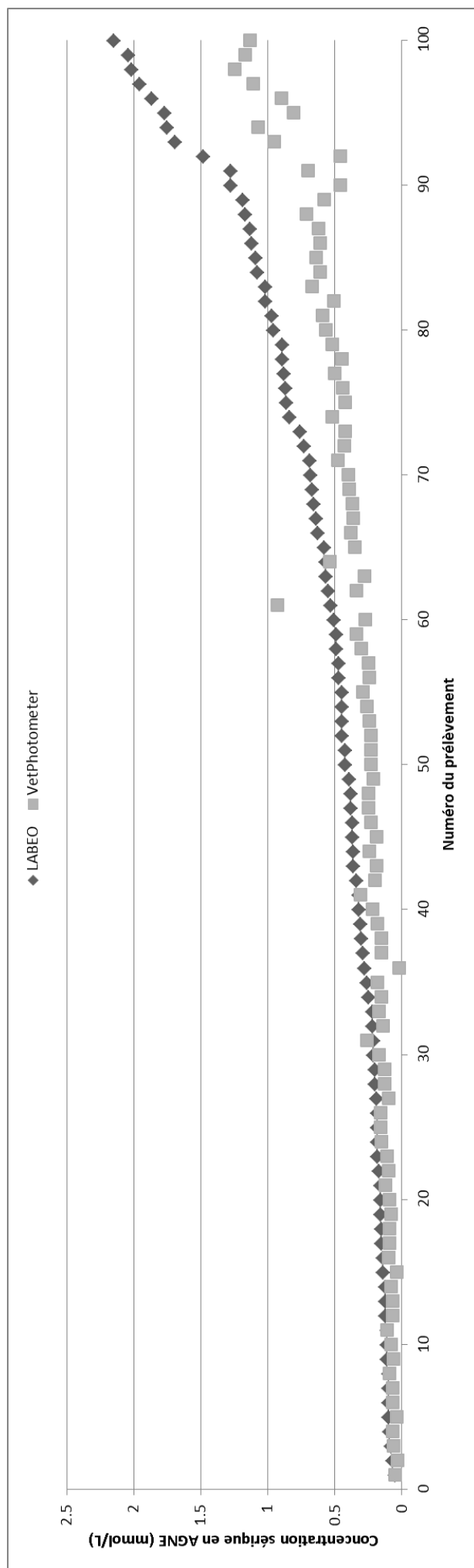
Nous avons dosé la concentration sérique en AGNE de 100 vaches avec l'appareil VetPhotometer® et avec la méthode utilisée par le laboratoire LABEO (FIGURE 22).

En ce qui concerne les résultats donnés par le laboratoire LABEO, les valeurs vont de 0,05 mmol/L à 2,15 mmol/L. La moyenne est de 0,59 mmol/L \pm 0,52 mmol/L.

En ce qui concerne les résultats donnés par le Vetphotometer, les valeurs vont de 0,02 mmol/L à 1,25 mmol/L. La moyenne est de 0,34 mmol/L \pm 0,29 mmol/L.

FIGURE 22 : Représentation de la concentration sérique en AGNE pour chaque prélèvement en fonction de la méthode utilisée. Les prélèvements ont été classés par ordre croissant de concentration en AGNE avec la méthode de référence (LABEO : dosage au laboratoire; VetPhotometer : dosage au cabinet avec l'appareil VetPhotometer)

FIGURE 22



ii. Corrélation entre les deux méthodes

D'après le test du coefficient de Spearman, on observe une très bonne corrélation entre les deux méthodes ($r=0,96$; $p<0,001$) (FIGURE 23).

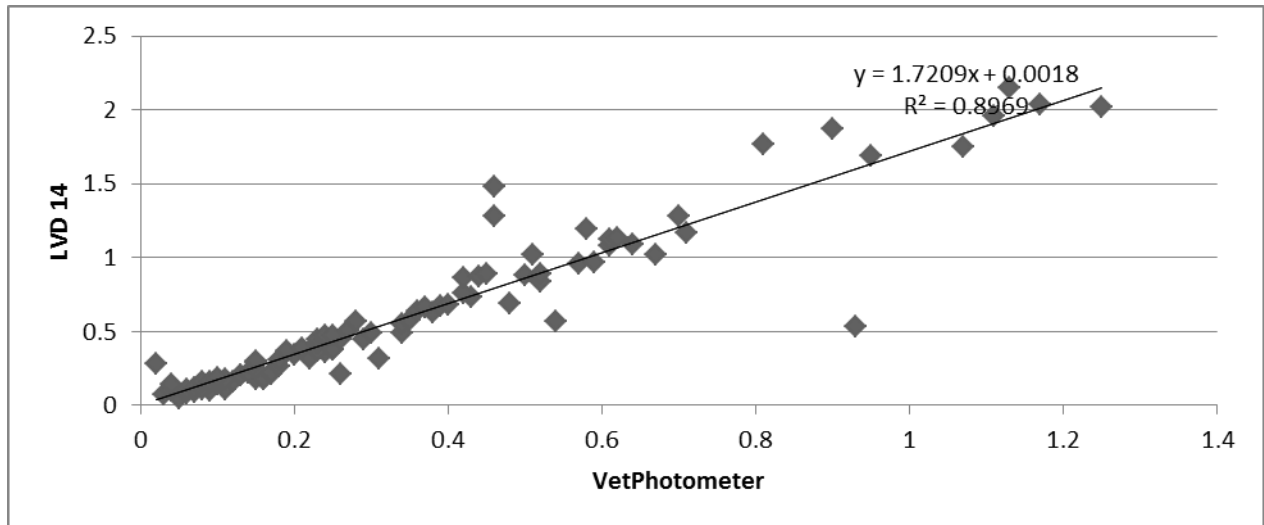


FIGURE 23 : Corrélation entre les résultats obtenus avec le VetPhotometer et avec le laboratoire LABEO
Les chiffres indiqués sur les axes correspondent aux concentrations en AGNE (mmol/L)

Pour retrouver la concentration sérique réelle en AGNE à partir du VetPhotometer® il faut compléter l'équation suivante :

$$[\text{AGNE}]_{\text{LABEO}} = 1,7209 \times [\text{AGNE}]_{\text{VetPhotometer}} + 0,0018$$

iii. Détermination des seuils utilisés

Considérant que les seuils proposés par la littérature ont été établis au laboratoire, nous avons calculé leur équivalent au VetPhotometer. L'équivalence des concentrations seuils que nous utiliserons, conformément à celles que nous trouvons dans la littérature, sont établis dans le TABLEAU 6.

TABLEAU 6 : Détermination des seuils utilisés

Seuil avec la méthode de référence	Seuil avec le VetPhotometer
0,3 mmol/L	0,17 mmol/L
0,4 mmol/L	0,23 mmol/L
0,6 mmol/L	0,34 mmol/L
0,7 mmol/L	0,41 mmol/L

b. Description de l'inflammation génitale

i. Formes cliniques

Nous avons noté les sécrétions vaginales de 117 vaches. Les formes cliniques d'inflammation génitale sont définies par la présence de sécrétions muco-purulentes à purulentes (Deguillaume 2010), c'est-à-dire lorsque la note des sécrétions vaginales est supérieur ou égale à 3. Ainsi, 39% (46/117) des vaches présentent une forme clinique d'inflammation génitale (FIGURE 24).

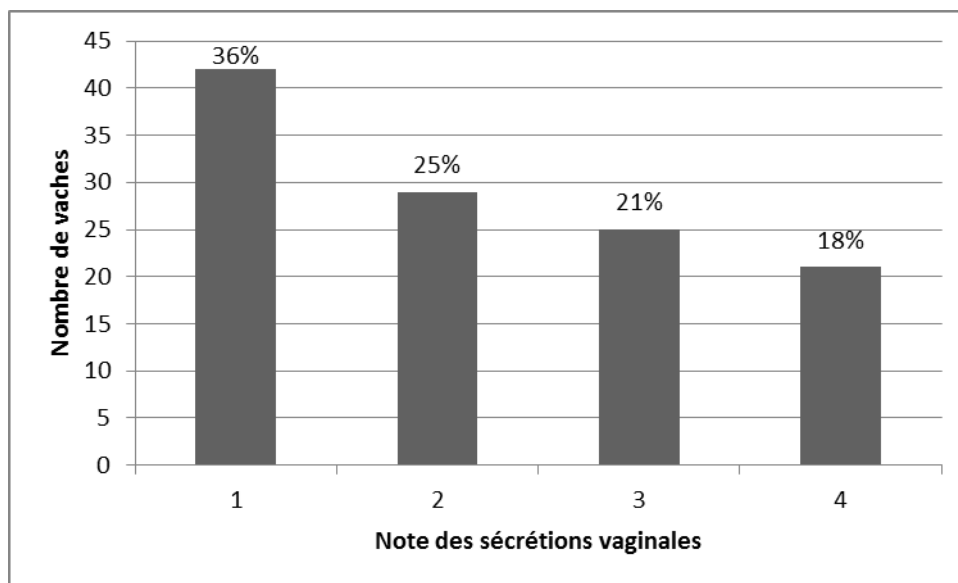


FIGURE 24 : Distribution de la note des sécrétions vaginales entre 21 et 35 jours après vêlage (n=117)

ii. Inflammation cervicale

Nous avons réalisé 118 frottis cervicaux. Le taux de neutrophiles varie de 0 à 77,25% (FIGURE 25). Si l'on prend la définition utilisée par Deguillaume et al. (2012), qui définissent une inflammation cervicale par un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 5% sur le frottis

cervical, alors 23% (27/118) des vaches sont atteintes de cervicite. Parmi les 77% (91/118) des vaches qui n'ont pas de cervicite, 69% (63/91) ont un taux de neutrophiles inférieur à 1%.

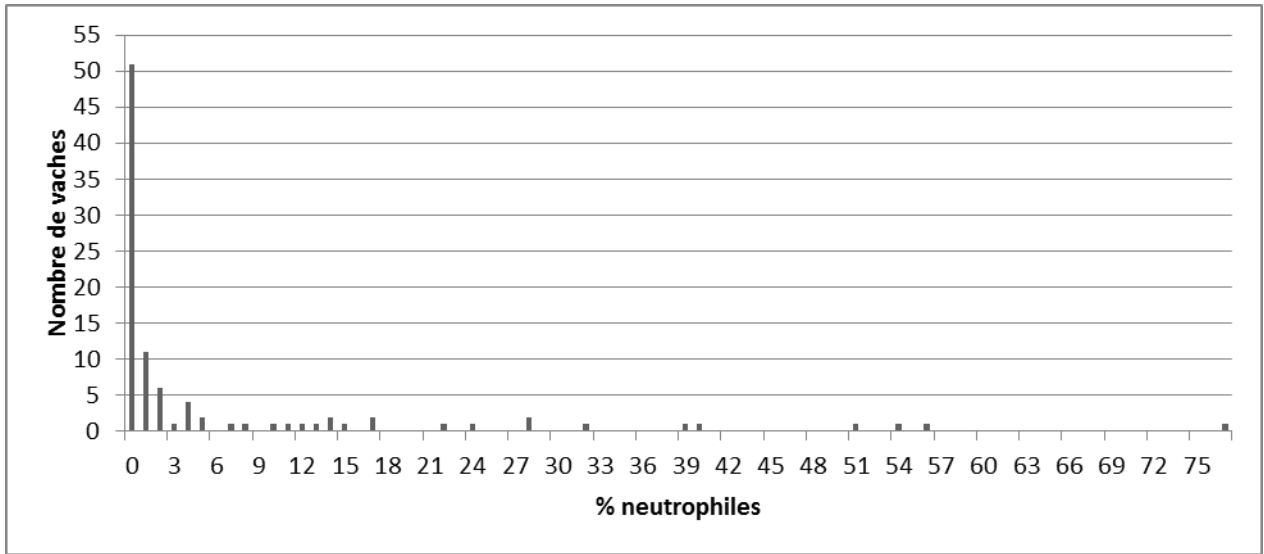


FIGURE 25 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles cervicaux (n=118)

La médiane du taux de neutrophiles cervical est de 0,5% [0 ; 4,5] et la moyenne de 6% ± 13%.

Parmi les primipares, 22% (8/37) sont atteintes de cervicite et parmi les multipares, 23% (18/78) (FIGURE 26). Parmi les 3 vaches dont le rang de lactation est inconnu, une est atteinte de cervicite.

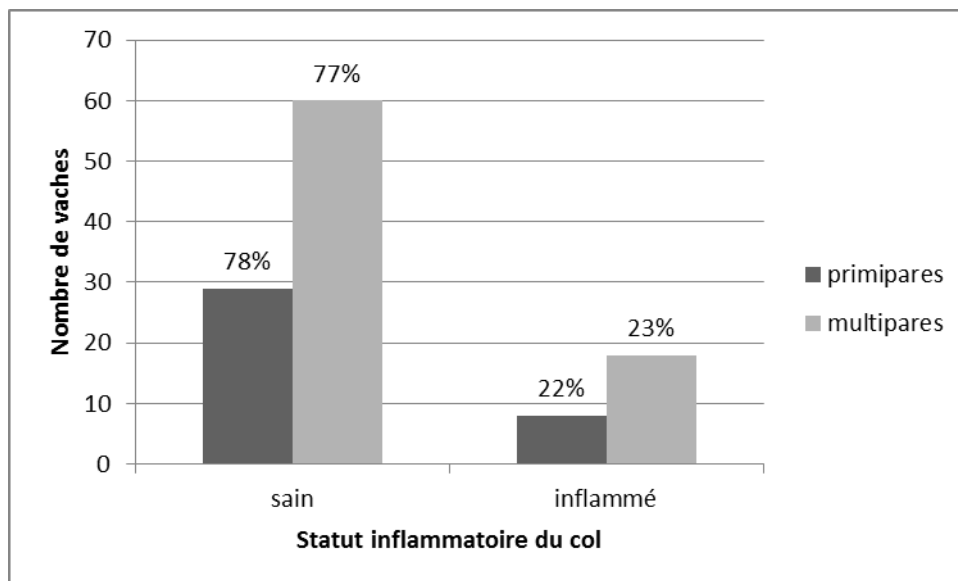


FIGURE 26 : Distribution des vaches avec cervicite et sans cervicite selon la parité (n=115)

iii. Inflammation utérine

Nous avons réalisé 115 frottis utérins. Le taux de neutrophiles varie de 0 à 90% (FIGURE 27). Si l'on prend la définition utilisée par Deguillaume et al. (2010) qui est qu'une inflammation utérine est définie par un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 6 % sur le frottis utérin, 47% (54/115) des vaches sont atteintes d'endométrite. Parmi les 53% (61/115) des vaches qui n'ont pas d'endométrite, 44% (27/61) ont un taux de neutrophiles inférieur à 1%.

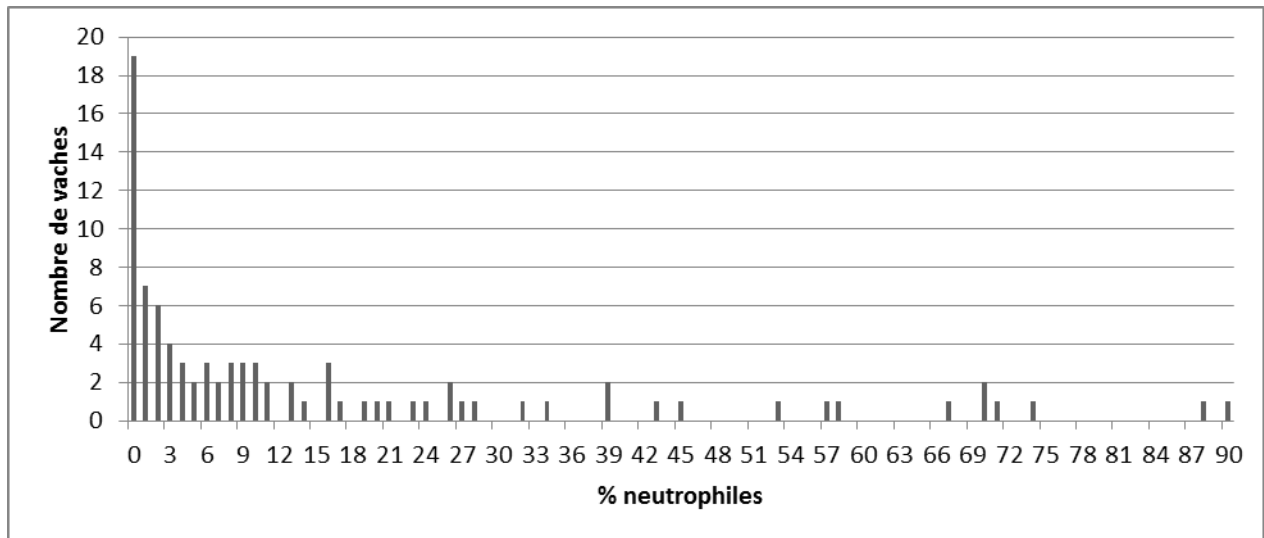


FIGURE 27 : Distribution des vaches selon le taux de neutrophiles utérins (n=115)

La médiane du taux de neutrophiles utérin est de 4% [1 ; 16] et la moyenne de 13,5% \pm 20,5%.

Parmi les primipares, 44% (15/34) sont atteintes d'endométrite et parmi les multipares, 49% (38/78) (FIGURE 28). Parmi les 3 vaches dont le rang de lactation est inconnu, une est atteinte d'endométrite.

Parmi les vaches qui ont une endométrite, 59% (32/54) ont une forme clinique.

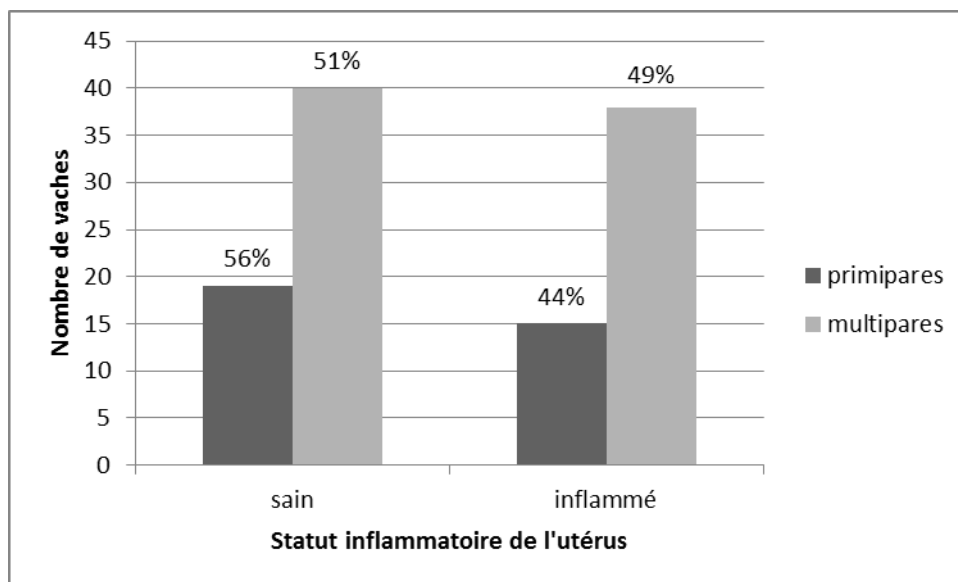


FIGURE 28 : Distribution des vaches avec endométrite et sans endométrite selon la parité (n=112)

iv. Inflammation génitale

115 vaches ont été prélevées à la fois dans l'utérus et dans le col. Si l'on considère qu'une vache a une inflammation génitale si au moins un des deux compartiments génitaux est inflammé (endométrite et/ou cervicite), alors 53% (61/115) des vaches ont une inflammation génitale. Parmi les vaches qui ont une inflammation génitale, 11% (7/61) ont une cervicite sans avoir d'endométrite. Le statut inflammatoire de chaque compartiment est résumé dans le TABLEAU 7.

TABLEAU 7 : Association entre état inflammatoire de l'utérus et du col (n=115)

		Statut utérus		Total
		Inflammé	Sain	
Statut col	Inflammé	20 (17,4%)	7 (6,1%)	27 (23,5%)
	Sain	34 (29,6%)	54 (47%)	88 (76,6%)
Total		54 (47%)	61 (53%)	115 (100%)

Parmi les primipares, 44% (15/34) ont une inflammation génitale, 53% (41/78) parmi les multipares.

c. Description de l'état énergétique des vaches

i. Note d'état corporel

- *Entre 14 et 3 jours avant le vêlage*

Nous avons évalué l'état corporel de 116 vaches entre 14 et 3 jours avant le vêlage. D'après la classification utilisée par Dubuc et al. (2010), 6% des vaches (7/116) ont une $NEC \leq 2,75$; 62% (72/116) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 et 32% (37/116) ont une $NEC \geq 3,75$ (FIGURE 29).

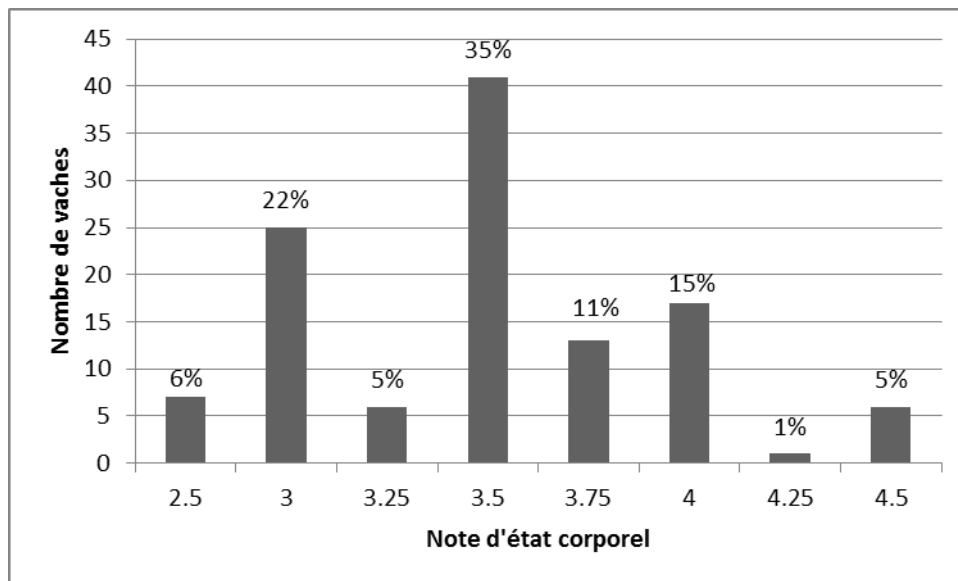


FIGURE 29 : Distribution de la note d'état corporel entre 14 et 3 jours avant vêlage (n=116)

La médiane des notes d'état corporel avant vêlage est de 3,5 [3 ; 3,75] et la moyenne également de $3,5 \pm 0,5$.

La distribution des notes d'état corporel avant le vêlage ne suit pas une loi normale ($p=0,94$).

Parmi les primipares, 3% (1/35) ont une $NEC \leq 2,75$; 54% (19/35) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 et 43% (15/35) ont une $NEC \geq 3,75$.

Parmi les multipares, 7% (5/78) ont une $NEC \leq 2,75$; 65% (51/78) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 et 28% (22/78) ont une $NEC \geq 3,75$.

- *Entre 3 et 14 jours après le vêlage*

Nous avons évalué l'état corporel de 118 vaches entre 3 et 14 jours après le vêlage. 61% (72/118) des vaches ont une $NEC \leq 2,75$; 35% (41/118) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 et 4% ont (5/118) une $NEC \geq 3,75$ (FIGURE 30).

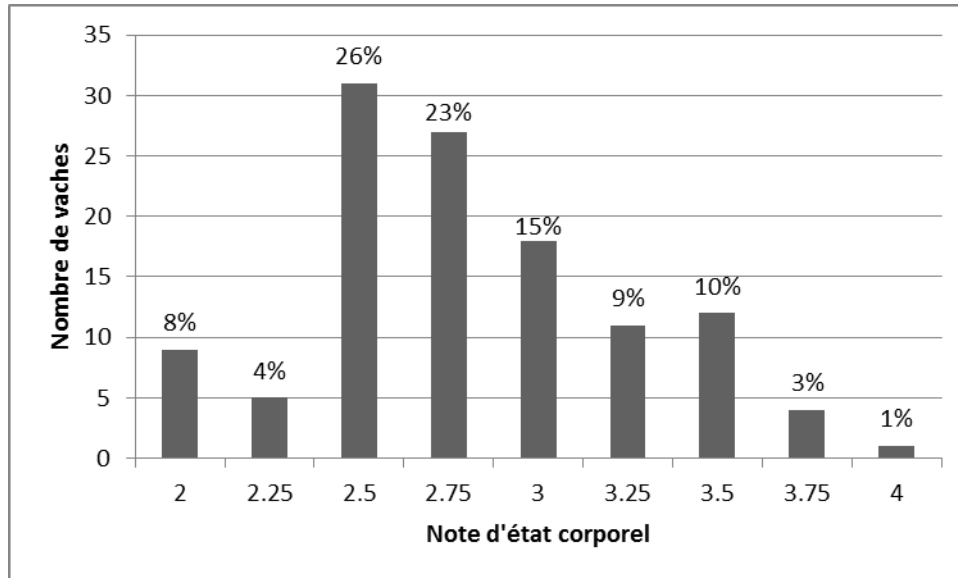


FIGURE 30 : Distribution de la note d'état corporel entre 3 et 14 jours après vêlage (n=118)

La médiane des notes d'état corporel après vêlage est de 2,75 [2,5 ; 3] et la moyenne de 2,81 \pm 0,45.

La distribution des notes d'état corporel après le vêlage ne suit pas une loi normale ($p=0,95$).

Parmi les primipares, 50% (18/36) ont une $NEC \leq 2,75$; 44% (16/36) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 et 6% (2/36) ont une $NEC \geq 3,75$.

Parmi les multipares 64% (51/79) ont une $NEC \leq 2,75$; 32% (25/79) ont NEC comprise entre 3 et 3,5 et 4% (3/79) ont une $NEC \geq 3,75$.

- *Entre 21 et 35 jours après le vêlage*

Nous avons évalué l'état corporel de 116 vaches entre 21 et 35 jours après le vêlage. 84% (98/116) des vaches ont une $NEC \leq 2,75$ et 16% (18/116) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5 (FIGURE 31).

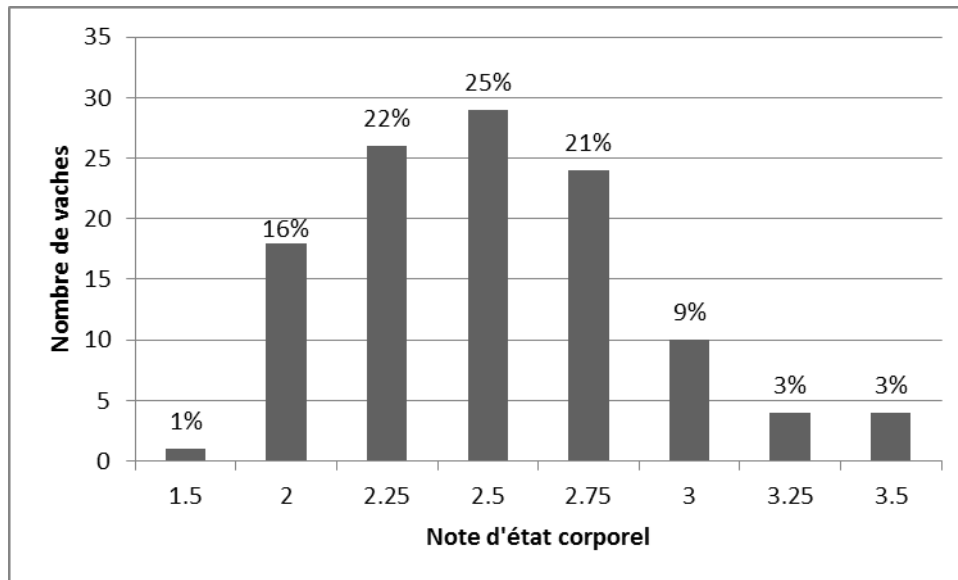


FIGURE 31 : Distribution de la note d'état corporel entre 21 et 35 jours après vêlage (n=116)

La médiane des notes d'état corporel entre 21 et 35 jours post-partum est de 2,5 [2,25 ; 2,75] et la moyenne également de $2,5 \pm 0,4$.

La distribution des notes d'état corporel entre 21 et 35 jours post-partum ne suit pas une loi normale ($p=0,94$).

Parmi les primipares, 86% (30/35) ont une NEC $\leq 2,75$ et 14% (5/35) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5.

Parmi les multipares, 85% (66/78) ont une NEC $\leq 2,75$ et 15% (12/78) ont une NEC comprise entre 3 et 3,5.

ii. Variation de la note d'état corporel

- *Effet temps*

Dans un premier temps, nous avons regardé si le paramètre « note d'état corporel » pour lequel nous répétions la mesure 3 fois, variait significativement au cours du temps.

La note d'état corporel évolue significativement au cours du temps (test de Friedman : $p < 0,001$), dans le sens d'une diminution (FIGURE 32).

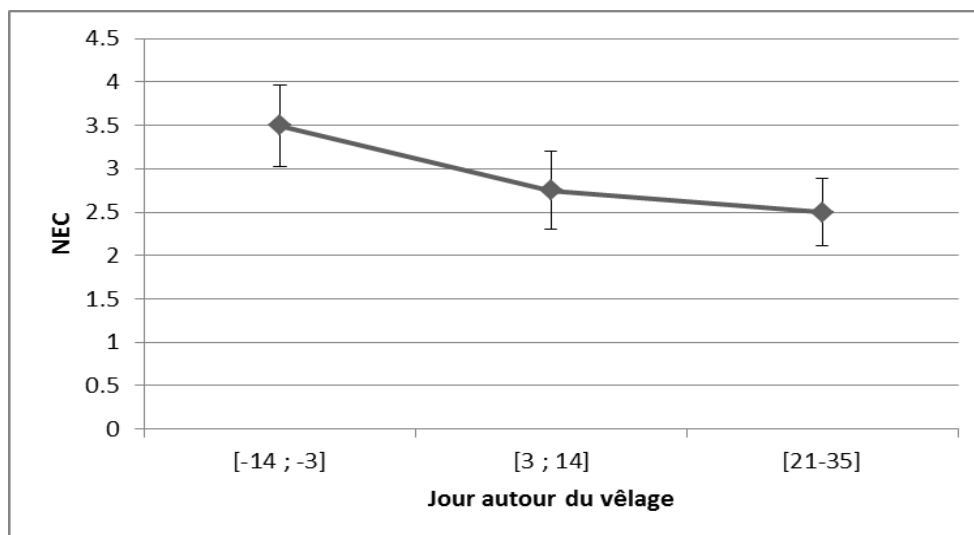


FIGURE 32 : Evolution de la note d'état corporel autour du vêlage (n=116)

- *Avant et après le vêlage*

L'état corporel avant [-14 ; -3] et après [3 ; 14] vêlage a été évalué sur 116 vaches. L'écart entre les deux notes d'état corporel varie de 0 à 1,75. En se référant à la classification utilisée par Lopez et al. (2002), 51% (59/116) des vaches ont une perte légère de NEC (comprise entre 0 et 0,5 point), 38% (44/116) ont une perte modérée de NEC (comprise entre 0,5 et 1 point) et 11% (16/116) ont une perte sévère de NEC (supérieur à 1 point) (FIGURE 33).

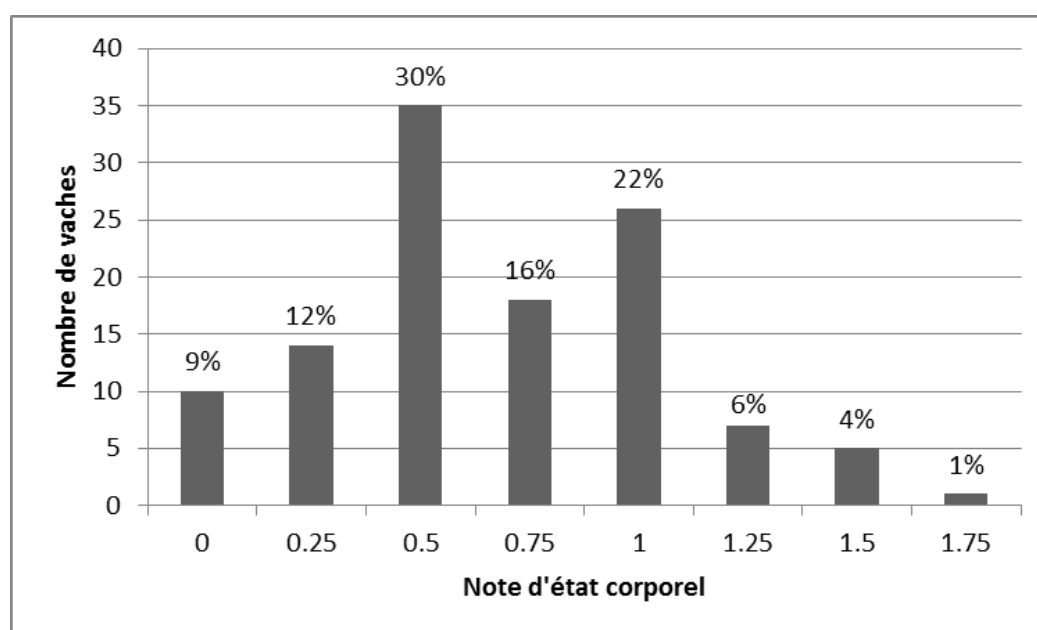


FIGURE 33 : Distribution de la variation de note d'état corporel (n=116)

La médiane est de 0,5 [0,5 ; 1] et la moyenne de $0,68 \pm 0,4$.

Parmi les primipares, 43% (15/35) ont une perte légère de NEC, 51% (18/35) ont une perte modérée de NEC et 6% (2/35) ont une perte sévère.

Parmi les multipares, 53% (41/78) ont une perte légère de NEC, 33% (26/78) ont une perte modérée de NEC et 14% (11/78) ont une perte sévère.

iii. Les AGNE

- *Entre 14 et 3 jours avant le vêlage*

Nous avons dosé avec le VetPhotometer® la concentration en AGNE de 93 vaches entre 14 et 3 jours avant le vêlage. La concentration en AGNE varie de 0,03 à 0,61 mmol/L. En se référant à la définition d'Oetzel (2004), 27% (25/93) des vaches ont une concentration en AGNE élevée ($\geq 0,4$ mmol/L avec la méthode de référence, soit $\geq 0,23$ mmol/L avec le VetPhotometer). En outre, 40% (37/93) des vaches ont une concentration en AGNE $\geq 0,17$ mmol/L (soit 0,3 mmol/L avec la méthode de référence), seuil retenu par Chapinal et al. (2011), Ospina et al. (2013) et Kaufmann et al. (2010) comme étant celui au-dessus duquel des effets négatifs sur la santé génitale sont observés (FIGURE 34).

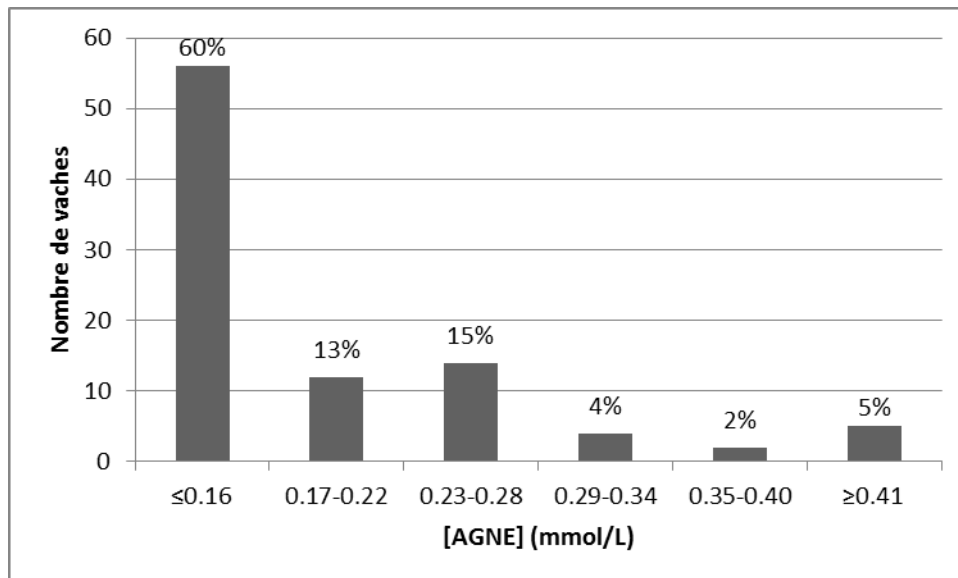


FIGURE 34 : Distribution de la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant le vêlage (n=93)

La médiane de la concentration en AGNE est de 0,13 mmol/L [0,08 ; 0,23] et la moyenne de $0,17 \pm 0,11$ mmol/L.

La concentration en AGNE avant le vêlage ne suit pas une loi normale ($p=0,85$).

Parmi les primipares, 39% (9/23) ont une concentration en AGNE $\geq 0,17$ mmol/L et 30% (7/23) ont une concentration en AGNE $\geq 0,23$ mmol/L et parmi les multipares 40% (27/67) et 27% (18/67) respectivement.

- *Entre 3 et 14 jours après vêlage*

Chez 93 vaches entre 3 et 14 jours après le vêlage, la concentration en AGNE varie de 0,02 à 1,25 mmol/L. D'après Ospina et al. (2013), 39% (36/93) ont une concentration en AGNE élevée ($\geq 0,41$ mmol/L avec le VetPhotometer) après le vêlage. En outre, 50% (46/93) des vaches ont une concentration en AGNE $\geq 0,35$ mmol/L (soit 0,6 mmol/L avec la méthode de référence), seuil retenu par Ospina et al. (2013) comme étant celui au-dessus duquel des effets négatifs sur la santé génitale sont observés (FIGURE 35).

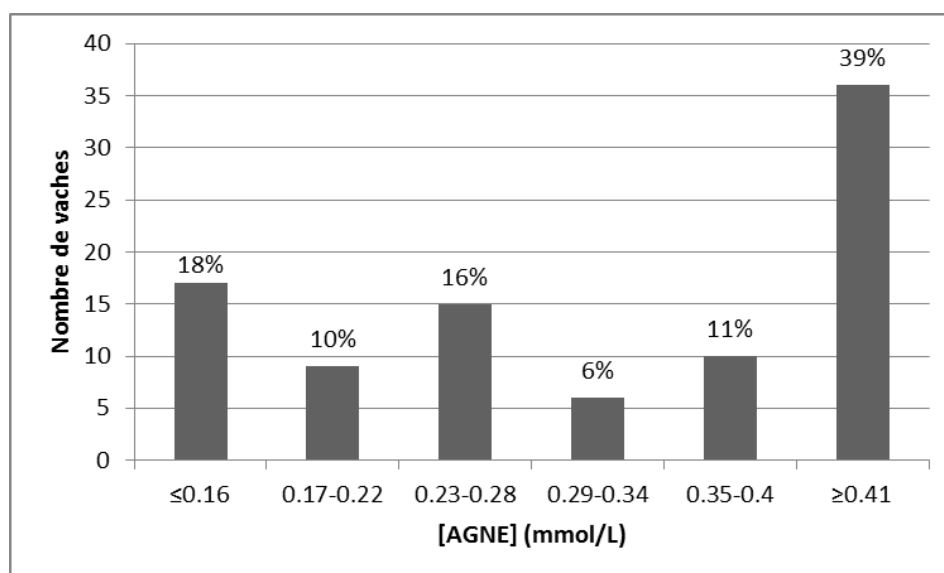


FIGURE 35 : Distribution de la concentration sérique en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=93)

La médiane des concentrations en AGNE est de 0,34 [0,21 ; 0,52] et la moyenne de $0,39 \pm 0,27$ mmol/L.

La concentration en AGNE après le vêlage ne suit pas une loi normale ($p=0,89$).

Parmi les primipares, 48% (11/23) ont une concentration en AGNE $\geq 0,41$ mmol/L et 70% (16/23) ont une concentration en AGNE $\geq 0,35$ mmol/L et parmi les multipares 39% (26/67) et 46% (31/67) respectivement.

- *Variation de la concentration en AGNE*

Dans un premier temps, nous avons regardé si la concentration sérique en AGNE variait significativement au cours du temps.

La concentration sérique en AGNE évolue significativement au cours du temps (test de Friedman : $p < 0,001$), dans le sens d'une augmentation (FIGURE 36).

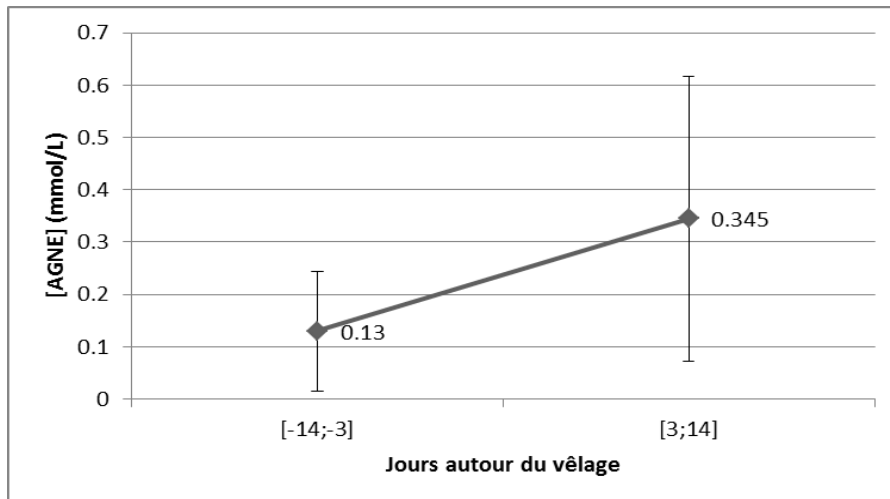


FIGURE 36 : Evolution de la concentration sérique en AGNE autour du vêlage (n=91)

Les concentrations en AGNE avant et après le vêlage ont été dosées sur 91 vaches. La différence entre le 1^{er} et le 2^{ème} dosage varie de -0,45 à 1,11 mmol/L (FIGURE 37).

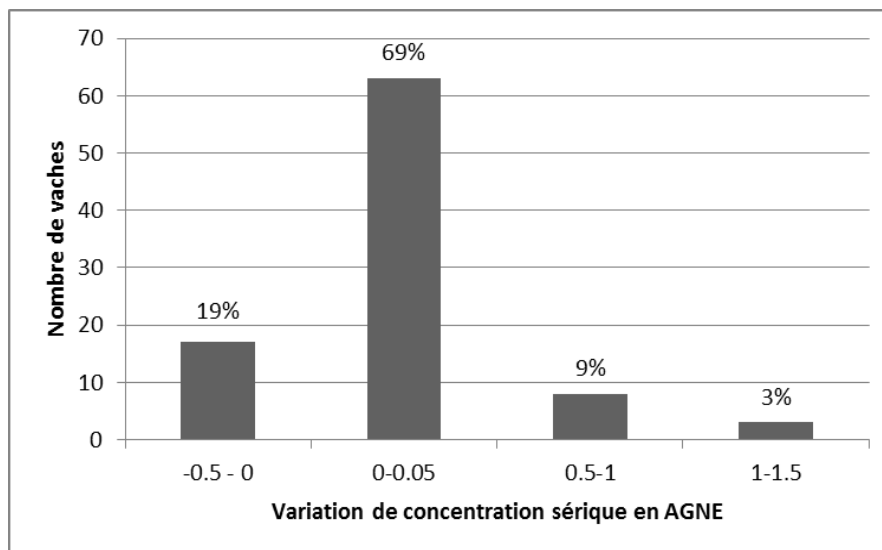


FIGURE 37 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE (n=91)

La médiane de la variation de la concentration sérique en AGNE entre 2 dosages est de 0,16 mmol/L [0,05 ; 0,37] et la moyenne de $0,22 \pm 0,28$ mmol/L.

iv. Les BHB

Nous avons dosé les BHB de 118 vaches. Les concentrations varient de 0,3 à 5,4 mmol/L (FIGURE 38). En se référant au seuil utilisé par Voyvoda et Erdogan (2010), 34% (40/118) des vaches sont en cétose ($\geq 1,4$ mmol/L). De plus, 51% (60/118) des vaches ont un seuil en BHB $\geq 1,1$ mmol/L, qui correspond au seuil au-dessus duquel des répercussions sur la santé génitale sont observées (Dubuc et al. 2010b).

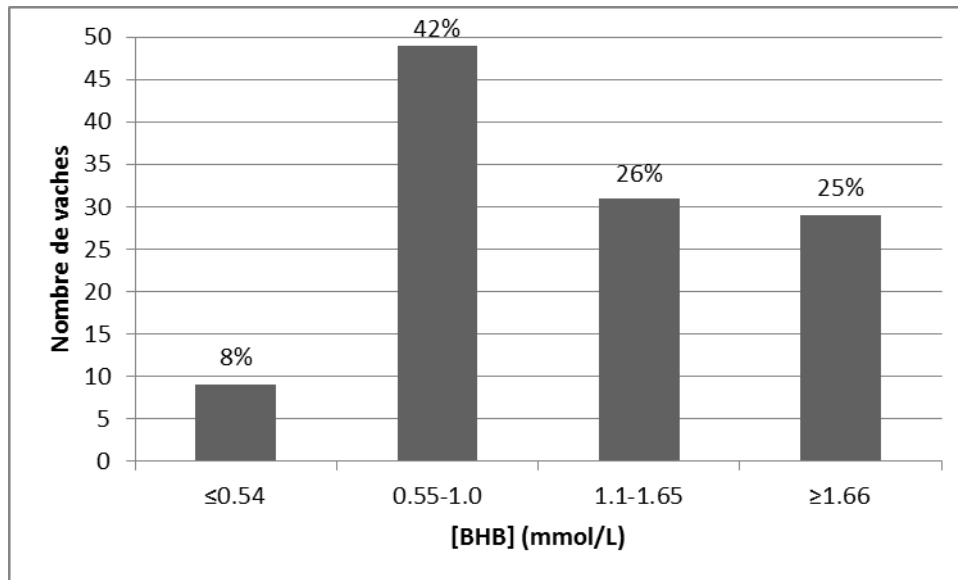


FIGURE 38 : Distribution de la concentration sanguine en BHB 3 à 14 jours après vêlage (n=118)

La médiane de la concentration en corps cétoniques est de 1,1 mmol/L [0,8 ; 1,6] et la moyenne de $1,37 \pm 0,96$ mmol/L.

Parmi les primipares, 44% (16/36) ont une concentration en BHB $\geq 1,4$ mmol/L et 58% (21/36) ont une concentration en corps cétoniques $\geq 1,1$ mmol/L et parmi les multipares 30% (24/79) et 49% (39/79) respectivement.

d. Relation avec le taux de neutrophiles génitaux

i. Corrélation entre les différents paramètres et le taux de neutrophiles cervicaux

Il n'y a pas de corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et :

- la note d'état corporel avant vêlage ($r=0,01$; $p=0,26$) ;
- la note d'état corporel après vêlage ($r=0,02$; $p=0,15$) ;
- la variation de note d'état corporel ($r=0,00$; $p=0,98$) ;
- la concentration sérique en AGNE avant vêlage ($r=0,005$; $p=0,52$) ;
- la concentration sérique en AGNE après vêlage ($r=0,00$; $p=0,83$) ;
- la variation de concentration sérique en AGNE ($r=0,00$; $p=0,78$) ;
- la concentration sanguine en BHB ($r=0,02$; $p=0,11$) (FIGURE 39, FIGURE 40 et FIGURE 41).

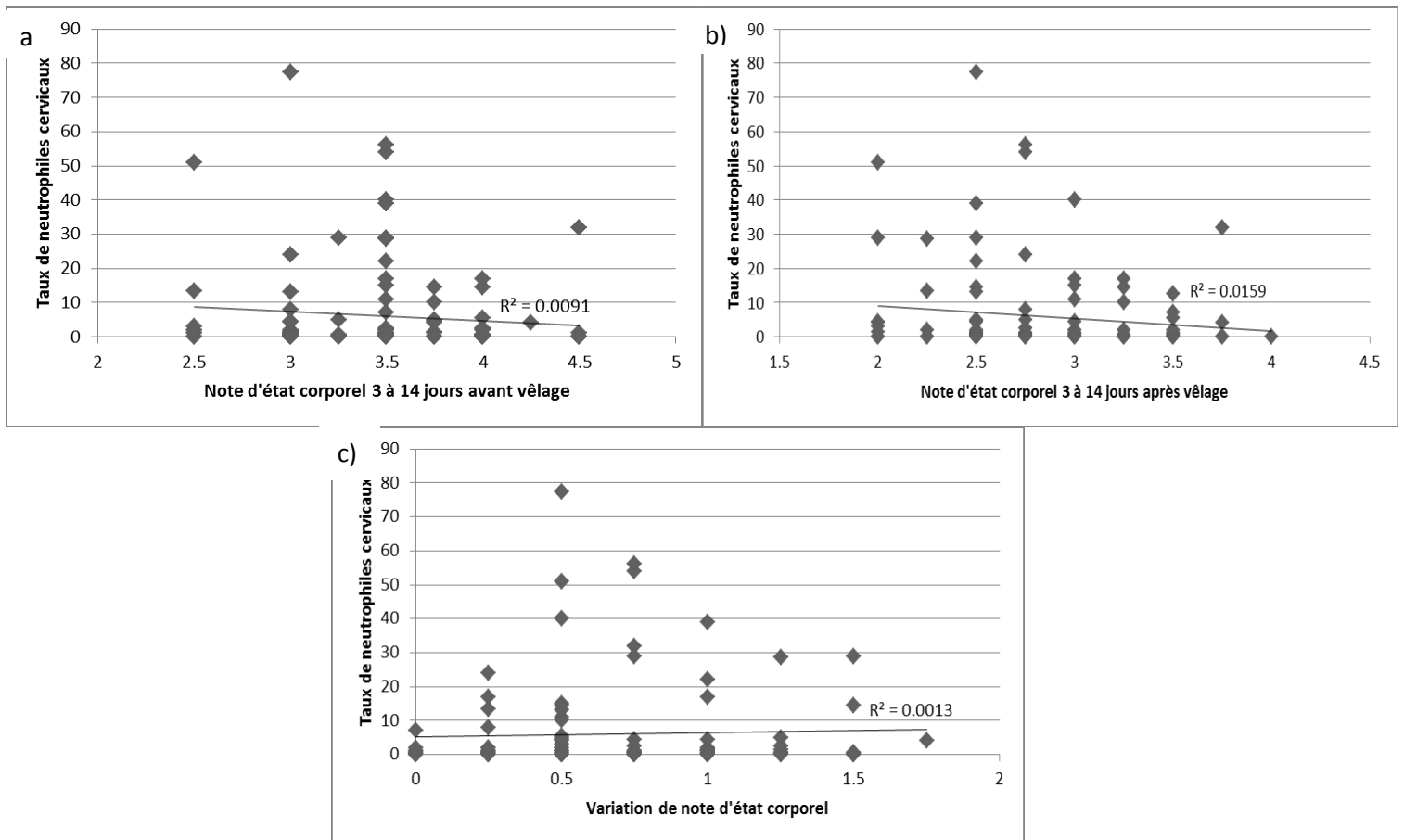


FIGURE 39 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et a) la note d'état corporel 14 à 3 jours avant vêlage (n=116) ; b) la note d'état corporel 3 à 14 jours après vêlage (n=118) ; c) la variation de note d'état corporel avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=116)

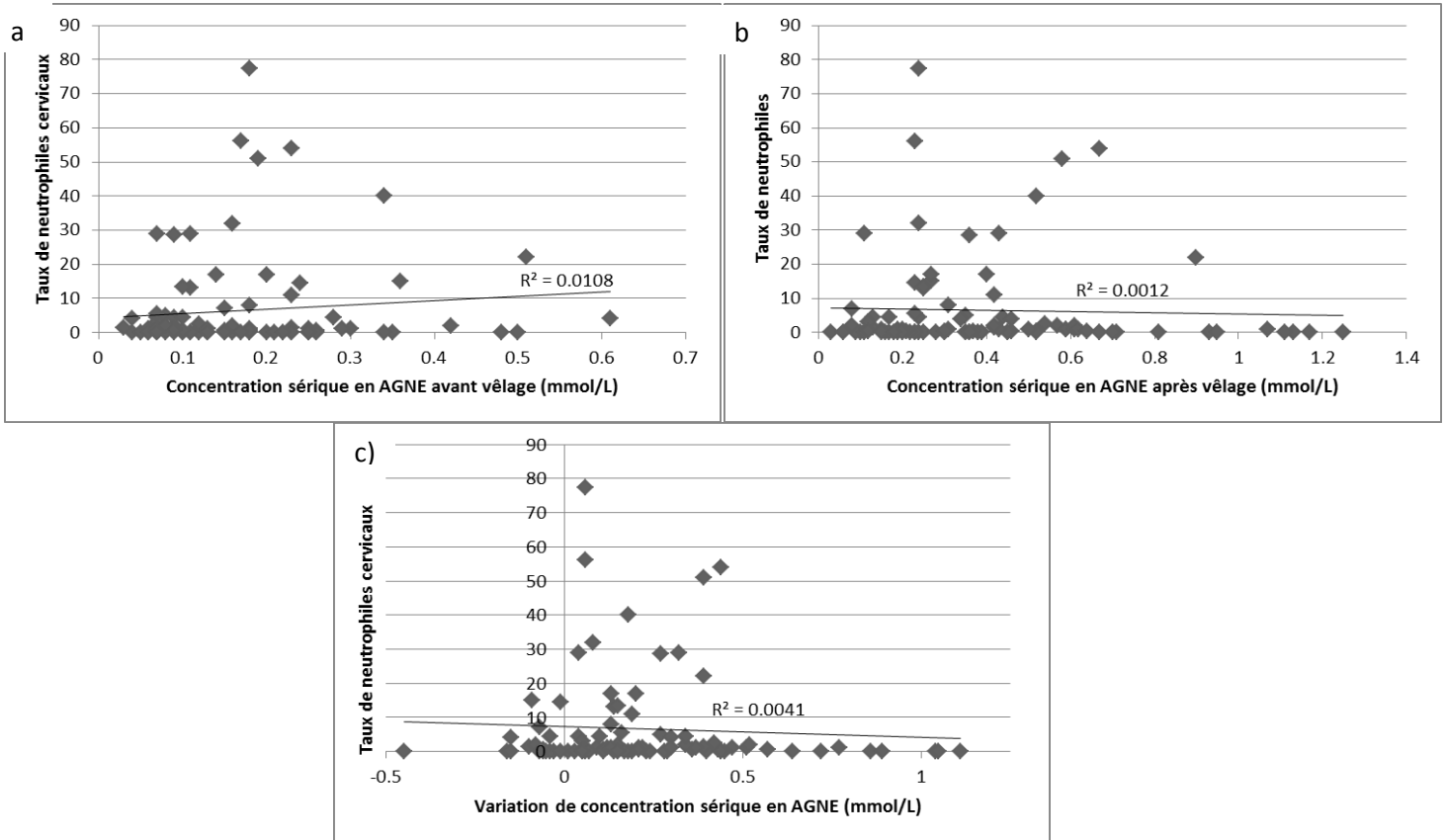


FIGURE 40 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et a) la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant vêlage (n=93) ; b) la concentration sérique en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=92) ; c) la variation de concentration en AGNE avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=91)

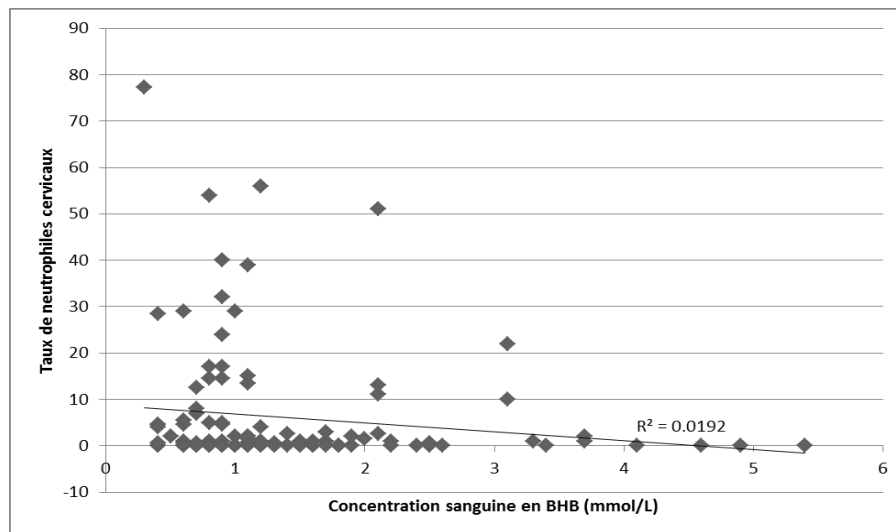


FIGURE 41 : Corrélation entre le taux de neutrophiles cervicaux et la concentration sanguine en BHB après vêlage (n=118)

ii. Corrélation entre les différents paramètres et le taux de neutrophiles utérins

Il n'y a pas de corrélation (test du coefficient de Spearman) entre le taux de neutrophiles utérins et :

- la note d'état corporel avant vêlage ($r=0,0001$; $p=0,9313$) ;
- la note d'état corporel après vêlage ($r=0,0111$; $p=0,2614$) ;
- la variation de note d'état corporel ($r=0,0006$; $p=0,7936$) ;
- la concentration sérique en AGNE avant vêlage ($r=0,0047$; $p=0,5146$) ;
- la concentration sérique en AGNE après vêlage ($r=0,0097$; $p=0,3539$) ;
- la variation de concentration en AGNE ($r=0,0081$; $p=0,3984$) ;
- la concentration sanguine en BHB ($r=0,0024$; $p=0,6055$) (FIGURE 42, FIGURE 43 et FIGURE 44).

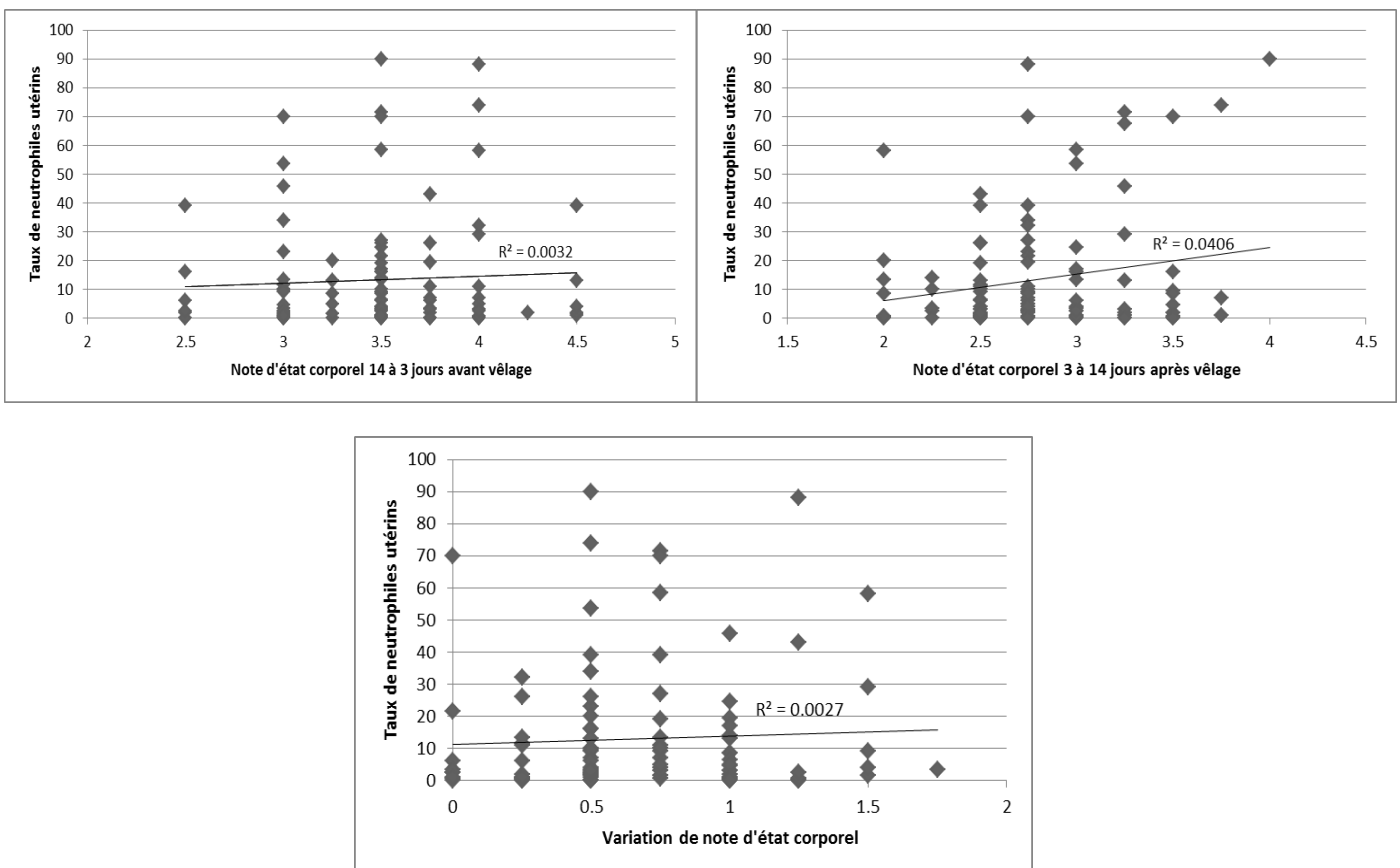


FIGURE 42 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et a) la note d'état corporel 14 à 3 jours avant vêlage (n=113) ; b) la note d'état corporel 3 à 14 jours après vêlage (n=115) ; c) la variation de note d'état corporel avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=113)

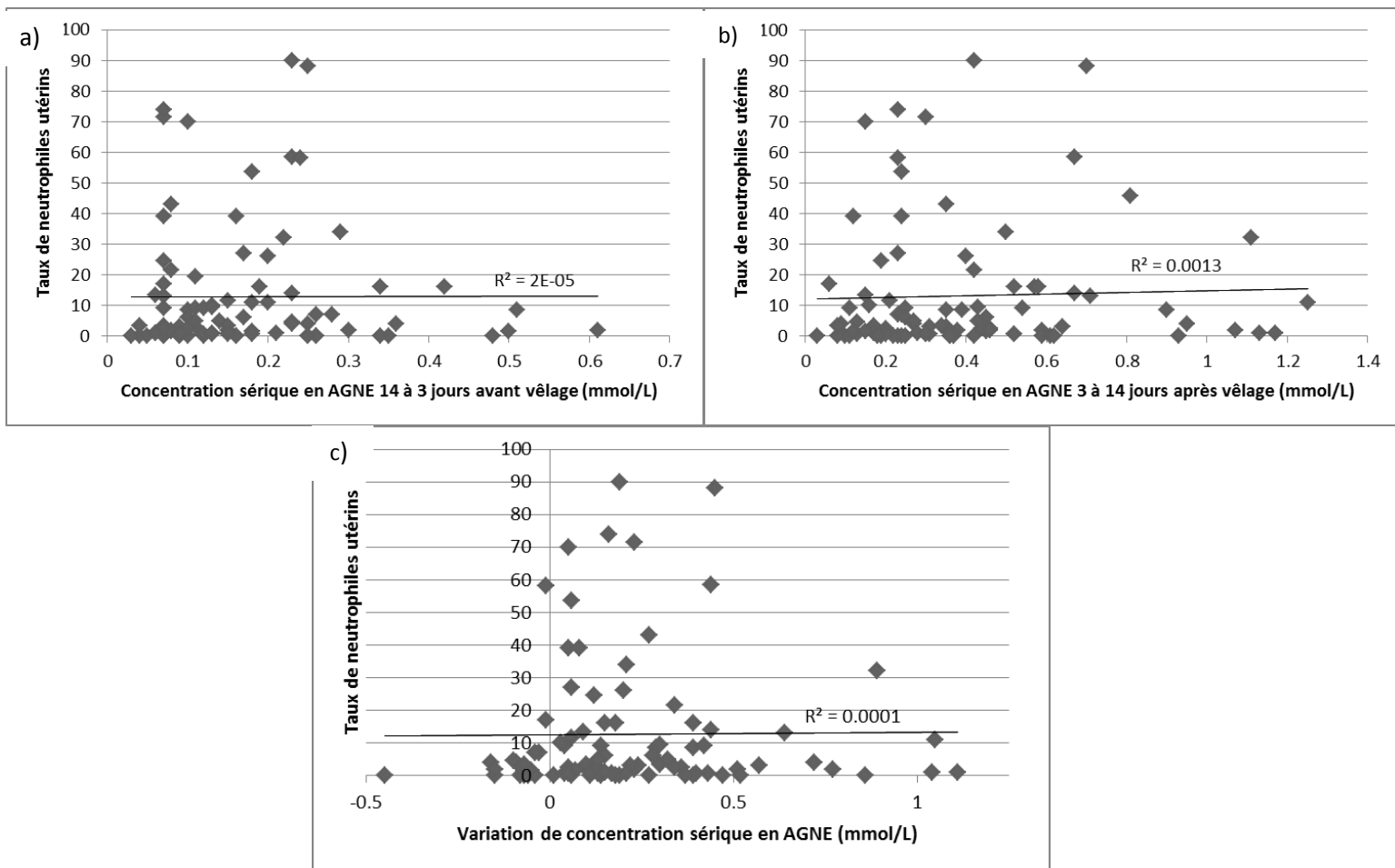


FIGURE 43 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et a) la concentration sérique en AGNE 14 à 3 jours avant vêlage (n=92) ; b) la concentration en AGNE 3 à 14 jours après vêlage (n=91) ; c) la variation de concentration sérique en AGNE avant [-14 ; -3] / après [3 ; 14] vêlage (n=90)

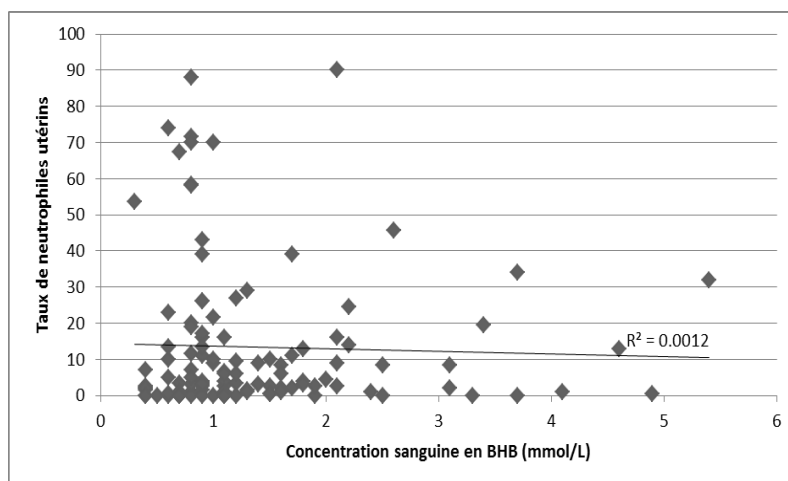


FIGURE 44 : Corrélation entre le taux de neutrophiles utérins et la concentration sanguine en BHB après vêlage (n=115)

Conclusion : il n'y a pas de corrélation entre les différents paramètres étudiés et le taux de neutrophiles cervicaux et utérins.

e. Impact sur la présence d'inflammation

Un frottis cervical est positif si le taux de neutrophiles est supérieur ou égal à 6%. De même, un frottis utérin est positif si le taux de neutrophiles est supérieur ou égal à 5%.

i. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la fréquence de la cervicite

- *Impact de la note d'état corporel avant vêlage*

La note d'état corporel avant vêlage varie de 2,5 à 4,5 pour les vaches par la suite atteintes de cervicite et également pour les vaches sans cervicite (FIGURE 45). La note d'état corporel moyenne avant vêlage chez les vaches avec cervicite est de 3,45 ; celle chez les vaches sans cervicite de 3,49. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,79$).

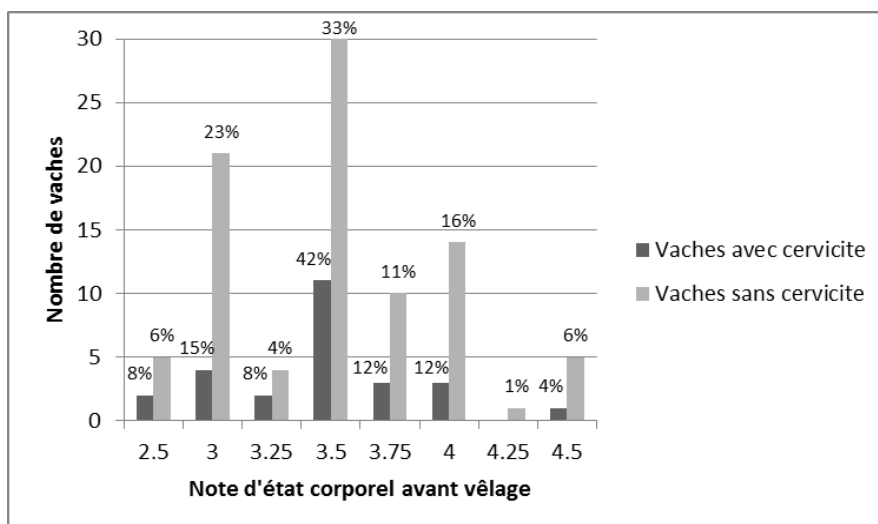


FIGURE 45 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=26) ou non (n=90) d'une cervicite

De plus, il n'y a pas d'effet de la note d'état corporel avant vêlage sur la fréquence de cervicite 21 à 35 jours post-partum (test de régression logistique binaire : $p=0,74$).

- *Impact de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage*

La variation de note d'état corporel avant/après vêlage varie de 0 à 1,5 chez les vaches par la suite atteintes de cervicite, et de 0 à 1,75 chez les vaches sans cervicite (FIGURE 46). La variation moyenne de note d'état corporel avant/après vêlage chez les vaches avec endométrite est de 0,67 ; celle chez les vaches sans endométrite de 0,68. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,79$).

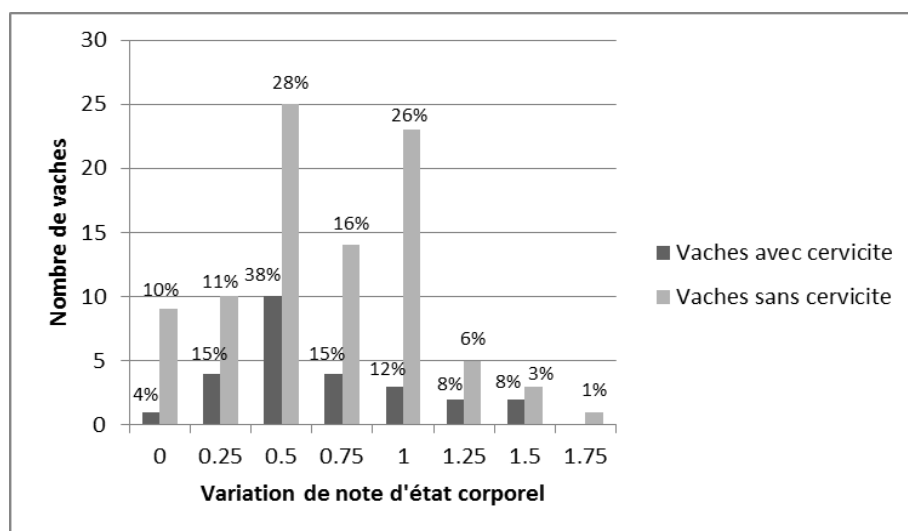


FIGURE 46 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=26) ou non (n=90) de cervicite

De plus, il n'y a pas d'effet de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage sur la fréquence d'une cervicite (test de régression logistique binaire : $p=0,96$).

- *Impact de la concentration sérique en AGNE avant vêlage*

La concentration sérique en AGNE avant vêlage pour les vaches par la suite atteintes d'endométrite varie de 0,07 à 0,51 mmol/L, tandis qu'elle varie de 0,03 à 0,61 mmol/L pour les vaches par la suite sans cervicite (FIGURE 47). La concentration sérique moyenne en AGNE avant le vêlage chez les vaches avec cervicite est de 0,19 mmol/L ; celle chez les vaches sans cervicite de 0,16 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,16$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE avant vêlage sur la fréquence d'une cervicite (test de régression logistique binaire : $p=0,39$).

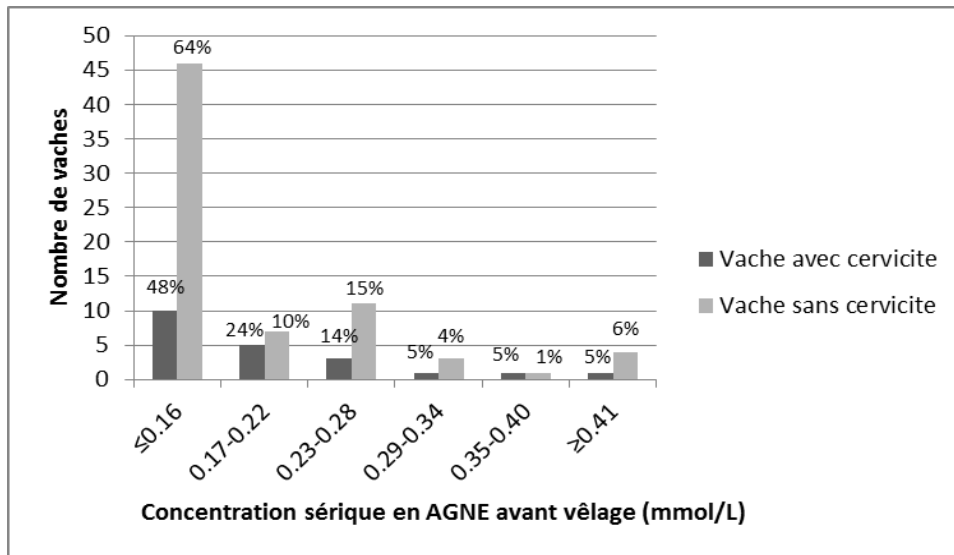


FIGURE 47 : Distribution de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=72) d'une cervicite

- *Impact de la concentration sérique en AGNE après le vêlage*

La concentration sérique en AGNE après vêlage des vaches par la suite atteintes de cervicite varie de 0,08 à 0,9 mmol/L, tandis qu'elle varie de 0,03 à 1,25 mmol/L pour les vaches sans cervicite (FIGURE 48). La concentration sérique moyenne en AGNE après le vêlage chez les vaches avec cervicite est de 0,41 mmol/L ; celle chez les vaches sans cervicite de 0,35 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : p=0,70).

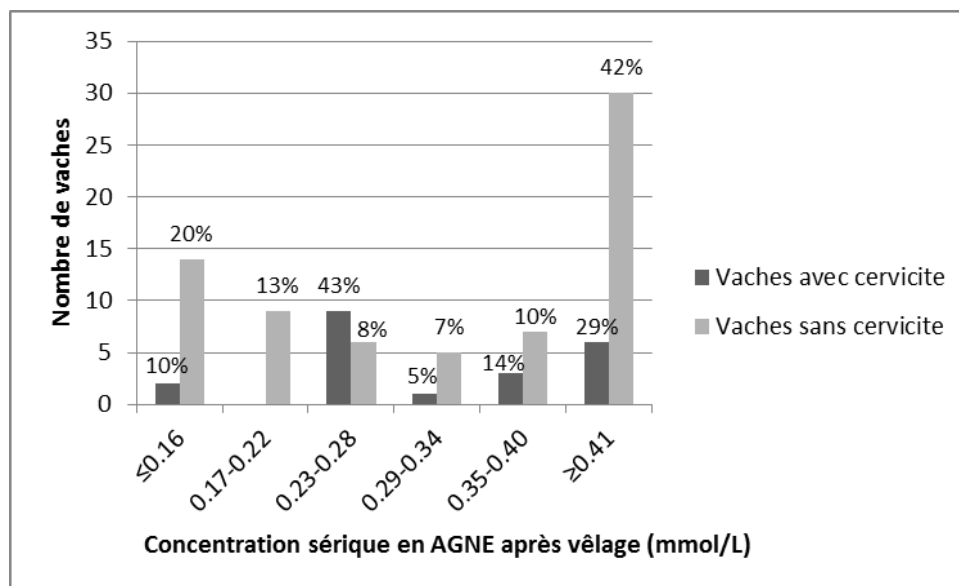


FIGURE 48 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=71) d'une cervicite

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE après le vêlage sur la fréquence d'une cervicite ($p=0,36$).

- *Impact de la variation de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage*

La variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage chez les vaches par la suite atteintes de cervicite varie de -0,09 à 0,44 mmol/L, tandis qu'elle varie de -0,45 à 1,11 mmol/L chez les vaches sans cervicite (FIGURE 49).

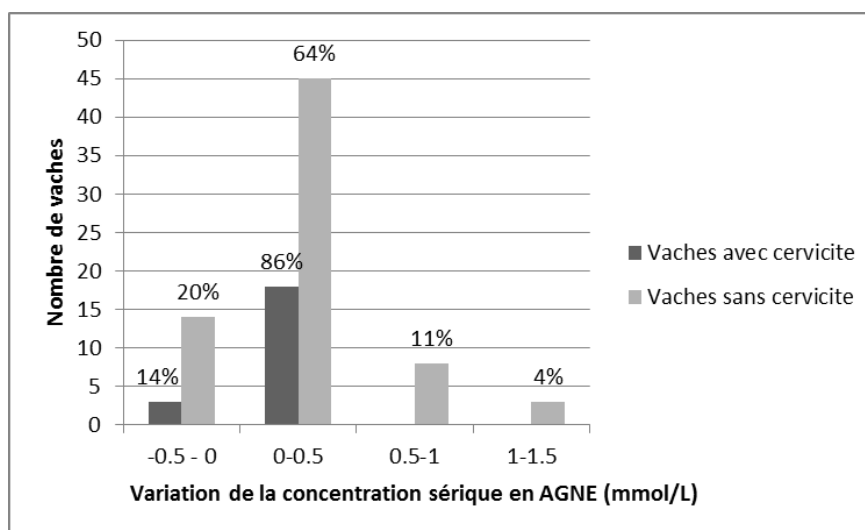


FIGURE 49 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=21) ou non (n=70) d'une cervicite

La variation moyenne de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage chez les vaches avec cervicite est de 0,16 mmol/L ; celle chez les vaches sans cervicite de 0,24 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,52$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage sur la fréquence d'une cervicite (test de régression logistique binaire : $p=0,27$).

- *Impact de la concentration sanguine en BHB*

La concentration sanguine en BHB des vaches par la suite atteintes de cervicite varie de 0,3 à 3,1 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,4 à 5,4 chez les vaches sans cervicite (FIGURE 50). La concentration sanguine moyenne en BHB chez les vaches avec cervicite est de 1,13 mmol/L ;

celle chez les vaches sans cervicite de 1,43 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,096$).

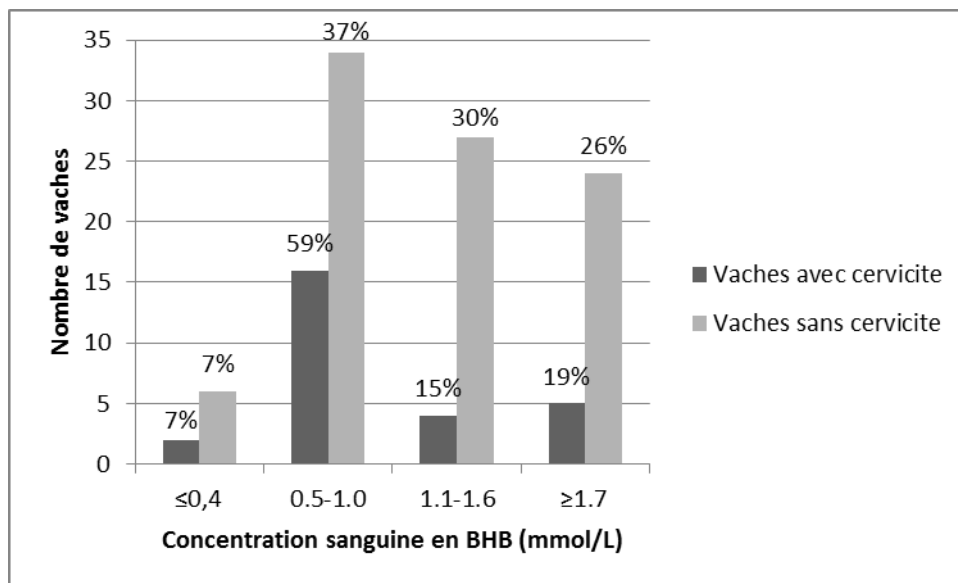


FIGURE 50 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=27) ou non (n=91) d'une cervicite

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sanguine en BHB sur la fréquence de cervicite (test de régression logistique binaire : $p=0,16$).

ii. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la fréquence de l'endométrite

- *Impact de la note d'état corporel avant vêlage*

La note d'état corporel avant vêlage varie de 2,5 à 4,5 chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite et également chez les vaches sans endométrite (FIGURE 51). La note d'état corporel moyenne chez les vaches avec endométrite est de 3,46 ; chez les vaches sans endométrite elle est de 3,48. Cette différence n'est pas significative (test des rangs : $p=0,82$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la note d'état corporel avant vêlage sur la fréquence d'une endométrite (test de régression logistique binaire : $p=0,77$).

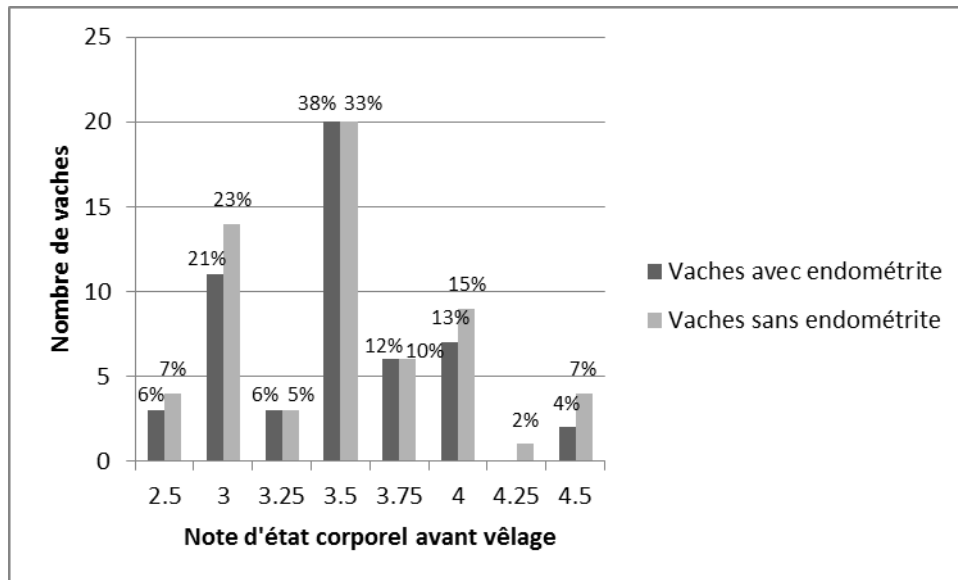


FIGURE 51 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=52) ou non (n=61) d'une endométrite

- *Impact de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage*

La variation de note d'état corporel avant/après vêlage varie de 0 à 1,5 chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite et de 0 à 1,75 chez les vaches sans endométrite (FIGURE 52). La variation moyenne de note d'état corporel avant/après vêlage chez les vaches avec endométrite est de 0,67 ; chez les vaches sans endométrite elle est de 0,68. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : p=0,99).

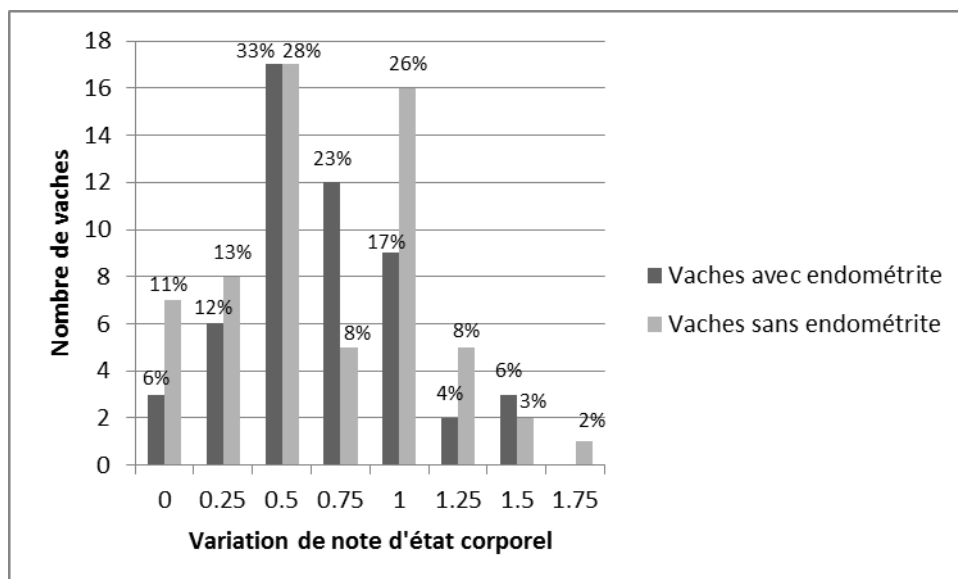


FIGURE 52 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=52) ou non (n=61) d'une endométrite

De plus, il n'y a pas d'effet de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage sur la fréquence d'une endométrite (test de régression logistique binaire : $p=0,96$).

- *Impact de la concentration sérique en AGNE avant vêlage*

La concentration sérique en AGNE avant vêlage chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite varie de 0,06 à 0,51 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,03 à 0,61 mmol/L chez les vaches sans endométrite (FIGURE 53). La concentration sérique moyenne en AGNE avant vêlage chez les vaches avec endométrite est de 0,17 mmol/L ; chez les vaches sans endométrite elle est de 0,16 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,34$).

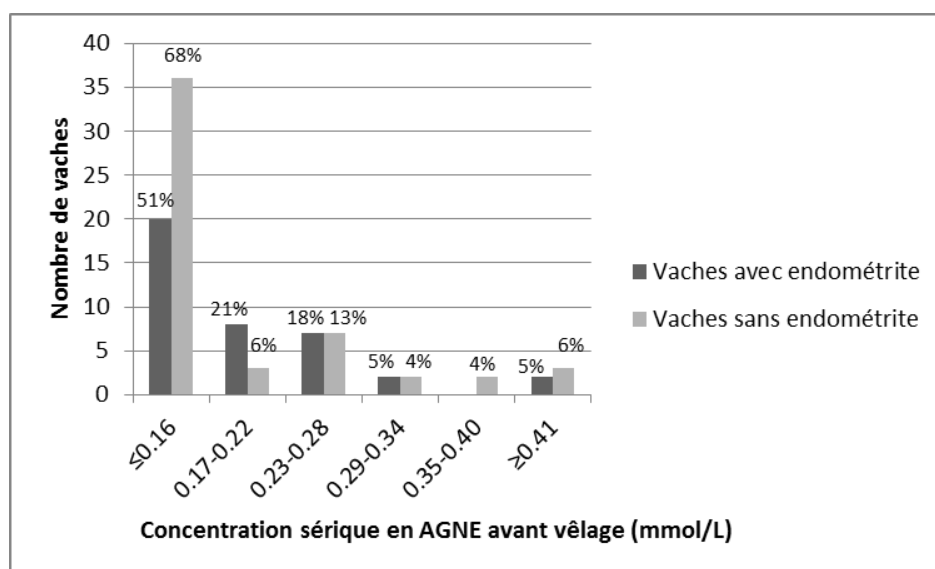


FIGURE 53 : Variation de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=39) ou non (n=53) d'une endométrite

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE avant vêlage sur la fréquence d'une endométrite ($p=0,72$).

- *Impact de la concentration sérique en AGNE après vêlage*

La concentration sérique en AGNE après vêlage chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite varie de 0,06 à 1,25 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,03 à 1,17 mmol/L chez

les vaches sans endométrite (FIGURE 54). La concentration sérique moyenne en AGNE après vêlage chez les vaches avec endométrite est de 0,42 mmol/L ; chez les vaches sans endométrite elle est de 0,38 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,40$).

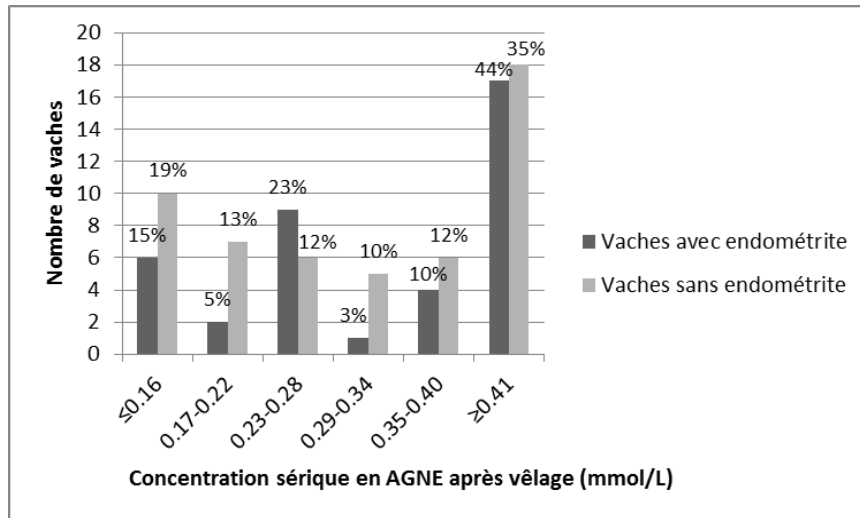


FIGURE 54 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=39) ou non (n=52) d'une endométrite

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE après vêlage sur la fréquence d'une endométrite ($p=0,47$).

- *Impact de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage*

La variation de concentration sérique avant/après vêlage chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite varie de -0,04 à 1,05 mmol/L tandis qu'elle varie de -0,45 à 1,11 mmol/L chez les avec endométrite (FIGURE 55). La variation moyenne de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage chez les vaches avec endométrite est de 0,24 mmol/L ; chez les vaches sans endométrite elle est de 0,21 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,42$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage sur la fréquence d'une endométrite ($p=0,65$)

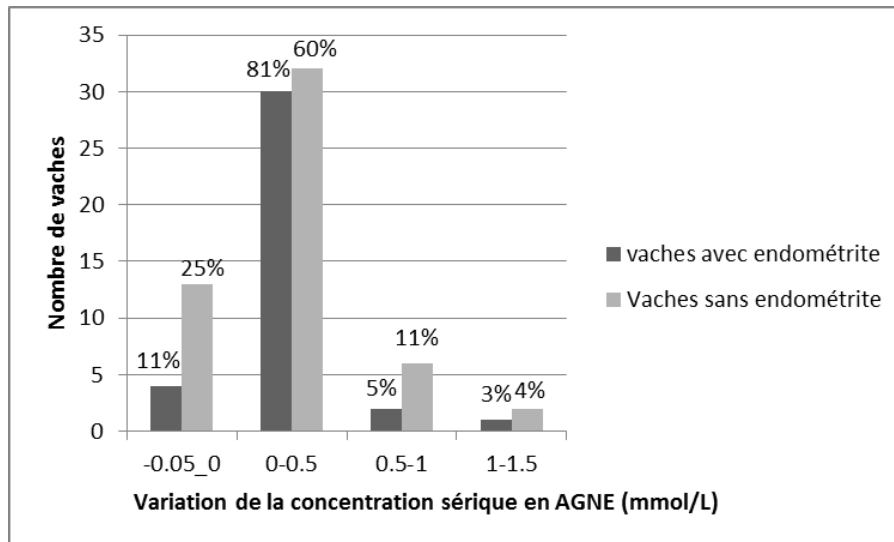


FIGURE 55 : Distribution de la variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=37) ou non (n=53) d'une endométrite

- *Impact de la concentration sanguine en BHB*

La concentration sanguine en BHB chez les vaches par la suite atteintes d'endométrite varie de 0,3 à 5,4 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,4 à 4,9 mmol/L chez les vaches sans endométrite (FIGURE 56). La concentration sanguine moyenne en BHB chez les vaches avec endométrite est de 1,44 mmol/L ; chez les vaches sans endométrite elle est de 1,31 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : p=0,40).

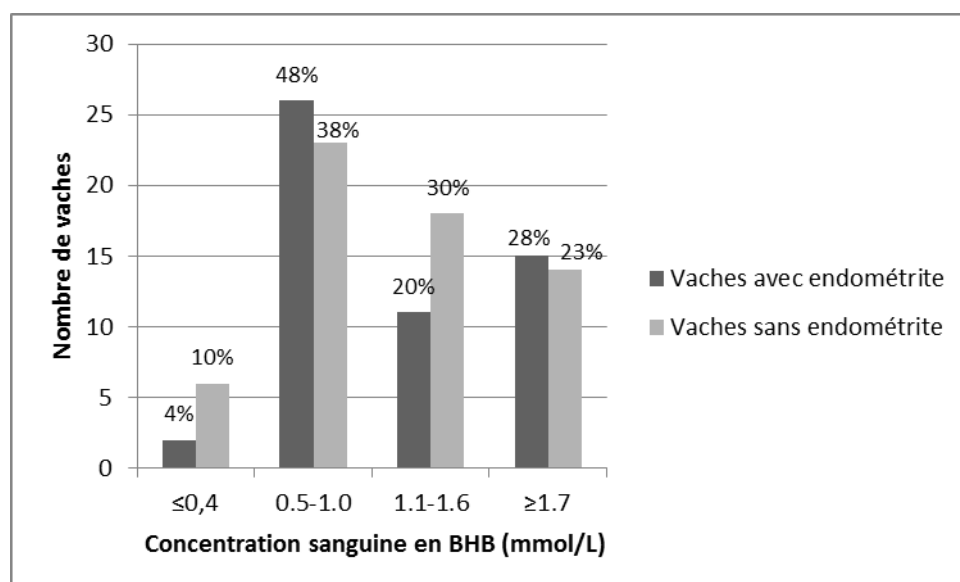


FIGURE 56 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=54) ou non (n=61) d'une endométrite

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sanguine en BHB sur la fréquence d'une endométrite ($p=0,48$).

iii. Impact des différents paramètres du métabolisme énergétique sur la présence ou non d'une inflammation génitale

- *Impact de la note d'état corporel avant vêlage*

La note d'état corporel varie de 2,5 à 4,5 chez les vaches par la suite atteintes d'inflammation génitale et également chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 57). La NEC moyenne avant le vêlage chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 3,35 ; chez les vaches sans inflammation génitale elle est de 3,48. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p= 0,66$).

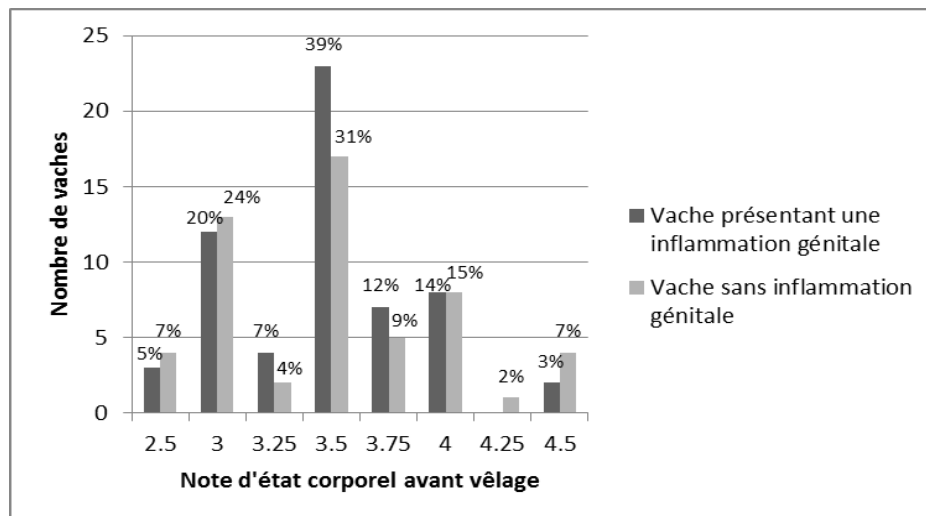


FIGURE 57 : Distribution de la note d'état corporel avant vêlage en fonction de la présence (n=59) ou non (n=54) d'une inflammation génitale

De plus, il n'y a pas d'effet de la note d'état corporel sur la fréquence d'une inflammation génitale (test de régression logistique binaire : $p=0,29$).

- *Impact de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage*

La variation de note d'état corporel avant/après vêlage varie de 0 à 1,5 chez les vaches par la suite atteintes d'inflammation génitale et de 0 à 1,75 chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 58). La variation de note d'état corporel avant/après vêlage chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 0,68 ; chez les vaches sans inflammation génitale elle est de 0,69. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,85$).

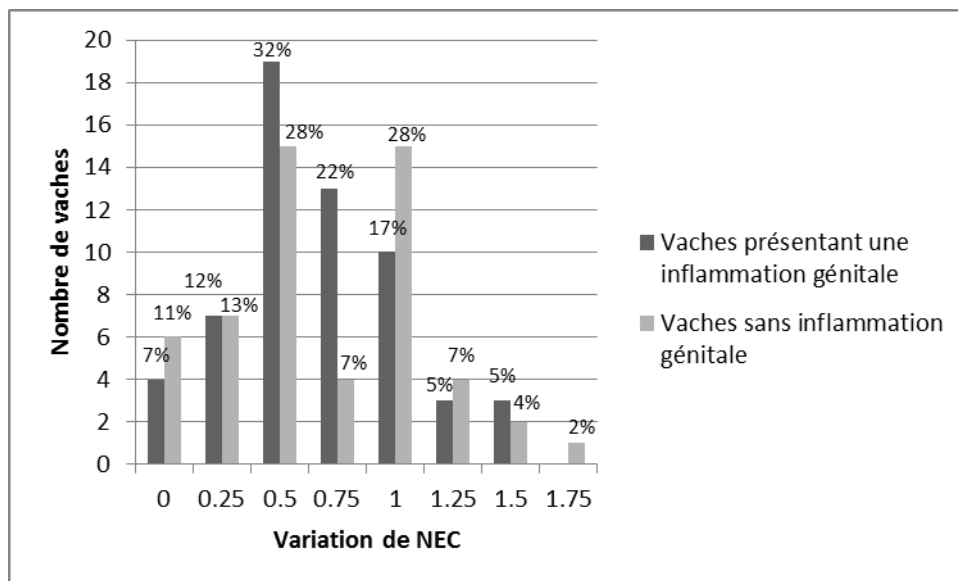


FIGURE 58 : Distribution de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage en fonction de la présence (n=59) ou non (n=54) d'une inflammation génitale

De plus, il n'y a pas d'effet de la variation de note d'état corporel avant/après vêlage sur la fréquence d'inflammation génitale (test de régression logistique binaire : $p=0,85$).

- *Impact de la concentration sérique en AGNE avant vêlage*

La concentration sérique en AGNE avant vêlage chez les vaches qui présentent par la suite une inflammation génitale varie de 0,06 à 0,51 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,03 à 0,61 mmol/L chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 59). La concentration sérique en AGNE moyenne avant le vêlage chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 0,17 mmol/L ; chez les vache sans inflammation génitale elle est de 0,16 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,22$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE avant vêlage sur la fréquence d'une inflammation génitale ($p=0,69$).

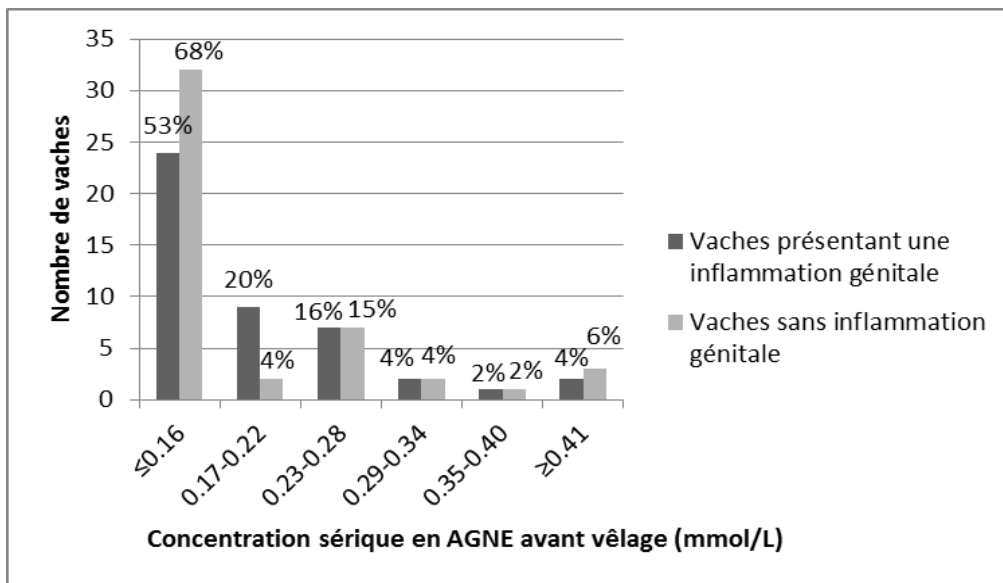


FIGURE 59 : Distribution de la concentration sérique en AGNE avant vêlage en fonction de la présence (n=45) ou non (n=47) d'une inflammation génitale

- *Impact de la concentration sérique en AGNE après le vêlage*

La concentration sérique en AGNE après vêlage chez les vaches présentant par la suite une inflammation génitale varie de 0,06 à 1,25 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,03 à 1,17 mmol/L chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 60).

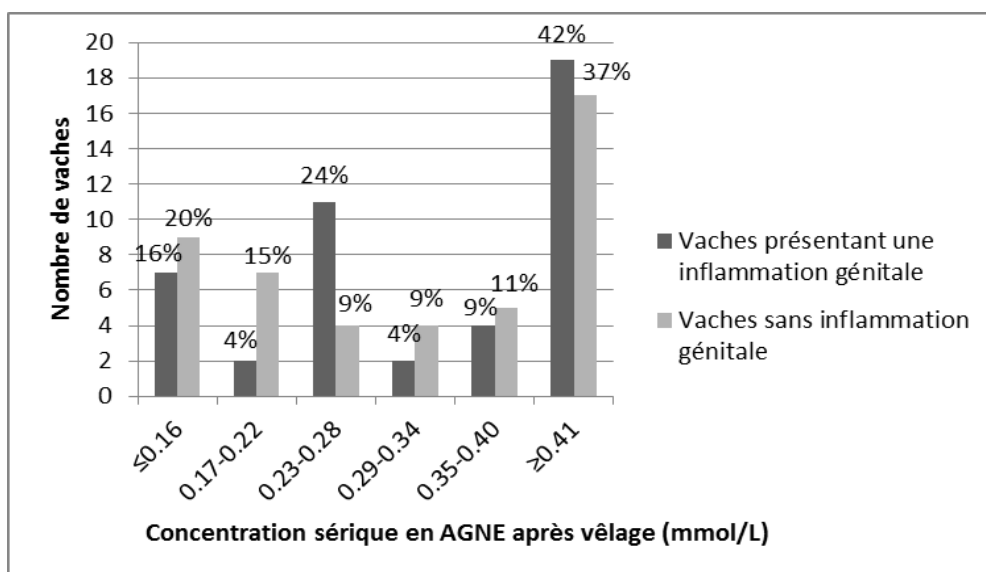


FIGURE 60 : Distribution de la concentration sérique en AGNE après vêlage en fonction de la présence (n=45) ou non (n=46) d'une inflammation génitale

La concentration sérique en AGNE moyenne après le vêlage chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 0,40 mmol/L ; chez les vaches sans inflammation génitale elle est de 0,39 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,61$).

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sérique en AGNE après le vêlage sur la fréquence d'une inflammation génitale ($p=0,84$).

- *Impact de la variation de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage*

La variation de concentration sérique en AGNE avant/après vêlage chez les vaches par la suite atteintes d'inflammation génitale varie de -0,09 à 1,05 mmol/L tandis qu'elle varie de -0,45 à 1,11mmol/L chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 61). La variation moyenne de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage chez les vaches présentant une inflammation génitale est la même que chez les vaches sans inflammation génitale (0,22 mmol/L).

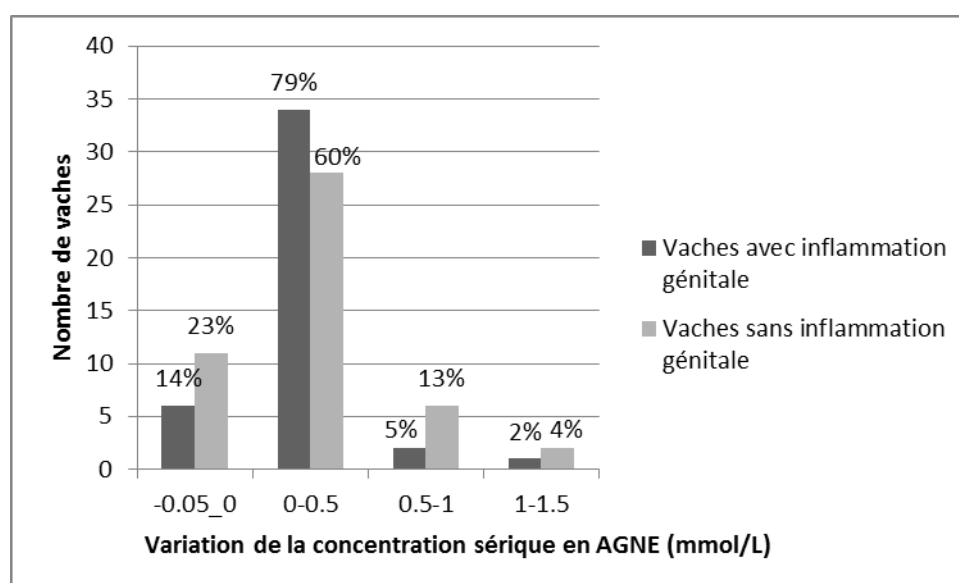


FIGURE 61 : Distribution de la variation de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage en fonction de la présence (n=43) ou non (n=47) d'une inflammation génitale

De plus, il n'y a pas d'effet de la variation de la concentration sérique en AGNE avant/après vêlage sur la fréquence d'une inflammation génitale ($p=0,98$).

- *Impact de la concentration sanguine en BHB*

La concentration sanguine en BHB chez les vaches par la suite atteintes d'inflammation génitale varie de 0,3 à 5,4 mmol/L tandis qu'elle varie de 0,4 à 4,9 mmol/L chez les vaches sans inflammation génitale (FIGURE 62). La concentration sanguine moyenne en BHB chez les vaches présentant une inflammation génitale est de 1,40 mmol/L ; chez les vaches sans inflammation génitale elle est de 1,34 mmol/L. Cette différence n'est pas significative (test des rangs de Mann-Whitney : $p=0,98$).

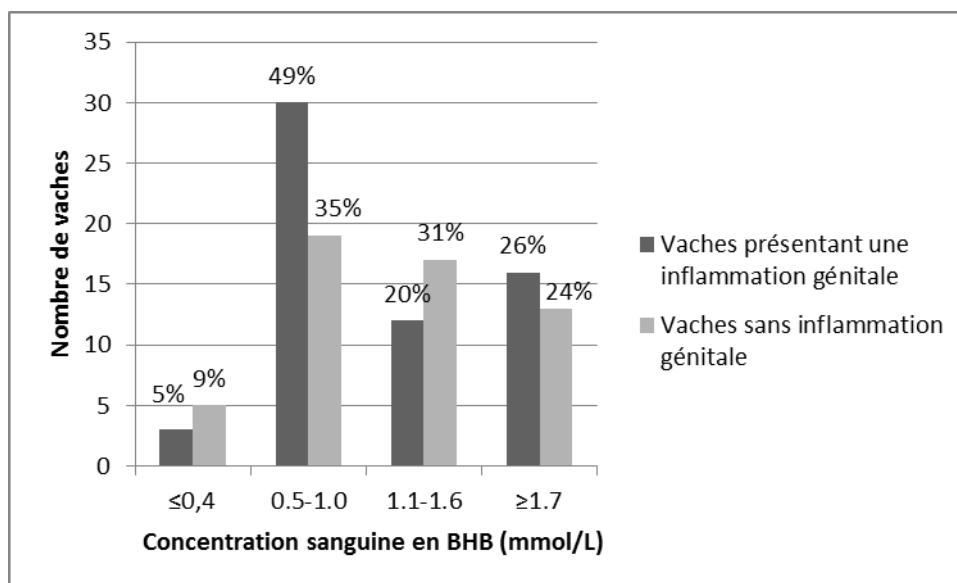


FIGURE 62 : Distribution de la concentration sanguine en BHB en fonction de la présence (n=61) ou non (n=54) d'une inflammation génitale

De plus, il n'y a pas d'effet de la concentration sanguine en BHB sur la fréquence d'une inflammation génitale (test de régression logistique binaire : $p=0,77$).

f. Impact sur la prévalence d'inflammation

- Association entre inflammation génitale et concentration élevée ou normale en AGNE avant vêlage

Le statut inflammatoire de l'appareil génital ne dépend pas de la concentration élevée ($\geq 0,17$ mmol/L) ou normale en AGNE après vêlage (Annexe 3). Par exemple, la prévalence d'endométrite en cas de concentration élevée en AGNE est de 53% (19/36) et celle en cas de

concentration normale en AGNE est de 36% (20/56). La probabilité calculée par le test du Chi² montre que ces prévalences ne sont pas significativement différentes (p=1,06).

- Association entre inflammation génitale et concentration élevée ou normale en AGNE après vêlage

Le statut inflammatoire de l'appareil génital ne dépend pas de la concentration élevée ($\geq 0,35$ mmol/L) ou normale en AGNE après le vêlage (Annexe 3). Par exemple, la prévalence d'endométrite en cas de concentration élevée en AGNE est de 47% (21/45) et celle en cas de concentration normale en AGNE est de 38% (18/47). La probabilité calculée par le test du Chi² montre que ces prévalences ne sont pas significativement différentes (p=0,42).

- Association entre inflammation et variation de concentration en AGNE

Aucun seuil de variation de concentration en AGNE ne figure dans la littérature. Afin de chercher ce seuil, nous avons réalisé des courbes ROC. La sensibilité, la spécificité, l'AUC (Area under the curve) et l'indice de Youden sont répertoriés dans le TABLEAU 8 :

TABLEAU 8 : Valeurs diagnostiques de la variation de concentration en AGNE pour la prédiction de la survenue d'une inflammation génitale

	Sensibilité	Spécificité	AUC	Indice de Youden
Cervicite	81%	30%	0,45	0,11
Endométrite	100%	23%	0,55	0,23
Inflammation génitale	95%	21%	0,52	0,16

Le test n'est utile que si l'AUC $\geq 0,5$. De plus, l'indice de Youden est dans les cas très faible, du fait des spécificités très basses. Donc dans tous les cas le seuil calculé ne peut pas être utilisé.

- Association entre inflammation génitale et cétose

Le statut inflammatoire de l'appareil génital ne dépend pas de l'état cétosique de la vache en post-partum (Annexe 3). Par exemple, la prévalence d'endométrite en cas de cétose est de 45% (26/58) et celle en cas d'absence de cétose est de 49% (28/57). La probabilité calculée par le test du Chi² montre que ces prévalences ne sont pas significativement différentes (p=0,78).

3. DISCUSSION

a. Aspects méthodologiques

i. Élevages choisis

- Uniformité de l'échantillon

Les animaux proviennent de 10 élevages différents, chacun avec leur propre conduite d'élevage, ce qui rend notre échantillon peu uniforme. Cependant, la taille de l'échantillon étant relativement grande, cela permet de s'affranchir d'un potentiel « effet élevage ». Pour autant, le panel choisi n'est pas non plus représentatif des élevages laitiers français, puisque tous les élevages sélectionnés sont au-dessus du troupeau laitier moyen en France (56 vaches laitières en moyenne, production laitière de 6601 kg/vache/lactation, RICA (Réseau d'Information Comptable Agricole), 2013). Enfin, le nombre d'animaux sélectionnés dans chaque élevage (de 4 à 24) ne fait qu'accroître la non-uniformité de l'échantillon.

- Conduite d'élevage

Les 10 élevages sélectionnés ont des conduites d'élevage différentes, notamment en ce qui concerne la préparation au vêlage. Les principaux points qui diffèrent sont : la réalisation d'une transition alimentaire avant le vêlage, l'administration de mono propylène glycol (précurseur du glucose) en préventif et/ou en curatif, la prévention des fièvres vitulaires. Or ces différentes conduites d'élevages peuvent avoir interféré avec nos résultats. En effet, le propylène glycol a un effet anti-cétose, en augmentant la glycémie et diminuant la concentration sanguine en AGNE et en triglycérides, ce qui résulte en une diminution de la concentration sanguine en BHB (McArt et al. 2011). Les vaches traitées avec du mono propylène glycol ont donc des concentrations en AGNE et BHB plus faibles que celles non traitées, ce qui n'a pas été pris en compte dans notre étude.

Même si le but de la thèse était de voir si les indicateurs du métabolisme énergétique permettaient de prévoir une inflammation génitale, sans se soucier de la raison pour laquelle les AGNE ou BHB prennent telle ou telle valeur, il n'est pas exclu que certaines vaches aient eu une cétose, traitée par l'éleveur, et que le dosage des BHB et AGNE ait été fait après la guérison. Ainsi il se peut que les concentrations en BHB et AGNE dosées ne reflètent pas réellement le déficit énergétique dans lequel s'est trouvée la vache au moment du vêlage.

ii. Protocole expérimental

Lors de la 2^{ème} visite, des renseignements sur le déroulement du vêlage étaient demandés : assistance ou non, veau vivant ou non, veau femelle ou mâle. Ces informations n'ont par la suite pas été exploitées, bien qu'il s'agisse de facteurs de risque pour les endométrites : une vache qui a mis bas un veau mort a entre 2,9 et 7,5 fois plus de risque de présenter une endométrite clinique (Markusfeld 1987 ; Potter et al. 2010), une vache qui a eu un veau mâle a 1,8 fois plus de risque (Potter et al. 2010) et des jumeaux 2,3 fois plus de risque de présenter une endométrite (Markusfeld 1987). Il aurait donc été plus cohérent d'en tenir compte dans l'analyse statistique ou bien de les exclure de l'étude. En outre, d'autres informations auraient pu être intéressantes car constituant également un facteur de risque, notamment la rétention placentaire qui augmente le risque d'endométrite par 3,5 fois et ce jusqu'à 40 fois selon certaines études (Gautam et al. 2010 ; Potter et al. 2010).

iii. Notation de l'état corporel

Il y a une part de subjectivité dans la notation de l'état corporel. Afin de pallier cette part de subjectivité, la NEC a toujours été attribuée par le même opérateur.

iv. Dosage des AGNE et des BHB

Les prélèvements sanguins en vue du dosage des AGNE et des BHB ont été la plupart du temps réalisés au cours ou juste après le repas, pour des raisons évidentes d'organisation (après la traite, au moment où les vaches sont bloquées aux cornadis et avant qu'elles ne partent en pâture). Or les variations de concentration de ces marqueurs biochimiques au cours de la journée sont principalement liées aux repas. L'effet repas se traduit par une baisse marquée de la concentration en AGNE et une augmentation modérée de la concentration en corps cétoniques. Un risque de confusion existe donc entre l'effet postprandial et la présence de cétose (Raboison et Schelcher 2009). Dans une étude menée sur 47 vaches par Quiroz-Rocha et al. (2010), la probabilité de détecter des animaux avec des concentrations en AGNE $\geq 0,4$ mmol/L est multipliée par 2 si le prélèvement est effectué 1 h avant le repas par rapport à un prélèvement effectué 4h ou 10h après le repas. D'autre part il n'y a pas de différence de concentration en BHB entre des échantillons prélevés 1h avant le repas et 4h après le repas mais la concentration moyenne en BHB est significativement plus élevée 10h après le repas que 1h avant le repas (Quiroz-Rocha et al. 2010). Ainsi nous avons essayé de suivre les indications de Quiroz-Rocha et al. (2010) qui sont de prélever, au

sein d'un même troupeau, toujours au même moment par rapport au repas. Toutefois, il est arrivé que ces prélèvements soient effectués plus tard après le repas, ce que nous aurions dû éviter.

v. Choix de la méthode de diagnostic de l'inflammation génitale

La méthode de référence pour diagnostiquer une inflammation génitale est la cytologie. Le prélèvement peut être réalisé à partir de cytobrosses ou de lavages utérins. Cependant l'utilisation de cytobrosses permet une meilleure répétabilité (coefficient de corrélation de Lin : 0,85 pour la cytobrosse ; 0,76 pour le lavage utérin) (Barlund et al. 2008) et est plus simple, plus rapide et détériore moins les cellules que le lavage utérin (Kasimanickam et al. 2004). Elle rencontre également moins de cas d'échecs de prélèvement que le lavage utérin (Kasimanickam et al. 2005). En outre, il n'a jamais été rapporté d'irritation de l'endomètre suite au passage de la cytobrosse, ni d'apparition de symptômes cliniques, ni de détérioration des performances de reproduction (Deguillaume 2010). C'est donc la méthode de cytobrossage que nous avons retenue. Les deux opérateurs se sont préalablement entraînés sur des vaches vivantes à l'abattoir afin de maîtriser la méthode avant de commencer les manipulations en élevage.

Les lames ont été lues par les deux opérateurs afin de répartir la charge de travail. Pour contrer un éventuel facteur de variabilité inter-opérateur, une double lecture de 20 lames a été faite et la concordance a été considérée satisfaisante.

vi. Choix des seuils utilisés

Afin de caractériser le déficit énergétique, nous avons dû choisir des seuils pour la concentration en AGNE et en BHB au-dessus desquels la vache est considérée **en déficit énergétique**. De nombreux seuils existent dans la littérature et nous avons retenu, en adéquation avec la période de prélèvement, les seuils suivants :

- AGNE : 0,4 mmol/L en pré-partum (Oetzel 2004) ;
- AGNE : 0,7 mmol/L en post-partum (Ospina et al. 2013) ;
- BHB : 1,4 mmol/L en post-partum (Voyvoda et Erdogan 2010).

De plus, d'autres seuils sont définis dans la littérature au-dessus desquels une **dégradation de la santé génitale** a été observée (métrite, endométrite clinique ou subclinique, rétention placentaire) de la vache (TABLEAU 9).

TABLEAU 9 : Synthèse bibliographique des seuils en AGNE et BHB au-dessus desquels la santé génitale est altérée

	Source	Valeur seuil	Période de prélèvement	Effet sur la santé génitale
AGNE	Chapinal et al. 2011	0,3 mmol/L	1 ^{ère} semaine pré-partum	↗ risque de métrite (OR=1,8), ↗ incidence de rétention placentaire
	Dubuc et al. 2010	0,6 mmol/L	1 ^{ère} semaine pré-partum	↗ risque de métrite (OR=1,6)
	Ospina et al. 2013	0,3 mmol/L	14-3 jours pré-partum	↗ incidence de métrite, de rétention placentaire
	Kaufmann et al. 2010	0,3 mmol/L	1 ^{ère} semaine pré-partum	↗ risque d'endométrite clinique (OR=9,1) et subclinique (OR=12,1)
	Ospina et al. 2013	0,6 mmol/L	Deux semaines post-partum	↗ incidence de métrite, de rétention placentaire
BHB	Walsh et al. 2007	1,0 mmol/L	1 ^{ère} semaine post-partum	Risque d'anoestrus à 9 semaines x 1,5
	Dubuc et al. 2010	1,1 mmol/L	1 ^{ère} semaine post-partum	↗ risque d'endométrite cytologique (OR=1,4)
	Ospina et al. 2013	1,0 mmol/L	3 à 14 jours post-partum	↗ incidence de métrite, de rétention placentaire
	Duffield et al. 2009	1,2 mmol/L	1 ^{ère} semaine post-partum	Risque de métrite x3

Ainsi, nous avons retenu les seuils suivants pour lesquels il y a un **effet sur la santé génitale** :

- AGNE : 0,3 mmol/L en pré-partum ;
- AGNE : 0,6 mmol/L en post-partum ;
- BHB : 1,1 mmol/L en post-partum.

De même, le seuil du pourcentage de neutrophiles pour caractériser une inflammation génitale a été choisi en fonction de la période de prélèvement (TABLEAU 10) :

- 5% pour le frottis du col ;
- 6% pour le frottis de l'utérus.

TABLEAU 10 : Valeurs des seuils de pourcentage de neutrophiles utilisés dans le diagnostic d'une cervicite et d'une endométrite en fonction de la période de prélèvement selon les études

	Source	Valeur seuil	Période de prélèvement
Cytologie cervicale	Deguillaume et al. 2012	5%	21-35 jours post-partum
Cytologie endométriale	Hammon et al. 2006	25%	28 jours ± 3 post-partum
	Kaufmann et al. 2010	18%	5 semaines post-partum
	Senosy et al. 2012	5%	5, 6 et 7 semaines post-partum
	Dubuc et al. 2010	6%	35 jours ± 3 post-partum
	Barlund et al. 2008	8%	28-41 jours post-partum
	Deguillaume et al. 2012	6%	21-35 jours post-partum

b. Résultats

i. Prévalences

La prévalence des endométrites est différente d'une étude à l'autre : elle varie de 11% (Barlund et al. 2008) à 67% (Galvão et al. 2010). Cette variabilité inter-étude peut s'expliquer en partie par la variabilité inter-élevage : par exemple, dans l'étude de Cheong et al. (2011) où 779 vaches de 38 élevages ont été prélevées, la prévalence des endométrites entre chaque élevage variait de 4,8 à 52,6%. Une autre explication de cette variabilité est l'exclusion ou non de vaches à haut risque d'endométrite : vaches ayant subi une rétention placentaire, une métrite... La prévalence d'endométrite dans notre étude est de 47%, ce qui nous situe au-dessus de nombreuses études, ceci pouvant s'expliquer par la non-exclusion des vaches à haut risque d'endométrite.

L'incidence de cervicite est de 15 à 40% un mois après le vêlage (Deguillaume et al. 2012 et Schult 2009 cités par LeBlanc 2012). La prévalence de cervicite dans notre étude est 23%, ce qui est en accord avec les résultats décrits dans la littérature.

Dans notre étude, la prévalence de cétose est de 34%, ce qui est très supérieur aux 24,6% trouvés dans l'étude menée par Philippe et Raboisson (2012) sur 615 prélèvements issus de 22 troupeaux bovins laitiers de l'Ouest de la France. Cette différence peut être expliquée d'une part par la méthode diagnostique employée : en effet, dans l'étude de Philippe et Raboisson (2012), la cétose subclinique est détectée dans le lait, avec un seuil de 200 $\mu\text{mol/L}$ tandis que dans notre étude, elle est détectée dans le sang, avec un seuil de 1,4 mmol/L . D'autre part, des niveaux de production différents entre les élevages sélectionnés par l'étude de Philippe et Raboisson (2012) et notre étude peuvent contribuer à cette différence. En effet, les élevages inclus dans notre étude ont un niveau technique et un niveau de production supérieurs à la moyenne française, et donc une conduite plus intensive que la moyenne.

ii. Validité de l'appareil VetPhotometer

Nous avons testé la validité de l'appareil Vetphotometer® à l'aide de 100 prélèvements. Nous avons montré une très bonne corrélation ($r=0,96$) entre les valeurs de concentrations données par cet appareil et celles obtenues par le dosage en laboratoire. Cependant, le Vetphotometer sous-estime les valeurs de la concentration en AGNE. En effet, pour retrouver la concentration réelle en AGNE, il faut compléter cette équation :

$$[\text{AGNE}]_{\text{LABEO}} = 1,7209 \times [\text{AGNE}]_{\text{VetPhotometer}} + 0,0018$$

Le praticien devra donc tenir compte de cette sous-estimation lorsqu'il effectuera le dosage d'AGNE au cabinet.

iii. Impact des indicateurs du métabolisme énergétique sur l'inflammation génitale

Suite à notre étude, nous concluons que le degré de déficit énergétique auxquels sont soumises les vaches n'a pas d'impact sur l'endométrite et/ou la cervicite cytologiques.

Peu d'études se sont intéressées à l'impact de la note d'état corporel autour du vêlage sur la santé de l'appareil reproducteur. Senosy et al (2012) ont toutefois montré que la note d'état corporel à 2, 4, 6 et 7 semaines est significativement plus faible pour des vaches atteintes d'endométrite 5 semaines post-partum que pour des vaches saines.

L'influence de la concentration en AGNE sur l'inflammation génitale est controversée. En effet, de nombreuses études ont montré l'impact négatif de concentrations élevées en AGNE sur le développement d'endométrites (Hammon et al. 2006 ; Galvão et al. 2010 ; Kaufmann et al. 2010). Par exemple, Galvão et al (2010) ont montré que les concentrations moyennes en AGNE des vaches avec endométrite sont significativement plus élevées ($p < 0,05$) au moment du vêlage et à 35 jours post-partum que pour des vaches saines. Kaufmann et al. (2010) ont déterminé un seuil de 0,3 mmol/L au-dessus duquel le risque de développement d'une endométrite clinique ou subclinique est plus élevé (sensibilité : 38% et 35% respectivement, spécificité : 87% et 89% respectivement). Ce seuil, dans notre étude, ne permet pas de conclure à la même chose. Cependant, certaines études montrent, comme nous, qu'il n'y a pas d'impact de la concentration en AGNE pré et post-partum sur l'apparition d'endométrite subclinique (Burke et al. 2010 ; Senosy et al. 2012).

De même, de nombreuses études ont montré que les concentrations en BHB de vaches avec endométrite subclinique sont plus élevées en début de lactation que chez les vaches saines (Hammon et al. 2006 ; Galvão et al. 2010) et que la cétose ($BHB > 1,1$ mmol/L) est un facteur de risque ($OR = 1,4$ et $3,83$) important pour l'apparition d'une endométrite cytologique (Dubuc et al. 2010 ; Cheong et al. 2011). D'autres études sont arrivées à la même conclusion que la nôtre, c'est-à-dire qu'aucune relation n'a pu être établie entre la concentration en BHB et l'apparition d'endométrite (Kaufmann et al. 2010 ; Senosy et al. 2012).

Une synthèse des résultats obtenus par les différentes publications ayant étudiées l'influence de la concentration en AGNE et BHB sur l'endométrite cytologique est présentée dans le TABLEAU 11.

TABLEAU 11 : Synthèse bibliographique de l'effet de la concentration en AGNE et BHB sur l'endométrite cytologique

Etude	Effectif (nombre de vaches)	Dosage AGNE	Dosage BHB	Méthode diagnostic endométrite	Effet sur l'endométrite
Hammon et al (2006)	83	2 x/semaine de 2 semaines pré-partum à 5 semaines post-partum	2 x/semaine de 2 semaines pré-partum à 5 semaines post-partum	28 ± 3 jours post-partum Lavage utérin PMN > 25%	AGNE : oui BHB : oui
Burke et al (2010)	78	-14, 0, 4, 7, 14, 28, 42 jours post-partum	non	42 ± 2,6 jours post-partum Cytobrosse PMN > 6%	AGNE : non
Kaufmann et al (2010)	209	A 1 semaine pré-partum, 1 semaine post-partum et entre 28 et 35 jours post-partum	1 semaine pré-partum, 1 semaine post-partum et entre 28 et 35 jours post-partum	8 semaines post-partum Cytobrosse PMN > 18%	AGNE : Primipare : non Multipare : oui BHB : Primipare : non Multipare : non
Dubuc et al (2010)	1363	4 ± 3 jours pré-partum et à 4 ± 3 ; 11 ± 3 ; 18 ± 3 jours post-partum	4 ± 3 ; 11 ± 3 ; 18 ± 3 jours post-partum	35 ± 3 jours post-partum Cytobrosse PMN > 6%	BHB : oui
Galvão et al (2010)	80	1 x/semaine du jour du vêlage à 42 jours post-partum	1 x/semaine du jour du vêlage à 42 jours post-partum	42 jours post-partum Lavage utérin PMN > 10%	AGNE : oui BHB : oui
Cheong et al (2011)	779	non	?	46 jours post-partum en moyenne Lavage utérin PMN > 10 %	Cétose : oui
Senosy et al (2012)	70	11 ± 2 ; 18 ± 2 ; 25 ± 2 ; 32 ± 2 ; 39 ± 2 ; 46 ± 2 jours post-partum	11 ± 2 ; 18 ± 2 ; 25 ± 2 ; 32 ± 2 ; 39 ± 2 ; 46 ± 2 jours post-partum	32 ± 2 ; 39 ± 2 ; 46 ± 2 jours post-partum Cytobrosse PMN > 5%	AGNE : non BHB : non

Des différences dans le protocole expérimental, la méthodologie et les définitions des maladies peuvent contribuer à l'obtention de ces différents résultats. Ainsi, dans certaines des études citées, les endométrites cytologiques sont diagnostiquées plus tardivement au cours de la lactation que dans notre étude (à 42 jours pour Galvão et al (2010), 46 jours pour Cheong et al (2011)), par lavage utérin (Hammon et al. 2006 ; Cheong et al. 2011), à un seuil de PMN parfois beaucoup plus élevé que celui que nous utilisons (25% pour Hammon et al (2006), 18% pour Kaufmann et al (2010)). Par ailleurs, l'endométrite clinique est parfois

étudiée dans un autre modèle que l'endométrite subclinique (Kaufmann et al. 2010 ; Dubuc et al. 2010), voire exclue du modèles (Senosy et al. 2012). D'autre part, les critères d'exclusion sont parfois plus sévères que les nôtres (exclusion lors de dystocie, d'hypocalcémie, de veaux morts, de métrite, de cétose clinique...).

Des différences de régulation de la mobilisation lipidique entre les vaches primipares et multipares ont été montrées dans de nombreuses études. Ainsi dans de nombreuses publications, les multipares et primipares ont été étudiées dans deux modèles distincts (Kaufmann et al. 2010), d'autres n'ont étudié que les multipares (Senosy et al. 2012).

En outre, les modèles statistiques utilisés sont bien plus compliqués que les nôtres (prise en compte de la parité, du moment de prélèvement, de la note d'état corporel, et des interactions entre la pathologie utérine rencontrée et ces paramètres). Seule l'étude menée par Kaufmann et al. (2010) semble avoir utilisé un modèle statistique simple, en utilisant une régression logistique binaire pour étudier l'association entre les métabolites sanguins et la santé de l'utérus. Cependant, comme dit précédemment, dans ce modèle les primipares et les multipares étaient séparées, et l'endométrite clinique différenciée des formes subcliniques.

CONCLUSION

Dans les conditions terrain de notre expérience, les indicateurs du métabolisme énergétique (note d'état corporel, concentration sérique en AGNE et concentration sanguine en BHB) n'ont pas été trouvés associés à l'inflammation génitale qu'elle ait été considérée quantitativement (taux de neutrophiles sur les prélèvements cytologiques) ou qualitativement. Les vaches qui présentent une inflammation de l'appareil génital n'ont pas été précédemment soumises à un déficit énergétique plus important que les vaches saines.

Ainsi, l'évaluation des indicateurs du métabolisme énergétique ne semble pas constituer un outil pronostique des inflammations génitales.

Au cours de ce protocole, des données autres ont été collectées, en particulier : la concentration sanguine en calcium dans les 3 à 14 jours post-vêlage, la note d'aplomb et le taux cellulaire du lait quartier par quartier. En effet, le calcium intervient dans la fonction immunitaire de la vache (Kimura et al. 2006 ; Martinez et al. 2012) et de nombreux auteurs (Chapinal et al. 2011 ; Cheong et al. 2011 ; Martinez et al. 2012) se sont penchés sur l'existence d'un éventuel impact de la calcémie sur l'inflammation génitale. Ainsi, Cheong et al. (2011) n'ont pas trouvé de corrélation entre la fièvre de lait clinique et l'endométrite subclinique tandis que Martinez et al. (2012) ont montré que la prévalence de métrite est supérieure chez les vaches ayant présenté une hypocalcémie subclinique (calcémie $\leq 8,59$ mg/dL) dans les 3 jours post-partum que chez les vaches dont la calcémie est normale. Bien que les conclusions diffèrent, il serait intéressant de rechercher si le dosage du calcium sur le terrain pourrait servir de critère prédicteur d'inflammation génitale cytologique. Une précédente étude (Gayraud et Puech 2014) a émis l'hypothèse qu'inflammation génitale et inflammation mammaire pourraient être liés. Les résultats de cette étude n'ont pas permis de conclure, au vu de la faible taille des échantillons. Il serait donc intéressant de compléter cette étude avec nos données.

Enfin, comme cela a déjà été fait pour les mammites (Rupp et Boichard 2003), il pourrait être envisagé d'exploiter les tubes EDTA prélevés sur chaque vache pour étudier une éventuelle susceptibilité génétique aux inflammations génitales.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, **CHASTANT Sylvie**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **GROS Louise** intitulée « *Impact du bilan énergétique sur l'inflammation génitale chez la vache laitière.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

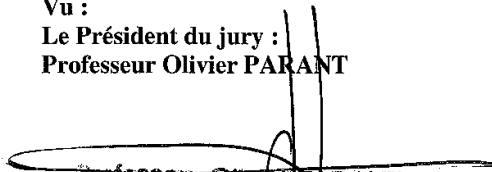
Fait à Toulouse, le 5 novembre 2015
Professeure Sylvie CHASTANT
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN

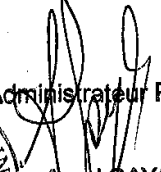


Vu :
Le Président du jury :
Professeur Olivier PARANT

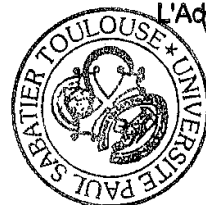


Professeur Olivier PARANT
Hôpital Pasteur de Muret
Service de Chirurgie Vétérinaire
41, Avenue des Cordeliers
TSA 70034
31059 TOULOUSE Cedex 9

Vu et autorisation de l'impression :
Administrateur Provisoire de
l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Amal SAYAH



L'Administrateur Provisoire
Amal SAYAH



Mlle GROS Louise
a été admis(e) sur concours en : 2010
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 26/06/2014
a validé son année d'approfondissement le : 28/05/2015
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

ADEWUYI, A.A., GRUYS, E. et EERDENBURG, F.J.C.M. van, 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly*. Vol. 27, n° 3, pp. 117-126.

AUBERVAL, N., 2010. *Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle*. Thèse de l'Ecole Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé. Université de Strasbourg. 257 p.

AZAWI, O.I., 2008. Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science*. Vol. 105, n° 3-4, pp. 187-208.

BARLUND, C.S., CARRUTHERS, T.D., WALDNER, C.L. et PALMER, C.W., 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*. Vol. 69, n° 6, pp. 714-723.

BARONE, R., 2001. *Anatomie comparée des mammifères domestiques. appareil uro-génital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale Tome quatrième, 2*. Paris : Ed. Vigot. ISBN 2-7114-9012-2.

BARRIÈRE, P. et LOPES, P., 1987. Immunologie de l'endomètre. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. Vol. 163, n° 2, pp. 121 - 126.

BURKE, C.R., MEIER, S., MCDUGALL, S., COMPTON, C., MITCHELL, M. et ROCHE, J.R., 2010. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 93, n° 11, pp. 5363-5373.

CAI, T.Q, WESTON, P.G, LUND, L.A, BRODIE, B., MCKENNA, D.J. et WAGNER, W.C., 1994. Association between neutrophil functions and periarturient disorders in cows. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 55, n° 7, pp. 934-943.

CALDER, P.C., 2005. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochemical Society Transactions*. Vol. 33, n° 2, pp. 423.

CHAPINAL, N., CARSON, M., DUFFIELD, T.F., CAPEL, M., GODDEN, S., OVERTON, M., SANTOS, J.E.P. et LEBLANC, S.J., 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science*. Vol. 94, n° 10, pp. 4897-4903.

CHEONG, S. H., NYDAM, D. V., GALVÃO, K. N., CROSIER, B. M. et GILBERT, R. O., 2011. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 94, n° 2, pp. 762-770.

CONTRERAS, G. A. et SORDILLO, L. M., 2011. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. Vol. 34, n° 3, pp. 281-289.

DEFRANCO, A., ROBERTSON, M. et LOCKSLEY, R., 2009. *Immunité : La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires*. De Boeck Supérieur. ISBN 2804159574.

- DEGUILLAUME, L., 2010. *L'inflammation génitale post-partum de la vache*. Thèse de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. AgroParisTech. 206 p.
- DEGUILLAUME, L. et CHASTANT-MAILLARD, S., 2012. Les mécanismes de défenses immunitaires de l'utérus postpartum chez la vache. *Le Nouveau Praticien vétérinaire-élevages et santé*. Vol. 5, n° 21, pp. 81-84.
- DHALIWAL, G. S., MURRAY, R. D. et WOLDEHIWET, Z., 2001. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Animal Reproduction Science*. Vol. 67, n° 3, pp. 135-152.
- DRACKLEY, J.K., 1999. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? *Journal of Dairy Science*. Vol. 82, n° 11, pp. 2259-2273.
- DUBUC, J., DUFFIELD, T.F., LESLIE, K.E., WALTON, J.S. et LEBLANC, S.J., 2010a. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 93, n° 11, pp. 5225-5233.
- DUBUC, J., DUFFIELD, T. F., LESLIE, K. E., WALTON, J. S. et LEBLANC, S. J., 2010b. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 93, n° 12, pp. 5764-5771.
- 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*. Vol. 92, n° 2, pp. 571-580.
- EDMONSON, A.J., LEAN, I.J., WEAVER, L.D., FARVER, T. et WEBSTER, G., 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 72, n° 1, pp. 68-78.
- ELLIOTT, L., MCMAHON, K.J., GIER, H.T. et MARION, G.B., 1968. Uterus of the Cow After Parturition : Bacterial Content. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 29, n° 1, pp. 77-81.
- ENJALBERT, F., 2003. Les contraintes nutritionnelles autour du vêlage. *Le Point Vétérinaire*. 2003. Vol. 34, n° 236, pp. 40-44.
- FERGUSON, J.D., GALLIGAN, D.T. et THOMSEN, N., 1994. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 77, n° 9, pp. 2695-2703
- FOURNIER, R, DEGUILLAUME, L. et CHASTANT-MAILLARD, S., 2014. Quelle méthode privilégier en pratique pour le diagnostic des endométrites de la vache laitière ? *Le Point Vétérinaire*. N° 349. pp. 2-7.
- FOURNIER, R., 2014. Endométrites subcliniques : un test simple pour identifier les vaches à traiter? *Repro Mag*. 2014. Vol. Best of 2014, MDS editeur, Beaucozéz, France, pp. 159-162.
- GALVÃO, K. N., FLAMINIO, M. J. B. F., BRITTIN, S. B., SPER, R., FRAGA, M., CAIXETA, L., RICCI, A., GUARD, C. L., BUTLER, W. R. et GILBERT, R. O., 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 2010. Vol. 93, n° 7, pp. 2926-2937.

- GAUTAM, G., NAKAO, T., KOIKE, K., LONG, S.T., YUSUF, M., RANASINGHE, R.M.S.B.K., HAYASHI, A., 2010. Spontaneous recovery of persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology*. Vol. 73, pp. 168-179.
- GAYRAUD, S. et PUECH, E., 2014. *Inflammation génitale de la vache laitière en post-partum : évaluation de l'intérêt diagnostique des paramètres vaginaux ; corrélation avec le statut inflammatoire mammaire*. Thèse de doctorat vétérinaire. Toulouse 3 - 4098. 108 p.
- GIER, H.T. et MARION, G.B., 1968. Uterus of the Cow After Parturition : Involutional Changes. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 29, n° 1, pp. 83-96.
- GILBERT, R.O., SHIN, S.T., GUARD, C.L., ERB, Hollis N. et FRAJBLAT, M., 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*. Vol. 64, n° 9, pp. 1879-1888.
- GOFF, J. P. et HORST, R. L., 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*. Vol. 80, n° 7, pp. 1260-1268.
- GRIFFIN, J.F.T., HARTIGAN, P.J. et NUNN, W.R., 1974. Non-specific uterine infection and bovine fertility. I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. *Theriogenology*. Vol. 1, n° 3, pp. 91-106.
- HAMMON, D.S., EVJEN, I.M., DHIMAN, T.R., GOFF, J.P. et WALTERS, J.L., 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 113, n° 1-2, pp. 21-29.
- HAYIRLI, A., GRUMMER, R. R., NORDHEIM, E. V. et CRUMP, P. M., 2002. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science*. Vol. 85, n° 12, pp. 3430-3443.
- HOEBEN, D., HEYNEMAN, R. et BURVENICH, C., 1997. Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 58, n° 2, pp. 165-170.
- HUSSAIN, A.M., 1989. Bovine Uterine Defense Mechanisms: A Review. *Journal of Veterinary Medicine*. Vol. B36, pp. 641-651.
- INGVARTSEN, K. L. et ANDERSEN, J. B., 2000. Symposium: dry matter intake of lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. Vol. 83, pp. 1573-1597.
- KASIMANICKAM, R., DUFFIELD, T.F., FOSTER, R.A., GARTLEY, C.J., LESLIE, K.E., WALTON, J.S. et JOHNSON, W.H., 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal*. Vol. 46, n° 3, pp. 255.
- KASIMANICKAM, R., DUFFIELD, T. F., FOSTER, R.A., GARTLEY, C.J., LESLIE, K. E., WALTON, J.S. et JOHNSON, W.H., 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. Vol. 62, pp. 9-23.
- KAUFMANN, T.B., DRILLICH, M., TENHAGEN, B.A. et HEUWIESER, W., 2010. Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin,

and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. *BMC veterinary research*. Vol. 6, n° 1. pp. 1-6.

KIMURA, K., REINHARDT, T.A. et GOFF, J.P., 2006. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*. Vol. 89, n° 7, pp. 2588-2595.

KOHLI, P. et LEVY, B., 2009. Resolvins and protectins : mediating solutions to inflammation. *British Journal of Pharmacology*. Vol. 158, pp. 960-971.

KROGH, M.A., TOFT, N. et ENEVOLDSEN, C., 2011. Latent class evaluation of a milk test, a urine test, and the fat-to-protein percentage ratio in milk to diagnose ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 94, n° 5, pp. 2360-2367.

LAMER, J.C., 2014. Non délivrance de la vache laitière- De l'importance du stress oxydatif. *La lettre Synthèse élevage bovins*. N° 5, pp.1-4.

LEBLANC, S.J., 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *The Journal of Reproduction and Development*. Vol. 56 Suppl, pp. S29-35.

LEBLANC, S.J., 2012. Interactions of Metabolism, Inflammation, and Reproductive Tract Health in the Postpartum Period in Dairy Cattle: Reproductive Tract Inflammation in Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol. 47, pp. 18-30.

LEBLANC, S. J., LESLIE, K. E. et DUFFIELD, T. F., 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. Vol. 88, n° 1, pp. 159-170.

LÓPEZ-GATIUS, F., YÁÑIZ, J. et MADRILES-HELM, D., 2003. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis. *Theriogenology*. Vol. 59, n° 3-4, pp. 801-812.

MADOZ, L.V., GIULIODORI, M.J., MIGLIORISI, A.L., JAUREGUIBERRY, M. et DE LA SOTA, R.L., 2014. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 97, n° 1, pp. 195-201.

MARKUSFELD, O., 1987. Periparturient traits in seven high dairy herds. Incidence rates, association with parity, and interrelationships among traits. *Journal of Dairy Science*. Vol. 70, pp. 158-166.

MARTINEZ, N., RISCO, C.A., LIMA, F.S., BISINOTTO, R.S., GRECO, L.F., RIBEIRO, E.S., MAUNSELL, F., GALVÃO, K. et SANTOS, J.E.P., 2012. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*. Vol. 95, n° 12, pp. 7158-7172.

MCART, A.A., NYDAM, D.V., OSPINA, P.A. et OETZEL, G.R., 2011. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *American Dairy Science Association*. Vol. 94, n° 12, pp. 6011-6020.

NGUYEN, M. T. A., FAVELYUKIS, S., NGUYEN, A.K., REICHART, D., SCOTT, P.A., JENN, A., LIU-BRYAN, R., GLASS, C.K., NEELS, J.G. et OLEFSKY, J. M., 2007. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via Toll-like receptors 2 and 4 and JNK-dependent pathways. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 282, n° 48, pp. 35279-35292.

- OETZEL, G. R., 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 20, n° 3, pp. 651-674.
- OSPINA, P.A., NYDAM, D.V., STOKOL, T. et OVERTON, T.R., 2010. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *Journal of Dairy Science*. Vol. 93, n° 2, pp. 546-554.
- OSPINA, P.A., MCART, J.A., OVERTON, T.R., STOKOL, T. et NYDAM, D.V., 2013. Using Nonesterified Fatty Acids and β -Hydroxybutyrate Concentrations During the Transition Period for Herd-Level Monitoring of Increased Risk of Disease and Decreased Reproductive and Milking Performance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 29, n° 2, pp. 387-412.
- PHILIPPE, P. et RABOISSON, D., 2012. Prévalence de la cétose subclinique dans les troupeaux bovins laitiers de l'Ouest de la France. *Renc. Rech. Ruminants*. Vol. 19, pp. 137.
- POTTER, T.J., GUITIAN, J., FISHWICK, J., GORDON, P.J., SHELDON, I.M., 2010. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*. Vol. 74, n° 1, pp. 127-134.
- QUIROZ-ROCHA, G.F., LEBLANC, S.J., DUFFIELD, T.F., JEFFERSON, B., WOOD, D., LESLIE, K.E. et JACOBS, R.M., 2010. Short communication: Effect of sampling time relative to the first daily feeding on interpretation of serum fatty acid and β -hydroxybutyrate concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. Vol. 93, n° 5, pp. 2030-2033.
- RABOISSON, D. et SCHELCHER, F., 2009. Critères diagnostiques des maladies métaboliques. *Le Point Vétérinaire*. Vol. 40, n° spécial : Les outils pour la visite d'élevage, pp. 109-115.
- ROCHE, J.R., FRIGGENS, N.C., KAY, J.K., FISHER, M.W., STAFFORD, K.J. et BERRY, D.P., 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*. Vol. 92, n° 12, pp. 5769-5801.
- RUPP, R. et BOICHARD, D., 2003. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research*. Vol. 34, n° 5, pp. 671-688.
- SALAT, O., 2005. Les troubles du péripartum de la vache laitière: risques associés et moyens de contrôle. *Bulletin Académique Vétérinaire*. 2005. Vol. 158, n° 2, pp. 153-160.
- SANTOS, T. M. A. et BICALHO, R. C., 2012. Diversity and Succession of Bacterial Communities in the Uterine Fluid of Postpartum Metritic, Endometritic and Healthy Dairy Cows. *PLoS ONE*. Vol. 7, n° 12, pp. 1-10.
- SCALIA, D., LACETERA, N., BERNABUCCI, U., DEMEYERE, K., DUCHATEAU, L. et BURVENICH, C., 2006. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. *Journal of dairy science*. Vol. 89, n° 1, pp. 147-154.
- SENOSY, W. S., IZAIKE, Y. et OSAWA, T., 2012. Influences of metabolic traits on subclinical endometritis at different intervals postpartum in high milking cows. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol. 47, n° 4, pp. 666-674.
- SHELDON, I.M., LEWIS, G. S., LEBLANC, S. et GILBERT, R. O., 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. Vol. 65, n° 8, pp. 1516-1530.

SHELDON, I. M., CRONIN, J., GOETZE, L., DONOFRIO, G. et SCHUBERTH, H.-J., 2009. Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle. *Biology of Reproduction*. Vol. 81, n° 6, pp. 1025-1032.

SINGH, J., MURRAY, R.D., MSHELIA, G. et WOLDEHIWET, Z., 2008. The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *The Veterinary Journal*. Vol. 175, n° 3, pp. 301-309.

SORDILLO, L. M. et AITKEN, S. L., 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 128, n° 1-3, pp. 104-109.

SORDILLO, L.M. et RAPHAEL, W., 2013. Significance of Metabolic Stress, Lipid Mobilization, and Inflammation on Transition Cow Disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 29, n° 2, pp. 267-278.

STER, C., LOISELLE, M.-C. et LACASSE, P., 2012. Effect of postcalving serum nonesterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of Dairy Science*. Vol. 95, n° 2, pp. 708-717.

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

TIZARD, I.R., 2009. *Veterinary Immunology: an introduction*. Noida : Elsevier. Missouri, ISBN : 978-1-4160-4989-0, 574 p.

VOYVODA, H. et ERDOGAN, H., 2010. Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research in Veterinary Science*. Vol. 89, n° 3, pp. 344-351.

WALSH, R.B., WALTON, J.S., KELTON, D.F., LEBLANC, S.J., LESLIE, K.E. et DUFFIELD, T.F., 2007. The Effect of Subclinical Ketosis in Early Lactation on Reproductive Performance of Postpartum Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. Vol. 90, n° 6, pp. 2788-2796.

WEILL, B. et BATTEUX, F., 2003. *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. Bruxelles : De Boeck. ISBN : 2-8041-4177-2, 312 p.

WIRA, C. R., GRANT-TSCHUDY, K. S. et CRANE-GODREAU, M. A., 2005. Epithelial cells in the female reproductive tract: a central role as sentinels of immune protection. *American Journal of Reproductive Immunology*. Vol. 53, n° 2, pp. 65-76.

ANNEXES

**Annexe 1 : Organigramme de la note d'état corporel : brochure
technique ELANCO**

Brochure technique Elanco

COMMENT

Un organigramme en 5 étapes* vous aide à assurer la cohérence et la reproductibilité de la note d'état corporel.

Organigramme de la note d'état corporel

Étape 1

Pour savoir si vous devez suivre les étapes illustrées à gauche ou à droite, placez-vous à côté de la vache et observez la région du bassin. Évaluez l'angle entre la hanche (flank) et la pointe de la fesse (section).



L'angle dessine un V



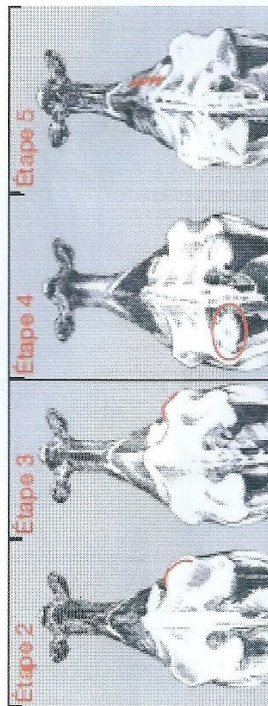
NEC ≤ 3



L'angle dessine un U



NEC > 3



Placez-vous derrière la vache.

- Étape 2** Si la machine est arrondie, NEC = 3,0.
- Étape 3** Si la machine est anguleuse, NEC < 2,75. Examinez la pointe de la fesse. Si elle est recouverte d'une couche de graisse, NEC = 2,75.
- Étape 4** Si la pointe de la fesse est anguleuse, NEC < 2,75. Si vous sentez de la graisse en palpant la pointe de la fesse, NEC = 2,50.
- Étape 5** Si il n'y a pas de graisse sur la pointe de la fesse, NEC < 2,50. Examinez les côtes. Examinez les côtes inférieures situées au niveau de la partie supérieure des côtes à mesure que la couche de graisse disparaît. Si vous observez des condyles sur la moitié de la distance entre le sommet des côtes et l'aine dorsale, NEC = 2,25. Si vous notez des condyles sur les deux tiers de la distance jusqu'à l'aine dorsale, NEC = 2,0. Si le trochantier est saillant et que la colonne vertébrale est en dents de scie, NEC < 2,0.

Consignez la note dans le « Formulaire de suivi de la note d'état corporel ».



Placez-vous derrière la vache.

- Étape 2** Si le ligament sacré et le ligament de l'attache de la queue sont visibles, NEC = 3,25.
- Étape 3** Si le ligament sacré est visible mais que le ligament de l'attache de la queue est à peine discernable, NEC = 3,00.
- Étape 4** Si le ligament sacré est à peine visible et que le ligament de l'attache de la queue n'est pas discernable, NEC = 2,75. Si on ne voit ni le ligament sacré, ni le ligament de l'attache de la queue, NEC < 2,50.
- Étape 5** Si le trochantier est plat, NEC > 4,0. Si le sommet des côtes est à peine visible, NEC = 4,25. Si le trochantier est plat et la pointe de la fesse arrondie, NEC = 4,0. Si la machine est à peine visible, NEC < 4,75. Si toutes les particularités ci-dessus sont arrondies, NEC = 5,0.

Consignez la note dans le « Formulaire de suivi de la note d'état corporel ».

Annexe 2 : Fiche récapitulative utilisée dans les élevages. Une
fiche par vache.

Elevage

N°identification	Code vache

1. Examen [14-3j] pré-partum	date	
-------------------------------------	------	--

Date IA fécondante	+ 270 jours	Date de tarissement	Rang lactation (lactation à venir)	Production lactation précédente

NEC table	NEC Cownote

Prélèvements 2 tubes secs AGNE

2^{ème} prélèvement 10 jours après Date : _____ AGNE

Vêlage

Date	Assistance (oui, non ; si oui de quel type)	Veau vivant (oui, non)	Sexe veau (F, M)

EXCLUSION	avortement <input type="radio"/>	césarienne <input type="radio"/>	mammite colibacillaire <input type="radio"/>
------------------	----------------------------------	----------------------------------	--

2. Examen [3-14j] post-partum	Intervalle		Date	
--------------------------------------	------------	--	------	--

Animal

NEC Table	NEC Cownote

Prélèvements

tube sec AGNE

tube hépariné Ca

BHB

3. Examen [21-35j] post-partum	Intervalle		Date	
---------------------------------------	------------	--	------	--

Commémoratifs

	Date	Traitement	Guérison
Mammite clinique			
Métrite [J0-J21]			

Animal

NEC table	NEC Cownote	Note mucus	Note d'aplombs

Prélèvements

- Frottis cervical
- Frottis endométrial
- Lait 4 quartiers

Taux cell DCC	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Résultats cytologie
 (% neutrophiles)



Traitement METRICURE : oui non

Date : _____

Elevage

N°identification	Code vache

Performances de reproduction - Appel éleveur

Date(s) IA	Résultat DG

Annexe 3 : Tableaux de contingence

VPP = Valeur Prédicative Positive ; VPN = Valeur Prédicative Négative ; Se = Sensibilité ; Sp = Spécificité

1. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE avant vêlage et du statut inflammatoire du col (n=93).

		Statut inflammatoire du col		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,17 mmol/L	Oui	11	26	37	VPP = 30%
	Non	10	46	56	VPN = 82%
Total		21	72	93	
		Se = 52%	Sp = 64%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,18					

2. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE avant vêlage et du statut inflammatoire de l'utérus (n=92).

		Statut inflammatoire de l'utérus		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,17 mmol/L	Oui	20	36	56	VPP = 36%
	Non	19	17	36	VPN = 47%
Total		39	53	92	
		Se = 51%	Sp = 32%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,106					

3. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE avant vêlage et du statut inflammatoire de l'appareil génital (n=92).

		Statut inflammatoire de l'appareil génital		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,17 mmol/L	Oui	21	15	36	VPP = 58%
	Non	24	32	56	VPP = 57%
Total		45	47	92	
		Se = 47%	Sp = 68%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,147					

4. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE après vêlage et du statut inflammatoire du col (n=93).

		Statut inflammatoire du col		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,35 mmol/L	Oui	9	37	46	VPP = 20%
	Non	12	35	47	VPN = 74%
Total		21	72	93	
		Se = 43%	Sp = 49%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,49					

5. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE après vêlage et du statut inflammatoire de l'utérus (n=92).

		Statut inflammatoire de l'utérus		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,35 mmol/L	Oui	21	24	45	VPP = 47%
	Non	18	29	47	VPN = 62%
Total		39	53	92	
		Se = 54%	Sp = 55%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,417					

6. Répartition des vaches en fonction de la concentration en AGNE après vêlage et du statut inflammatoire de l'appareil génital (n=92).

		Statut inflammatoire de l'appareil génital		Total	
		Inflammé	Sain		
[AGNE] ≥ 0,35 mmol/L	Oui	23	22	45	VPP = 51%
	Non	22	25	47	VPN = 53%
Total		45	47	92	
		Se = 51%	Sp = 53%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,68					

7. Répartition des vaches en fonction de la concentration en BHB après vêlage et du statut inflammatoire du col (n=118).

		Statut inflammatoire du col		Total	
		Inflammé	Sain		
[BHB] ≥ 1,1 mmol/L	Oui	9	51	60	VPP = 15%
	Non	18	40	58	VPN = 69%
Total		27	91	118	
		Se = 33%	Sp = 44%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,064					

8. Répartition des vaches en fonction de la concentration en BHB après vêlage et du statut inflammatoire de l'utérus (n=115).

		Statut inflammatoire du col		Total	
		Inflammé	Sain		
[BHB] ≥ 1,1 mmol/L	Oui	26	32	58	VPP = 45%
	Non	28	29	57	VPN = 51%
Total		54	61	115	
		Se = 48%	Sp = 48%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,64					

9. Répartition des vaches en fonction de la concentration en BHB après vêlage et du statut inflammatoire de l'appareil génital (n=115).

		Statut inflammatoire de l'appareil génital		Total	
		Inflammé	Sain		
[BHB] ≥ 1,1 mmol/L	Oui	28	30	58	VPP = 48%
	Non	33	24	57	VPN = 42%
Total		61	54	115	
		Se = 46%	Sp = 44%		
Probabilité calculée par le test du Chi ² : 0,30					

NOM : GROS

PRENOM :

LOUISE

TITRE : Impact du bilan énergétique sur l'inflammation génitale chez la vache laitière.

RESUME : L'objectif de cette étude est d'évaluer, sur le terrain, l'association entre les indicateurs du métabolisme énergétique et l'inflammation génitale chez la vache laitière afin de déterminer si la mesure de ces indicateurs par le praticien pourrait être un bon prédicteur.

La partie expérimentale de cette thèse a été réalisée sur 118 vaches laitières provenant de 10 élevages commerciaux. Aucun des indicateurs du métabolisme énergétique testés, à savoir la note d'état corporel, la concentration sérique en acides gras non estérifiés (AGNE) et la concentration sanguine en béta-hydroxybutyrates (BHB) ne sont apparus liés au statut inflammatoire de la vache, évalué par cytologie utérine et cervicale trois à quatre semaines après le vêlage.

MOTS CLES : endométrite – cervicite – inflammation – neutrophiles - note d'état corporel - AGNE – BHB – bilan énergétique

TITLE: Impact of metabolic status on genital health in dairy cows.

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate in the field the association between the serum metabolites and genital inflammation in dairy cows to determine whether the measurement of these indicators by the practitioner could be a good predictor of further occurrence of a genital inflammation.

The experimental section of this thesis has been performed on 118 dairy cows from 10 different commercial farms. None of the tested indicators of energy metabolism, ie body condition score, serum non-esterified fatty acids (NEFA) and beta-hydroxybutyrate (BHBA) blood levels appeared related to the genital inflammatory status of the cow, evaluated by uterine and cervical cytological three to four weeks after calving.

KEYWORDS: endometritis – cervicitis – inflammation – neutrophils – body condition score – NEFA – BHBA – energy balance