




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's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 24004

To cite this version:

Kerbiriou, Agathe . *Intérêt d'un outil de médecine de précision pour l'aide à la décision en santé mammaire et l'évaluation de l'état inflammatoire chez la vache laitière*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVV, 2018, 68 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

INTERET D'UN OUTIL DE MEDECINE DE PRECISION POUR L'AIDE A LA DECISION EN SANTE MAMMAIRE ET L'EVALUATION DE L'ETAT INFLAMMATOIRE CHEZ LA VACHE LAITIERE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

KERBIRIOU Agathe

Née, le 19 novembre 1994 à TOULOUSE (31)

Directeur de thèse : Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD

JURY

PRESIDENT :
M. Éric OSWALD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Sylvie CHASTANT-MAILLARD
M. Dominique BERGONIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :
Mme Claire SABY-CHABAN

Vétérinaire, Coopérative d'Insémination artificielle de Montauban (82)

REPARTITION DES ENSEIGNANTS PAR GRADE

(Mise à jour : 07/09/2018)

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE (6)

Mme	CLAUW Martine	SECTION C.N.E.C.A. N°8	
M.	CONCORDET Didier		3
M.	DELVERDIER Maxence		7
M.	ENJALBERT Francis		6
M.	PETIT Claude		1
M.	SHELCHER François		8

PROFESSEURS 1° CLASSE (17)

M	BAILLY Jean-Denis		4
M.	BERTAGNOLI Stéphane		1
M.	BERTHELOT Xavier		6
M.	BOUSQUET-MELOU Alain		7
M.	BRUGERE Hubert		10
Mme	CADIERGUES Marie-Christine		8
Mme	CHASTANT-MAILLARD Sylvie		6
M.	DUCOS Alain		6
M.	FOUCRAS Gilles		8
Mme	GAYRARD-TROY Véronique		7
M	GUERIN Jean-Luc		6
Mme	HAGEN-PICARD Nicole		6
M.	JACQUIET Philippe		8
M.	LEFEBVRE Hervé		7
M.	MEYER Gilles		8
M.	SANS Pierre		6
Mme	TRUMEL Catherine		7

PROFESSEURS 2° CLASSE (7)

Mme	BOULLIER Séverine		1
Mme	BOURGES-ABELLA Nathalie		7
M.	GUERRE Philippe		7
Mme	LACROUX Caroline		7
M.	MAILLARD Renaud		8
M	MOGICATO Giovanni		7
Mme	LETRON-RAYMOND Isabelle		7

PROFESSEUR CERTIFIE(P.C.E.A.)

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE (11)

M.	BERGONIER Dominique		6
Mme	DIQUELOU Armelle		8
M.	JAEG Jean-Philippe		7
M.	JOUGLAR Jean-Yves		8
M.	LYAZRHI Faouzi		3
M.	MATHON Didier		8
Mme	MEYNADIER Annabelle		6
Mme	PRIYMENKO Nathalie		6
M.	RABOISSON Didier		6
M	VERWAERDE Patrick		8
M.	VOLMER Romain		1

MAITRES DE CONFERENCES classe normale (24)

M.	ASIMUS Erik		8
Mme	BENNIS-BRET Lydie		7
Mme	BIBBAL Delphine		4
Mme	BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle		1
Mme	BOUHSIRA Emilie		8
M	CONCHOU Fabrice		8
M	CORBIERE Fabien		8
M.	CUEVAS RAMOS Gabriel		8
Mme	DANIELS Hélène		1
Mme	DAVID Laure		4
Mlle	DEVIERS Alexandra		7
M.	DOUET Jean-Yves		8
Mme	FERRAN Aude		7
Mme	LALLEMAND Elodie		8
Mme	LAVOUE Rachel		8
M.	LE LOC'H Guillaume		8
M	LIENARD Emmanuel		8
Mme	MILA Hanna		6
Mme	MEYNAUD-COLLARD Patricia		8
M.	NOUVEL Laurent		6
Mme	PALIERNE Sophie		8
Mme	PAUL Mathilde		6
M.	VERGNE Timothée		7
Mme	WASET-SZKUTA Agnès		6

A.E.R.C. (6)

Mme	BLONDEL Margaux		8
M.	CARTIAUX Benjamin		7
M.	COMBARROS-GARCIA Daniel		8
Mme	COSTES Laura		4
M.	GAIDE Nicolas		7
M.	JOUSSERAND Nicolas		8

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL (2)

Mme	DORE-BORDE Laura		8
M.	LEYNAUD Vincent		8

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Eric OSWALD

Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Plateau Technique Infectiologie - Laboratoire de Bactériologie-Hygiène

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse

Hommage respectueux.

A Madame le Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour son encadrement sur cette thèse,

Pour ses conseils précieux,

Pour son pragmatisme,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Dominique BERGONIER

Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour avoir accepté de rejoindre le jury de cette thèse,

Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Claire SABY-CHABAN

Vétérinaire du GDS du Tarn-et-Garonne

Pour son investissement et sa disponibilité tout au long de la réalisation de cette thèse,

Sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	5
LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES TABLEAUX	13
LISTE DES ABREVIATIONS.....	15
INTRODUCTION.....	17
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : La lactate-déshydrogénase.....	19
1 – La lactate-déshydrogénase dans l’organisme	19
1.1 – Structure de la LDH	19
1.2 – Fonctions de la LDH dans l’organisme	20
1.3 - Synthèse et régulation de la LDH : exemple du gène <i>LDHA</i>	22
1.4 - Méthodes de mesure de la LDH.....	24
2 – Intérêts médicaux de la mesure de la LDH	28
2.1 – La LDH en médecine humaine	28
2.2 – La LDH en médecine vétérinaire	29
ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	35
1 - Objectifs de l’étude expérimentale	35
2 - Matériels et méthodes	35
2.1 - Caractéristiques de l’exploitation	35
2.2 - Procédure expérimentale	36
2.3 – Qualification des vaches.....	40
3. Résultats et interprétations	41
3.1. Description de l’ensemble de l’échantillon étudié.....	41
3.2. Intérêt des alarmes mammites	50
3.3. Exploitation de la mesure de l’activité de la LDH	55
4. Discussion	58
4.1. Conditions expérimentales	58
4.2. Analyse des données	59
4.3. Bilan des résultats	60
CONCLUSION	63
BIBLIOGRAPHIE.....	65

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Composition des isotypes de LDH (Valvona et al, 2016).....	19
Figure 2 : Paramètres cinétiques des sous-unités H et M de la LDH chez l'homme et le porc.	20
Figure 3 : Réactions catalysées par la lactate déshydrogénase (Valvona et al, 2016)	21
Figure 4 : Affinité des différents isomères de LDH pour les réactions catalysées par l'enzyme (Valvona et al, 2016)	21
Figure 5 : Mécanisme de la glycolyse anaérobie, permettant d'obtenir 2 ATP à partir d'une molécule de glucose, tout en régénérant le NAD ⁺ nécessaire par le biais de la LDH (Valvona et al, 2016)	22
Figure 6 : Boucles de régulation de la transcription de <i>LDHA</i> par <i>HIF1</i>	23
Figure 7 : Absorption des substances catalysées par la LDH et calcul de son activité par mesure spectrophotométrique du NAD ⁺ formé (Koolman & Roehm, 2005)	25
Figure 8 : Principes de la spectrophotométrie et loi de Beer Lambert (Koolman & Roehm, 2005)	25
Figure 9 : Enchaînement de réactions menant à la formation de formazan (d'après Decker et al, 1988)	26
Figure 10 : Zymogramme obtenu après électrophorèse différentielle des isoenzymes de LDH (Bergmeyer et al, 1974)	27
Figure 11 : Mécanismes impliquant la LDH dans l'inhibition de l'apoptose des cellules tumorales (d'après Valvona et al, 2016)	29
Figure 12 : Bilan des mécanismes conduisant au passage de la LDH dans le lait, à l'échelle des alvéoles mammaires	30
Figure 13 : Mesures de l'activité de la LDH dans le lait (ronds vides), lissage dynamique de la courbe (trait continu) et traitements effectués (ronds pleins) chez une vache choisie aléatoirement dans l'élevage expérimental (Chagunda et al, 2006b).....	32
Figure 14 : Risque de mammite aiguë calculé par le modèle (trait pointillé et astérisques) et mammites objectivées cliniquement (ronds pleins) chez une vache (même individu que dans la Figure 13 ; Chagunda et al, 2006b)	32
Figure 15 : Comparaison de la répartition des isoenzymes dans les différents laits avec leur répartition dans les leucocytes par densitométrie (Kato et al, 1989)	33

Figure 16 : Description des effectifs étudiés.	36
Figure 17 : Bilan des critères d'inclusion et d'exclusion dans l'étude expérimentale.	38
Figure 18 : Nombre de sites inflammés par vache détectés lors de l'EC1 (n=295 vaches) ..	41
Figure 19 : Répartition de l'inflammation entre les différents sites examinés lors de l'EC1 (n=295).....	42
Figure 20 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 à moins de 21 jours post-partum (n=60 vaches).....	43
Figure 21 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 à plus de 21 jours post-partum (n=235 vaches)	43
Figure 22 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 en fonction du nombre de jours post-partum de la vache examinée	44
Figure 23 : Qualification de l'inflammation mammaire des vaches lors de l'EC1 (n=295)	44
Figure 24 : Distribution des délais entre alarme et EC1 selon l'état inflammatoire (présence d'au moins un site inflammé ou non)	45
Figure 25 : Répartition des délais entre EC1 et alarme selon l'état inflammatoire (n=295)...	46
Figure 26 : Variation du nombre de sites en inflammation entre l'EC1 et l'EC2, sur l'ensemble de l'échantillon examiné (n=295)	48
Figure 27 : Statut mammaire des vaches en alarme Mammite au 1er examen clinique (n=68).....	50
Figure 28 : Evolution des mammites entre les deux examens cliniques (p = 0,02)	51
Figure 29 : Présence et nature des mammites en fonction du Risque calculé par le logiciel le jour de l'alarme (p = 0,88).....	53
Figure 30 : Présence et nature des mammites en fonction du Risque calculé par le logiciel le jour de l'examen (p=0,74).....	53
Figure 31 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée dans le lait le jour de l'alarme (p = 0,18).	54
Figure 32 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée dans le lait le jour de l'examen (p = 0,12).	54
Figure 33 : Répartition des vaches présentant au moins un site inflammatoire (« inflammé ») et de celles ne présentant aucun site inflammatoire (« non inflammé ») selon la mesure de LDH le jour de l'examen (p = 0,07).	56

Figure 34 : Nombre de sites inflammatoires selon la mesure de LDH le jour de l'examen
($p = 7 \times 10^{-4}$).....57

Figure 35 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée
dans le lait le jour de l'examen chez les vaches dont l'activité de la LDH a dépassé 40 U/L
mais n'ayant pas déclenché d'alarme Mammite ($p = 0,002$).57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Gènes et protéines impliqués dans la régulation de l'expression du gène <i>LDHA</i> et de l'activité des sous-unités M chez l'homme (d'après Valvona et al, 2016)	24
Tableau 2 : Grille de notation du score vaginal chez les vaches à moins de 21 jours post-partum	38
Tableau 3 : Grille de notation utilisée du score vaginal chez les vaches à plus de 21 jours post-partum	39
Tableau 4 : Interprétation du CMT selon l'aspect du mélange obtenu par réaction du lait avec le Leucocyttest	39
Tableau 5 : Grille de notation de la note d'aplomb	39
Tableau 6 : Evolution du statut inflammatoire des vaches entre le 1 ^{er} examen clinique (EC1) et le second (EC2)	47
Tableau 7 : Part des différents systèmes examinés dans l'apparition ou la disparition de site inflammatoire lors du second examen clinique	49
Tableau 8 : Evolution du statut inflammatoire des différents systèmes examinés lorsque l'inflammation disparaît entre l'EC1 et l'EC2	49
Tableau 9 : Evolution du statut inflammatoire des différents systèmes examinés lorsqu'une inflammation apparaît entre l'EC1 et l'EC2	49

LISTE DES ABREVIATIONS

AGNE : acides gras non estérifiés

ARF : *additional risk factor*

ATP : adénine triphosphate

CCS : comptage de cellules somatiques

CMT : *Californian Mastitis Test*

DNS : *days to next sample*

EC1 : 1^{er} examen clinique

EC2 : 2nd examen clinique

FAD : flavine adenine dinucleotide sous forme oxydée

FADH₂ : flavine adenine dinucleotide sous forme réduite

HIF1 : *Hypoxia Induced Factor 1*

INT : *2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tétrazolium chloride*

K_m : constante de Michaelis

LDH : lactate déshydrogénase

MIBR : *mastitis indicator-based risk*

MTT : *3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2H-tétrazolium bromide*

NAD⁺ : nicotinamide adénine dinucléotide sous forme oxydée

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite

PMS : phénazine méthosulfate

ROS : réactifs oxygène

INTRODUCTION

Chez la vache laitière en période de transition (3 semaines avant et après le vêlage), une inflammation est physiologique. La vache doit en effet se défendre contre les bactéries colonisant son utérus et sa mamelle à la suite de la mise-bas. Cependant, au cours de cette période plusieurs facteurs peuvent vulnérabiliser la vache laitière, et conduire à un dérèglement de cette inflammation :

- stress social consécutif à un changement de lot
- déficit énergétique dû à une diminution de la capacité d'ingestion couplée à une augmentation des besoins énergétiques (fin de croissance foetale et début de production laitière)
- stress oxydatif dû à l'augmentation du métabolisme aérobie au début de la lactation, alors que les défenses anti-oxydantes sont diminuées, d'où une accumulation de réactifs oxygène (ROS) pouvant à terme léser les tissus.

L'inflammation initialement physiologique peut alors s'emballer et devenir dangereuse pour la vache : les médiateurs inflammatoires, toxiques pour les pathogènes, deviennent finalement délétères pour les tissus de la vache lorsqu'ils sont libérés en trop grande quantité. La période post-partum est donc une période à risque pour la vache laitière, car l'équilibre entre protection contre les pathogènes et inflammation trop sévère est délicat. Cela se traduit dans les faits par une plus grande vulnérabilité aux inflammations et aux infections génitales, mammaires, voire aux atteintes des pieds ou de l'état général (Chastant, 2017).

Plusieurs paramètres peuvent être mesurés pour évaluer les risques que l'inflammation devienne pathogène. Ainsi, les acides gras non estérifiés (AGNE) circulant dans le sang sont en plus grande concentration chez les vaches en déficit énergétique post-partum. Ils sont associés à une augmentation du risque de métrite et de mammite (Contreras et al, 2011). De même, les ROS, en activant le facteur de transcription NFκB, induisent la synthèse de nombreuses cytokines proinflammatoires, entraînant un risque élevé de réponse inflammatoire excessive. Plusieurs situations peuvent prédisposer à un taux de ROS élevé, parmi lesquelles on trouve une note d'état corporel trop élevée et les infections par des germes Gram -.

Depuis quelques dizaines d'années, un autre marqueur est utilisé pour détecter directement la présence d'une atteinte tissulaire : il s'agit de l'activité d'une enzyme, la lactate déshydrogénase (ou LDH). Un système associé à un robot de traite permet ainsi de mesurer le niveau d'activité de la LDH présente dans le lait afin de détecter les états inflammatoires, et plus particulièrement les mammites, constituant ainsi une aide à la décision pour l'éleveur concernant la santé mammaire de ses vaches laitières.

L'objectif de cette thèse est d'évaluer la spécificité de cette mesure pour la détection des mammites, en s'intéressant au système d'alarme signalant une mammite à l'éleveur, proposé par le système Herd Navigator™ (DeLaval, Tumba, Suède). En parallèle, on recherchera les éventuelles interactions que pourraient avoir des inflammations de sites différents de la mamelle (comme l'appareil génital par exemple) avec le déclenchement de ces alarmes.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : La lactate-déshydrogénase

L'originalité du système Herd Navigator™ et son logiciel Delpro, est qu'ils intègrent la mesure de l'activité d'une enzyme, la lactate-déshydrogénase (LDH) dans l'algorithme qui formule une alarme alertant l'éleveur d'un fort risque de mammite. Dans cette étude bibliographique, la structure, les fonctions et la synthèse de la LDH seront donc développées dans un premier temps, après quoi les principes de mesure de son activité seront détaillés. Ses intérêts dans la médecine humaine et vétérinaire feront l'objet d'une dernière partie.

1 – La lactate-déshydrogénase dans l'organisme

1.1 – Structure de la LDH

La lactate déshydrogénase est une enzyme cytoplasmique que l'on peut trouver dans la quasi-totalité des cellules vivantes, mais qui est particulièrement exprimée dans les cellules sanguines et cardiaques (Dixon & Webb, 1958). Il s'agit d'une enzyme tétramérique, composée de deux types de sous-unités (M pour Muscles, transcrit à partir du gène *LDHA* et H pour Heart, transcrit à partir du gène *LDHB*). Elle existe sous 5 isotypes, nommés LDH₁ à LDH₅ (**Figure 1**), présents dans des proportions variables selon le tissu concerné (Dufour et al., 2001), et qui sont différenciables par électrochromographie.

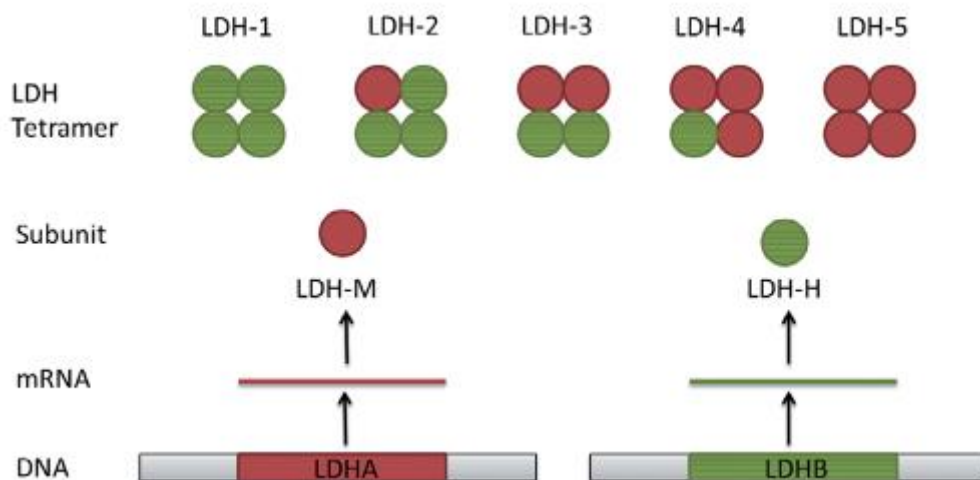


Figure 1 : Composition des isotypes de LDH (Valvona et al, 2016)

Quelle que soit la sous-unité, le site actif se compose de (Holmes & Goldberg, 2009) :

- l'histidine 193 qui peut prendre en charge un proton
- l'arginine 99 et l'asparagine 138 qui agissent comme coenzymes
- l'arginine 106, l'arginine 169 et la thréonine 248 qui permettent de lier le substrat.

Les isotypes de LDH se différencient par leur vitesse de catalyse (Valvona et al, 2016), dues à des charges de surface différentes ; les valeurs varient selon les espèces mais la tendance est que la sous-unité M a une constante de Michaelis (K_M , valeur de la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction enzymatique est égale à la moitié de la vitesse maximale) plus élevée que la sous-unité H, soit un K_M “maximal” pour la LDH-5 et “minimal” pour la LDH-1 (**Figure 2**, Read et al, 2001).

	Human		Pig	
	H ₄ -LDH	M ₄ -LDH	H ₄ -LDH	M ₄ -LDH
Steady-state k_{cat} (s ⁻¹)	143 ¹²	260 ¹¹	200 ²⁶	450 ³⁰
K_M pyruvate (mM)	0.058 ¹²	0.158 ¹¹	0.095 ²⁷	0.6 ³⁰
K_i pyruvate (mM)	0.77 ¹²	3.9 ¹¹	—	—
K_i NADH (μM)	0.53 ¹²	0.62 ¹¹	0.51 ²⁸	3.7 ²⁸
K_i NAD ⁺ (μM)	165 ¹²	198 ¹¹	300 ²⁸	500 ²⁸
K_i oxamate (mM)	0.0087 ¹²	0.026 ¹¹	0.027 ²⁹	0.15 ³⁰

LDH, lactate dehydrogenase.

¹Conditions of measurement used in references (superscript numbers) 11 and 12 were pH 6.0, 25°C, 20 mM Bis-Tris and 50 mM KCl; reference 26: pH 6.0–7.8, 20°C, 50 mM phosphate, 100 mM NaCl; reference 27: pH 8.0, 20°C, 100 mM phosphate; reference 28: pH 7.2, 20°C, 67 mM phosphate; reference 29: pH 7.0, 21°C, 100 mM phosphate; reference 30: pH 7.5, 23°C, 100 mM phosphate.

Figure 2 : Paramètres cinétiques des sous-unités H et M de la LDH chez l'homme et le porc. (Read et al, 2001)

Deux autres enzymes sont classées comme faisant partie des LDH : LDHC et LDHBx.

La LDHC est spécifique des tissus testiculaires. C'est un homoisomère de 4 sous-unités LDHC, elles-mêmes codées par le gène *LDHC*.

La LDHBx est une LDH spécifique des peroxysomes. Il s'agit d'une forme dérivée de la LDH-H, à la différence près que l'ARN LDHB est lu au-delà du premier codon stop, ce qui conduit à l'ajout de 7 acides aminés à la protéine et à son intégration au peroxysome (Schueren et al, 2014).

1.2 – Fonctions de la LDH dans l'organisme

Les LDH ont pour rôle principal la catalyse du lactate en pyruvate, et inversement (**Figure 3**), ainsi que du NAD⁺ (nicotinamide adénine dinucléotide sous forme oxydée) en NADH (nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite). Les sous-unités M ont une plus grande affinité pour le pyruvate, et vont donc plus facilement le catalyser en lactate - de même qu'elles vont plus facilement oxyder le NADH en NAD⁺. A l'opposé, les sous-unités H ont une plus grande affinité pour le lactate et catalyseront plus aisément les réactions opposées (lactate en pyruvate et NAD⁺ en NADH (Read et al, 2001)).

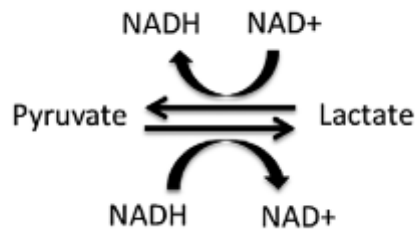


Figure 3 : Réactions catalysées par la lactate déshydrogénase (Valvona et al, 2016)

En d'autres termes, la LDH₁, plus riche en sous-unités H, va être la plus susceptible de catalyser la transformation du lactate en pyruvate, tandis que la LDH₅, au contraire, est la plus riche en sous-unités M et va plutôt catalyser la réaction opposée (**Figure 4**).

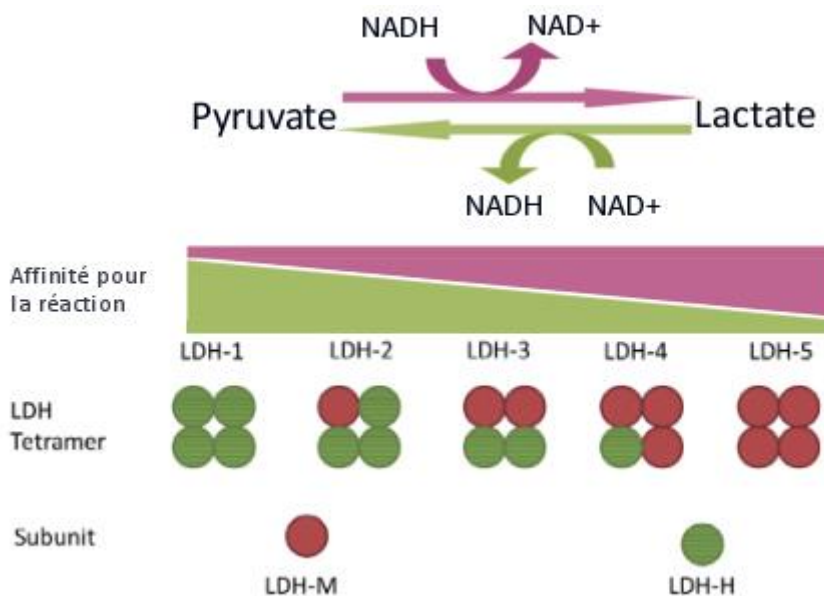


Figure 4 : Affinité des différents isomères de LDH pour les réactions catalysées par l'enzyme (Valvona et al, 2016)

Le pyruvate provient du glucose suite aux réactions de la glycolyse. Dans des conditions physiologiques, il entre ensuite dans le cycle de Krebs, qui se déroule dans les mitochondries et conduit à la formation d'acétyl-CoA, lui-même utilisé par la suite pour générer, en théorie, 36 molécules d'adénosine-triphosphate (ATP) par le biais de la phosphorylation oxydative. Ce mécanisme est cependant impossible lorsque la cellule manque d'oxygène. La glycolyse devient alors le principal mécanisme producteur d'ATP (2 ATP pour 1 molécule de glucose). Or la glycolyse nécessite du NAD⁺ pour fonctionner. Dans des conditions normales d'oxygénation, ce NAD⁺ est régénéré par la phosphorylation oxydative. Mais dans ce contexte de manque d'oxygène, c'est la LDH, et principalement ses

sous-unités M, qui permettent le renouvellement de NADH en NAD⁺ par la transformation du pyruvate en lactate (**Figure 5**).

Ce déficit cellulaire en oxygène peut se produire, par exemple, dans le cas d'effort musculaire. On observera alors une production de lactate importante dans les muscles squelettiques ; cette molécule rejoindra par la suite la circulation sanguine. Le foie et les reins vont alors absorber le lactate circulant et le convertir en pyruvate (lui-même converti ensuite en glucose) par la réaction inverse - catalysée en majorité par les sous-unités H de la LDH.

La LDH va également interagir avec plusieurs gènes et protéines, et intervenir ainsi dans la régulation de plusieurs mécanismes : transcription de certains gènes (gène *AUF1*, complexe alpha de l'ADN-polymérase), croissance, migration et angiogenèse de tumeurs ou encore dans l'apoptose (Valvona et al, 2016).

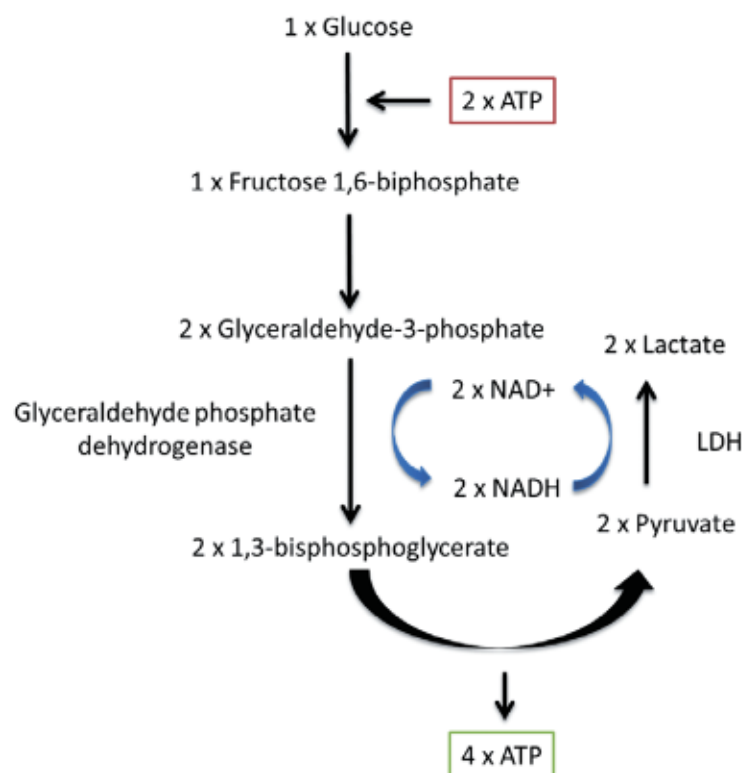


Figure 5 : Mécanisme de la glycolyse anaérobie, permettant d'obtenir 2 ATP à partir d'une molécule de glucose, tout en régénérant le NAD⁺ nécessaire par le biais de la LDH (Valvona et al, 2016)

1.3 - Synthèse et régulation de la LDH : exemple du gène *LDHA*

Comme pour toutes les enzymes, la quantité de LDH est contrôlée en amont par sa synthèse et en aval par le catabolisme protidique.

1.3.1 – Régulation de la transcription

Comme développé précédemment, la sous-unité M a une affinité plus élevée pour le pyruvate que pour le lactate. Dans des situations qui nécessitent une stimulation de la glycolyse - comme par exemple une hypoxie - le gène *LDHA* va donc être davantage transcrit afin de répondre au besoin en sous-unités M.

Ainsi, la transcription du gène *LDHA* dépend, entre autres, du facteur de transcription HIF1 (Hypoxia Induced Factor 1). HIF1 est un hétérodimère très instable en situation de normoxie, car la sous-unité α est dégradée par des prolyl-hydroxylases. En revanche, lors d'hypoxie, la sous-unité α peut s'associer à la sous-unité β pour former le facteur de transcription qui stimule plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme (dont *LDHA*), afin de permettre la survie de la cellule dans ces conditions hypoxiques (Firth et al, 1995). Il existe de plus une boucle d'autorégulation positive (Lu et al, 2005), car le lactate synthétisé par la LDH va avoir une action inhibitrice sur les prolyl-hydroxylases, même en situation de normoxie (**Figure 6**).

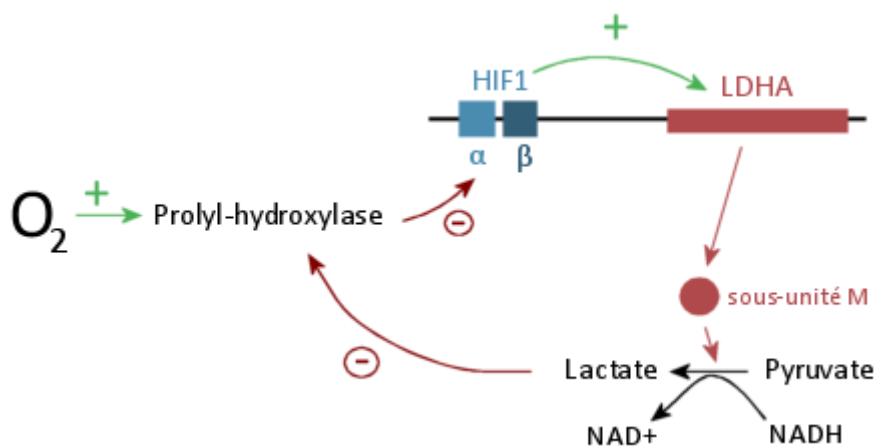


Figure 6 : Boucles de régulation de la transcription de *LDHA* par *HIF1*

1.3.2 – Régulation post-transcriptionnelle

Comme pour beaucoup d'enzymes, la régulation de la LDH passe également par la phosphorylation et l'acétylation de ses résidus d'acides aminés. Dans le cas des ARN *LDHA* (produits suite à la transcription du gène *LDHA*), la phosphorylation des résidus Y10 et Y83 va stimuler la catalyse du pyruvate en lactate en favorisant respectivement la forme homo-tétramérique et la liaison du NADH aux sous-unités (Fan et al, 2011). Au contraire, l'acétylation de l'ARN *LDHA* en K5 va favoriser sa dégradation (Zhao et al, 2013).

La régulation de la LDH fait ainsi intervenir des facteurs très variés (comme dans l'exemple du gène *LDHA*, voir **Tableau 1**), dont les rôles et les interactions ne sont pas encore tous connus.

Tableau 1 : Gènes et protéines impliqués dans la régulation de l'expression du gène *LDHA* et de l'activité des sous-unités M chez l'Homme (d'après Valvona et al, 2016).

Gène/Protéine	Mécanisme de régulation
HIF1	Régulation transcriptionnelle
C-Myc	Régulation transcriptionnelle
FOXM1	Régulation transcriptionnelle
KLF4	Régulation transcriptionnelle
cAMP	Régulation transcriptionnelle
Oestrogènes	Régulation transcriptionnelle
ErbB2	Régulation transcriptionnelle
Heat Shock Factor 1	Régulation transcriptionnelle
FGFR 1	Régulation post-transcriptionnelle
SIRT2	Régulation post-transcriptionnelle

1.4 - Méthodes de mesure de la LDH

Quelle que soit la méthode à laquelle on se réfère, la mesure de la LDH ne correspond pas à un dosage de l'enzyme elle-même, mais à une évaluation de son activité catalytique.

1.4.1 - La méthode de référence : la spectrophotométrie

La technique de mesure de référence pour la lactate déshydrogénase est la spectrophotométrie. En effet, lors de la transformation du lactate en pyruvate, du NADH est formé à partir de NAD⁺. Or, comme on peut le voir sur la **Figure 7**, NAD⁺ et NADH ont un spectre d'absorption différent. La zone d'intérêt se situe entre 300 et 400 nm, où l'absorption est nulle pour le NAD⁺ mais où le NADH présente un second pic d'absorption, lié au cycle nicotinamide. On note également que l'absorption est nulle pour le lactate et le pyruvate.

D'après la loi de Beer Lambert (**Figure 8**), l'absorption *A* est proportionnelle à la concentration *C* de la solution, à l'épaisseur *d* de substance traversée et à son coefficient d'absorption ϵ . L'activité *v* est définie comme le changement de concentration du produit de l'enzyme (ici NADH) au cours du temps, soit $\Delta C/\Delta t$. Or d'après la loi de Beer-Lambert :

$$\Delta A = \Delta C * \epsilon * d \text{ donc } \Delta C = \frac{\Delta A}{\epsilon * d} \text{ ce qui donne une activité } v = \frac{\Delta A}{\Delta t * \epsilon * d}$$

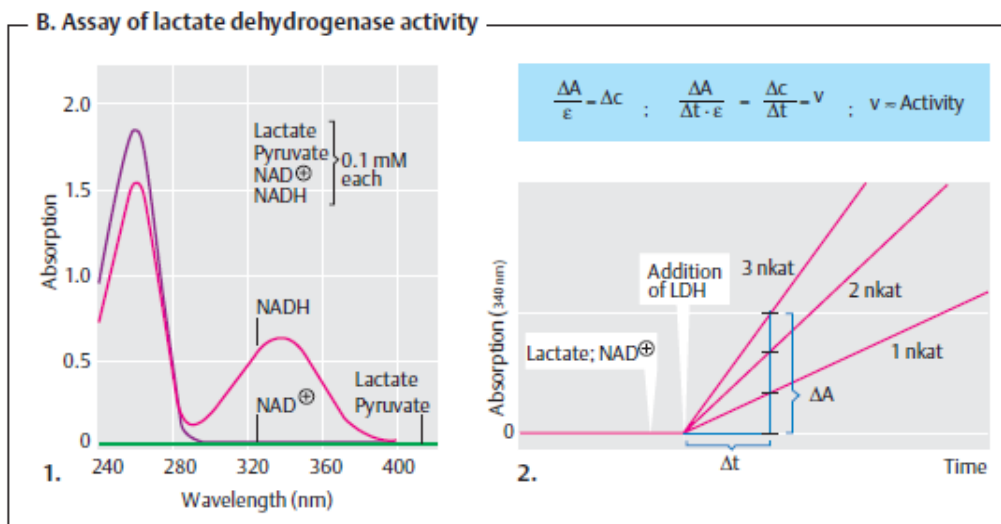


Figure 7 : Absorption des substances catalysées par la LDH et calcul de son activité par mesure spectrophotométrique du NAD⁺ formé (Koolman & Roehm, 2005)

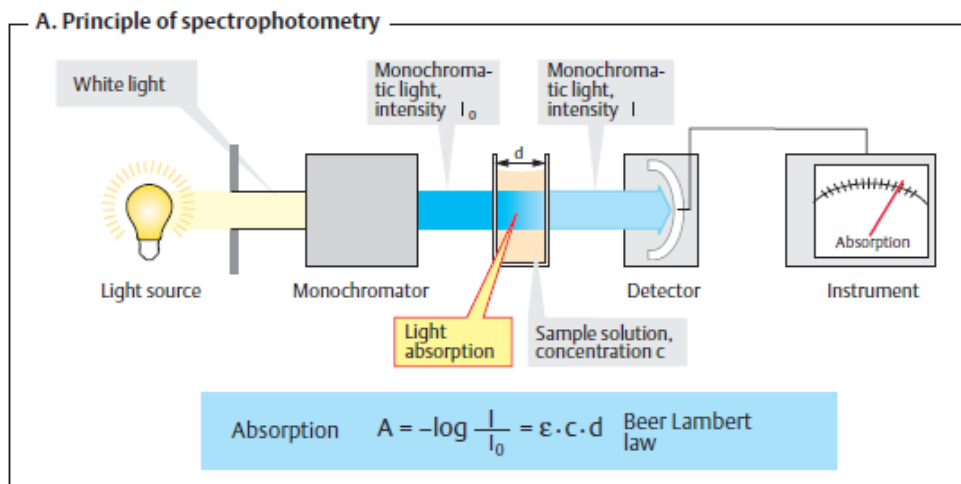


Figure 8 : Principes de la spectrophotométrie et loi de Beer Lambert (Koolman & Roehm, 2005)

Cette méthode est applicable à la mesure de l'activité de la LDH sérique. Ainsi, le sérum est mélangé à une quantité connue de NADH. Le mélange réagit pendant un temps défini, pour que le pyruvate du sérum soit consommé. Une quantité définie de pyruvate est ensuite ajoutée, et la disparition du NADH est mesurée par spectrophotométrie selon la méthode décrite précédemment (Wroblewski & LaDue, 1955).

La réaction opposée (catalyse de lactate en pyruvate et de NAD⁺ en NADH) peut également être utilisée, mais les tests utilisant cette réaction sont moins fiables (Amador et al, 1963).

1.4.2 - Autres méthodes de mesure

Une méthode alternative de mesure consiste à utiliser la fluorimétrie. Les molécules de NADH formées lors de la conversion du lactate en pyruvate présentent en effet une fluorescence propre (Lakowicz et al, 1992) : en solution, elles présentent un pic d'émission à 460 nm, avec une durée de vie à l'état excité de 0,4 ns. Une méthode de mesure plus récente, par ailleurs commercialisée sous forme de kits de test (<https://www.abcam.com/lactate-dehydrogenase-ldh-assay-kit-fluorometric-ab197000.html>), consiste à utiliser le NADH produit pour réduire une molécule non fluorescente en une molécule à fluorescence élevée, puis à mesurer cette dernière. Cette méthode implique l'ajout d'une enzyme catalysant cette réaction.

A titre d'exemple, Larsen (2005) a montré qu'il était possible d'utiliser la résazurine (une molécule non fluorescente) et d'exploiter sa catalyse par la diaphorase (enzyme utilisant le NADH) en résorufine, une molécule hautement fluorescente. L'étude de la fluorescence permettra de déduire la quantité de NADH initialement disponible, et donc l'activité de la LDH en amont.

Une autre méthode, décrite par Sulaiman et al. en 2014, consiste à évaluer la formation du NAD⁺ par polarographie à impulsion différentielle. L'étude a montré qu'en utilisant une électrode Ag-AgCl et une solution tampon de pyrophosphate (pH 7,5), à laquelle était ajoutée 0.1 ml de sérum, un pic polarographique bien défini apparaissait à -1.1 V. La sensibilité et la spécificité du test étant élevées, il serait donc applicable en médecine.

Enfin, plusieurs méthodes de mesure colorimétriques existent, mais sont aujourd'hui plus anecdotiques car remplacées par des méthodes plus fiables. A titre d'exemple, le NADH peut être mesuré par la formation de formazan (Decker et al, 1988). Dans ce test, le NADH formé lors de la conversion du lactate en pyruvate est utilisé par la diaphorase pour former du FADH₂ (forme réduite de la flavine adénine dinucléotide) à partir de FAD (forme oxydée). Le FADH₂ va alors transférer des électrons à l'INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride), un sel de tétrazolium, ce qui donnera du formazan (**Figure 9**). La couleur rouge du formazan pourra être observée, mais aussi mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 490 nm.

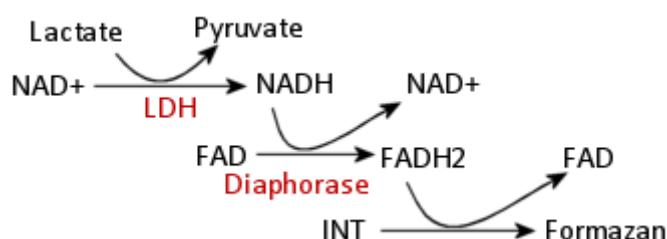


Figure 9 : Enchaînement de réactions menant à la formation de formazan (d'après Decker et al, 1988)

Une autre méthode colorimétrique consiste à ajouter du pyruvate dans le liquide biologique testé, puis à mesurer le pyruvate restant après réaction avec la LDH (Cabaud & Wroblewski, 1958). Afin de doser le pyruvate restant, de la dinitrophenyldrazine est ajoutée au mélange. Elle va inhiber la LDH et réagir avec le pyruvate pour former du pyruvate-dinitrophenylhydrazone qui, mis en contact avec une base, va donner un composé coloré. Ainsi, moins la LDH est active, plus le résidu de pyruvate sera important, et donc plus la solution sera colorée. Cette méthode a cependant été démontrée peu fiable, car le NAD⁺ formé lors de la réaction est aussi à l'origine de la coloration (Amador et al, 1963).

1.4.3 - Différenciation des isoenzymes

Du fait de leur composition différente en sous-unités, les isoenzymes de la LDH peuvent être séparées par électrophorèse. Plusieurs kits de test existent et sont commercialisés. A titre d'exemple, le kit des laboratoires Iatron (Tokyo, Japon) utilise un cellogel, et effectue l'électrophorèse à l'aide d'un tampon de barbital (pH 8,6), à 1mA/cm pendant 1 heure. Les zymogrammes de LDH sont détectés à l'aide Tris/Cl (pH 7,4), de lactate de lithium, de β -NAD, de phénazine méthosulfate (PMS) et d'un sel de tétrazolium, le MTT (3-(4,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphényl-2H-tétrazolium bromide), qui permet la coloration des différentes bandes suivant un concept similaire à celui décrit dans la **Figure 9**. Les zymogrammes (**Figure 10**) sont ensuite scannés et analysés (Kato et al, 1989).

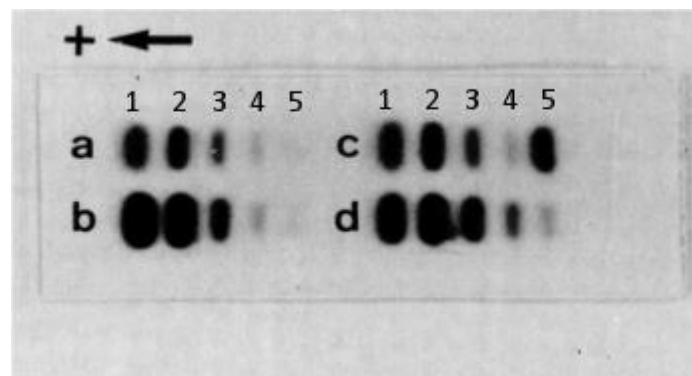


Figure 10 : Zymogramme obtenu après électrophorèse différentielle des isoenzymes de LDH (Bergmeyer et al, 1974)

D'autres méthodes de séparation des isoenzymes existent, mais sont plus anecdotiques et rarement utilisées en routine (Fogh-Andersen et al, 1982) :

- séparation des isoenzymes par la DEAE-Sephadex A-50, qui adsorbe les isoenzymes 1 et 2 mais laisse les autres en solution ; la mesure se fait par spectrophotométrie avant et après ajout de DEAE, ce qui permet de déduire la quantité de groupes d'isoenzymes (mais pas de chaque isoenzyme séparément) ;
- séparation des enzymes par réaction différentielle avec le 2-oxobutyrate (la LDH₁ étant plus active que la LDH₅ en présence de ce métabolite) ;
- inhibition différentielle par l'urée (LDH₅ plus inhibée que LDH₁) ou par l'oxalate (LDH₁ plus inhibée que LDH₅).
- mesure de la LDH1 après inhibition immunologique (anticorps anti-sous-unité M) des autres isoenzymes

2 – Intérêts médicaux de la mesure de la LDH

2.1 – La LDH en médecine humaine

En médecine humaine, la mesure de la LDH sérique est un examen complémentaire qui peut être prescrit dans de nombreuses situations. Comme vu précédemment, la LDH est présente dans tous les tissus, c'est pourquoi la mesure de son activité - ou de celle de ses isoenzymes - peut permettre de mettre en évidence une souffrance tissulaire, quelle qu'elle soit. Cet examen sera par exemple prescrit en cas d'anémie, afin de rechercher une éventuelle hémolyse (la LDH étant très active dans les globules rouges, une destruction de ces cellules fera fortement augmenter l'activité sérique de la LDH). Cependant, la mesure de la LDH seule est peu spécifique : elle ne permet pas d'identifier le tissu responsable de l'augmentation observée. La mesure des isoenzymes pourrait permettre de préciser le diagnostic, les pourcentages d'isoenzymes étant variables selon les types de cellules concernées. Cependant, elle ne sera probablement pas aussi fiable que d'autres marqueurs plus spécifiques (comme l'urémie pour les reins, par exemple). Les valeurs usuelles de l'activité de la LDH dans le sang se situent entre 75 et 217 UI/L avec la méthode de Wroblewski (Chernecky et al, 2007).

La mesure de LDH sérique est intéressante en cas de suspicion d'infarctus du myocarde. En effet, l'isoenzyme LDH₁ est prédominante dans le muscle cardiaque, tandis que la LDH₂ est prédominante dans le sérum. Une augmentation de la proportion de LDH₁ dans le sérum est donc évocatrice d'une lésion du myocarde. Ainsi, la mesure de la LDH₁, ainsi que le rapport LDH₁/LDH_{totale} permettrait de diagnostiquer un infarctus aigu du myocarde avec une spécificité de 95% et une valeur prédictive positive de 86% (Weidner, 1982). De plus, la mesure de l'activité de l'isoenzyme LDH₁ 2 à 3 jours après l'infarctus permettrait de préciser le pronostic (Fogh-Andersen et al, 1982). En routine, ce test a cependant été plus récemment remplacé par la mesure de la troponine, plus sensible et spécifique.

Du fait de sa libération dans le sérum lors de destruction des tissus, la mesure de l'activité de la LDH est également utilisée dans le suivi de maladies dégénératives, comme par exemple la maladie d'Alzheimer (Bigl et al, 1999). En outre, la présence de cellules anormales et dégénératives a été associée à un métabolisme glucidique modifié, c'est-à-dire à une préférence pour la voie anaérobie, qui implique une expression augmentée de la LDH. Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, les neurones, affectés par la présence de plaques amyloïdes, vont entamer un processus d'apoptose, qui entraîne une modification du métabolisme glucidique et donc de l'activité de la LDH.

Enfin, des études plus récentes ont montré un fort intérêt du suivi de la LDH dans le cadre des cancers. En effet, les cellules cancéreuses privilégient la glycolyse anaérobie même en présence d'oxygène ; la LDH y est ainsi surexprimée. De plus, la LDH va également jouer un rôle favorisant dans l'angiogenèse (Kolev et al, 2008), la prolifération (Grimm et al, 2013), l'hypoxie dans la région tumorale (Semenza et al, 1996), ainsi que dans la résistance à la chimiothérapie (Koukourakis et al, 2011) et à la radiothérapie (Koukourakis et al, 2014). Elle va également empêcher l'apoptose des cellules cancéreuses (**Figure 11**). En conséquent, son niveau d'activité sera un indicateur pronostique négatif. Pour ces raisons, l'inhibition de

la LDH est une voie de traitement envisagée dans plusieurs études, par exemple par l'oxamate (qui empêche la conversion du pyruvate en lactate, mais nécessite des doses importantes pour pénétrer les cellules) ou la galloflavine (Valvona et al, 2016).

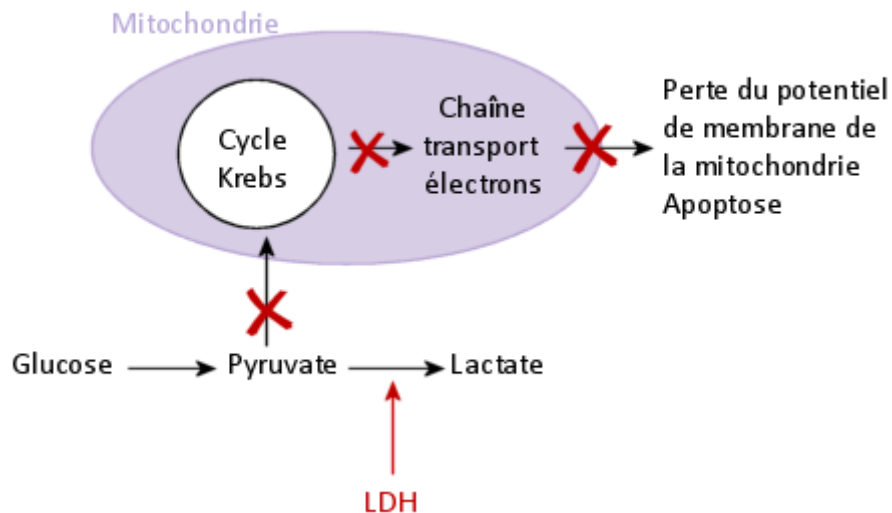


Figure 11 : Mécanismes impliquant la LDH dans l'inhibition de l'apoptose des cellules tumorales (d'après Valvona et al, 2016)

2.2 – La LDH en médecine vétérinaire

2.2.1 – Origine de la LDH dans le lait

Chez les vaches laitières, que l'on se trouve en situation physiologique ou non, la LDH se détecte en quantités variables dans le lait. Cette présence se justifie par deux mécanismes.

Le premier est la destruction des cellules épithéliales et interstitielles de la mamelle par nécrose ou apoptose. La LDH, qui est présente dans le cytoplasme, va en effet passer rapidement dans la matrice extra-cellulaire (et donc dans le lait) lors de lésion de la membrane cellulaire (Zhao et al, 2007).

Le second phénomène expliquant la détection de LDH dans le lait est la présence de cellules somatiques, et plus précisément de leucocytes. Lors de souffrance du tissu mammaire, des granulocytes vont être attirés, et pourront passer dans le lait par une diminution de perméabilité de la barrière sang-lait. De plus, si l'inflammation devient chronique, des lymphocytes s'ajouteront également au comptage cellulaire (Kato et al, 1989). En raison de cette augmentation de la perméabilité, l'hypothèse d'un passage passif de la LDH sérique dans le lait peut également être émise.

Ces phénomènes peuvent se produire, à faible bruit, en situation physiologique ; lors des premiers jours de lactation notamment, les comptages cellulaires dans le lait sont plus importants, d'où des taux de LDH qui peuvent être physiologiquement élevés (Chagunda et al, 2006a). Cependant, c'est en cas de mammite, et donc d'inflammation de la mamelle - majoritairement suite à la présence de bactéries - que l'on observera les taux de LDH dans

le lait les plus élevés. En effet, les toxines bactériennes vont entraîner une destruction des cellules épithéliales et interstitielles, qui vont donc libérer leur LDH cytoplasmique (Zhao et al, 2007). De plus, certaines cellules épithéliales vont se détacher et passer dans le lait.

L'augmentation de la perméabilité de la barrière lait-sang va également entraîner le passage dans le lait de nombreux leucocytes, où la LDH est très active. L'ensemble de ces phénomènes va donc contribuer à l'augmentation significative du taux de LDH dans le lait (**Figure 12**).

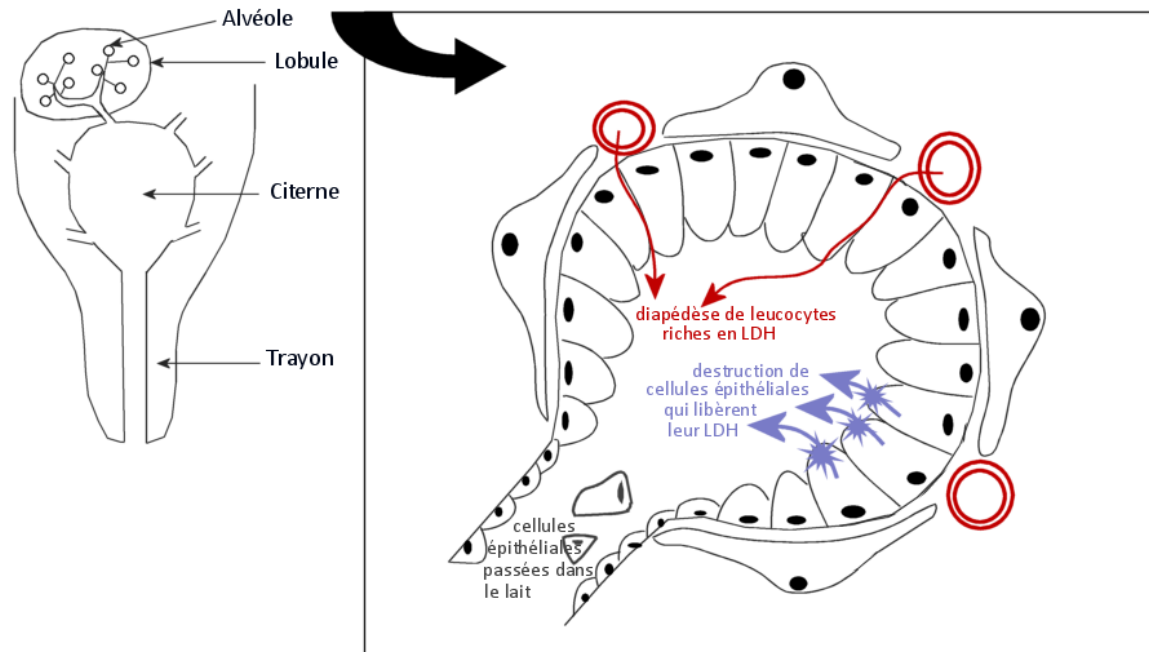


Figure 12 : Bilan des mécanismes conduisant au passage de la LDH dans le lait, à l'échelle des alvéoles mammaires

2.2.2 – Mesure de la LDH dans le lait

Les méthodes de spectrophotométrie décrites dans le paragraphe 1.4 sont directement applicables à la mesure de l'activité de la LDH dans le sérum, ainsi que dans la majorité des fluides biologiques. La mesure dans le lait pose cependant des problèmes d'application. En effet, la crème du lait est constituée de gouttelettes lipido-protéiques qui entraînent une réflexion de la lumière et empêchent donc les mesures spectrophotométriques sur le lait entier.

La solution afin de contourner cet obstacle est la centrifugation du lait entier pour effectuer l'analyse sur le surnageant, moins gras et moins opaque que le lait entier. Le lait est écrémé par centrifugation à 2000 g pendant 15 minutes. Le lait écrémé est ensuite mélangé en quantités égales avec de l'eau distillée (500µL de chaque solution), puis centrifugé à 5000 g pendant 40 minutes, de manière à obtenir un sérum légèrement opalescent, sur lequel la spectrophotométrie classique a pu être utilisée (Hambitzer et al, 1987).

La méthode de mesure fluorimétrique décrite dans le paragraphe 1.4.2 se montre cependant supérieure aux autres méthodes pour le dosage dans le lait, car elle peut s'effectuer sans pré-traitement du lait, c'est-à-dire directement sur lait entier (Larsen, 2005), ce qui est synonyme d'une analyse beaucoup plus rapide, mais également plus fiable (le lactosérum obtenu par centrifugation pour la mesure spectrophotométrique n'étant pas parfaitement translucide).

2.2.3 – Application à des modèles de détection des mammites

En 1973, Bogin & Ziv ont observé une nette augmentation de l'activité de la LDH dans le lait (multipliée par 12 à 18) sur des vaches infectées expérimentalement par des endotoxines de bactéries à l'origine de mammites. L'augmentation de l'activité durait 150 heures après la contamination et était corrélée avec les résultats des CMT (Californian Mastitis Test). En 1974, Symons & Wrights confirment l'activité élevée de la LDH dans le lait après mise en contact avec une exotoxine. En 1976, Bogin et al. montrent que le tissu mammaire montre également une activité de LDH augmentée pendant une mammite aiguë. En outre, Sommer et al. démontrent en 1986 une corrélation positive entre l'activité de la LDH et les comptages cellulaires dans le lait contaminé par des bactéries pathogènes (par opposition à une contamination par des bactéries non pathogènes), ce qui implique une bonne spécificité du test. Kato et al. (1989) montrent ensuite que les leucocytes sont également impliqués dans l'augmentation de l'activité de la LDH dans le lait. Enfin, en 1998, Zank & Schlatter évaluent les paramètres du lait qui pourraient permettre de détecter les mammites, en comparant notamment les concentrations des différents électrolytes, les activités de la LDH et de la NAGase, ainsi que les comptages de cellules somatiques (CCS). Leur conclusion est que la LDH est un indicateur au moins aussi fiable que la NAGase (paramètre privilégié jusque-là), en particulier s'il est combiné aux dosages de Na^+ et Cl^- .

En conséquent, plusieurs études ont créé et mis à l'épreuve des modèles permettant de détecter les mammites mais aussi d'en déterminer le risque à partir des mesures de l'activité de la LDH dans le lait. Chagunda et al (2006b), par exemple, couplent les mesures de LDH et d'autres facteurs pour déterminer le risque de mammite aiguë (*AcuteRisk*) et le degré de mammite chronique (*ChronDeg*) d'une vache donnée. Le modèle permet également de connaître le moment conseillé pour effectuer l'échantillon de lait suivant (DNS : *days to next sample*). Le calcul se base ainsi sur deux familles de facteurs :

- les facteurs liés à la mesure de LDH (MIBR : *mastitis indicator-based risk*)
 - activité de la LDH, mesurée dans le lait
 - production laitière : en cas de mammite, il est courant qu'un seul quartier soit touché, auquel cas il produit souvent moins de lait ; le lait concerné par l'augmentation de LDH est alors "dilué" dans le lait normal, c'est pourquoi la mesure de LDH est ramenée à la production totale
 - lissage dynamique de l'activité de la LDH : afin de limiter l'impact de mesures invraisemblables, un algorithme permet de lisser les mesures de LDH en les comparant aux mesures précédentes et suivantes (**Figure 13**).
 - la tendance sous-jacente de LDH : permet de déterminer les mammites aiguës, où les augmentations de LDH sont brutales et rapides, des mammites chroniques, où l'augmentation se fait de manière progressive
- les facteurs extérieurs à la LDH (ARF : *additional risk factors*)
 - conductivité du lait

- nombre de jours de lactation, parité (nombre de lactations)
- caractéristiques du troupeau, race
- caractéristiques de la mamelle
- autres maladies : métrite, blessure au niveau des trayons, acidose, cétose, fièvre de lait, non-délivrance

Le risque de mammite aiguë ainsi calculé (compris en 0 et 1) permet de formuler des alertes lorsqu'il est élevé. L'étude a choisi un seuil arbitraire de 0,7 pour classer le résultat obtenu en mammite aiguë ou non (**Figure 14**). La sensibilité du test ainsi obtenu a été évaluée à 82% et sa spécificité à 99% (Chagunda et al, 2006b).

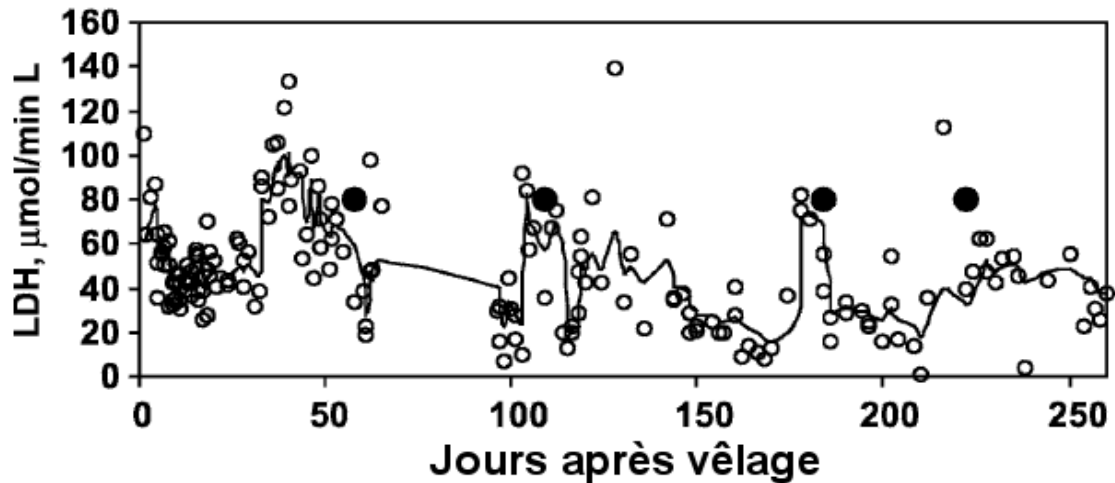


Figure 13 : Mesures de l'activité de la LDH dans le lait (ronds vides), lissage dynamique de la courbe (trait continu) et traitements effectués (ronds pleins) chez une vache choisie aléatoirement dans l'élevage expérimental (Chagunda et al, 2006b)

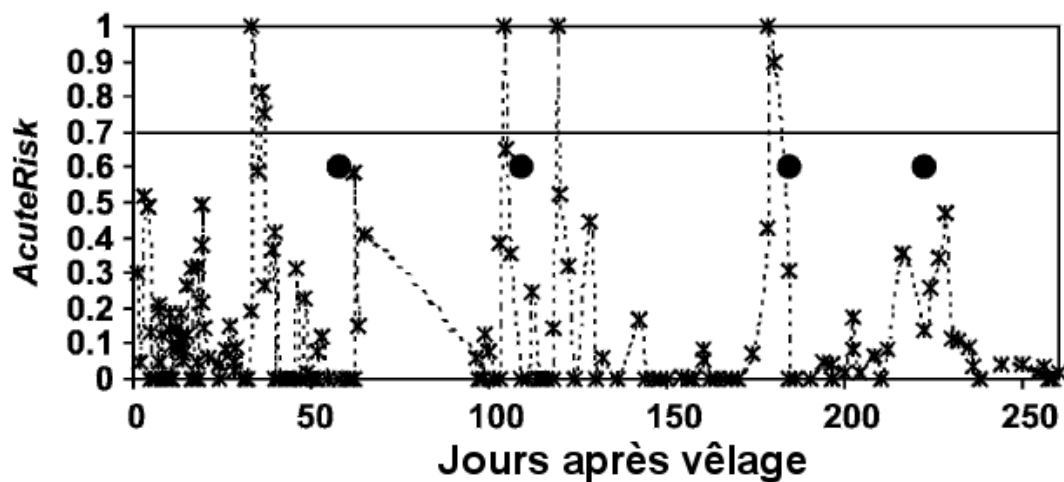


Figure 14 : Risque de mammite aiguë calculé par le modèle (trait pointillé et astérisques) et mammites objectivées cliniquement (ronds pleins) chez une vache (même individu que dans la Figure 13 ; Chagunda et al, 2006b)

En 1989, Kato et al ont exploré une autre méthode pour différencier les mammites aiguës des mammites chroniques, en mesurant les activités des iso-enzymes de LDH présents dans le lait. Leur étude, conduite sur 32 échantillons de lait, a permis de séparer trois groupes :

- les échantillons sains, sans bactérie, avec comptage cellulaire bas et faible activité de la LDH ($78,3 \pm 17,5$ U/mL) ; l'isoenzyme 1 est largement prédominante
- les laits de mammité, où des bactéries sont détectées et où les comptages cellulaires sont élevés, mais qui présentent deux profils distincts :
 - les laits A présentent une forte élévation de l'activité de la LDH (entre 5000 et 11000 U/mL) avec des isoenzymes 1 et 2 très prédominantes, tandis que les isoenzymes 3 à 5 ont une faible activité ; ce sont les laits de mammité aiguë
 - les laits B présentent une élévation moins marquée de l'activité de la LDH (160 à 350 U/mL), et c'est cette fois l'ensemble des isoenzymes qui sont plus actives que dans le lait normal ; il s'agit de laits de mammité chroniques.

Cette séparation en deux groupes selon les isoenzymes majoritaires s'explique par la nature des cellules présentes dans le lait, à l'origine de la LDH mesurée. En effet, dans les laits A, les isoenzymes les plus actives sont la LDH₁ et la LDH₂. Or cette répartition de l'activité des isoenzymes est la même dans les granulocytes (**Figure 15**). On explique donc cette ressemblance par une grande présence de granulocytes dans les laits A, ce qui est compatible avec une mammité aiguë. Dans le groupe B en revanche, la répartition des isoenzymes est proche de celle des lymphocytes - ou à un mélange lymphocytes-granulocytes – ce qui est compatible avec une mammité chronique.

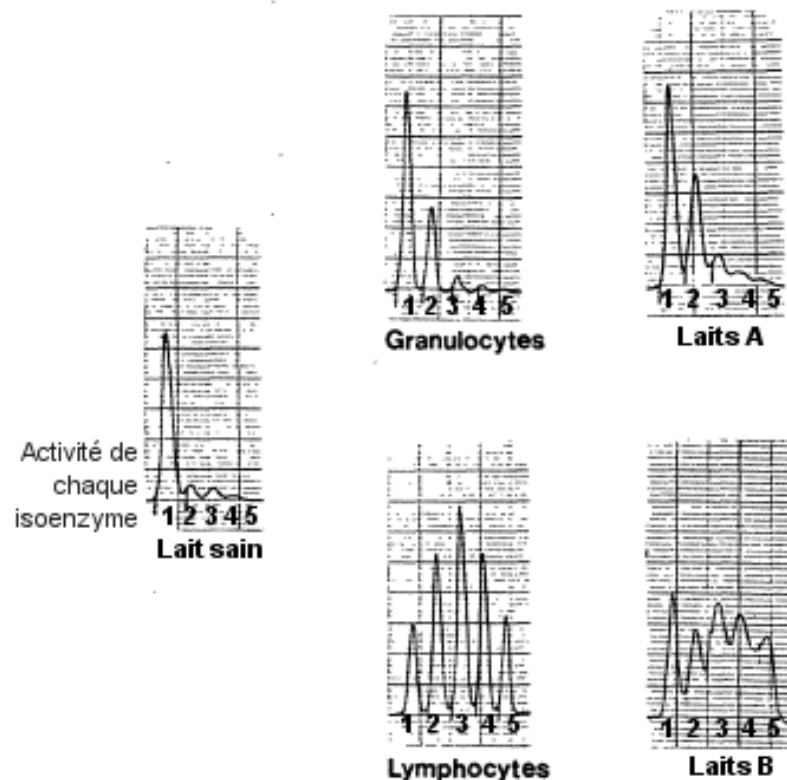


Figure 15 : Comparaison de la répartition des isoenzymes dans les différents laits avec leur répartition dans les leucocytes par densitométrie (Kato et al, 1989)

La lactate-déshydrogénase est donc une enzyme cytoplasmique tétramérique peu spécifique, dans le sens où elle est présente dans toutes les cellules de l'organisme. Sa fonction principale, la réduction du pyruvate en lactate, lui donne une place de choix dans le métabolisme énergétique de la cellule, ce qui se traduit sur le plan pratique par des variations d'activité en cas de modifications tissulaires – qu'elles soient liées à une inflammation, une dégénérescence ou le développement d'une tumeur. De ce fait, la mesure de son activité a divers intérêts en médecine humaine mais aussi vétérinaire. Son utilité dans la détection des mammites a ainsi été démontrée dans plusieurs études, malgré les difficultés induites par la mesure dans le lait : la méthode fluorimétrique est de ce fait favorisée par rapport à la méthode spectrophotométrique, plus répandue en médecine humaine ou sur des supports biologiques non réfléchissants, comme le sérum.

L'étude expérimentale s'intéresse donc à l'utilisation de ces résultats par un système développé par Delaval, Herd Navigator™. Il s'agit d'un laboratoire couplé à un système de traite et dosant plusieurs paramètres dans le lait (et notamment l'activité de la LDH) pour émettre une « alarme mammité » (ainsi qu'un pourcentage de risque). Les questions posées par cette étude sont donc les suivantes :

- quelle est la valeur prédictive positive de ces alarmes ?
- la détection du risque de mammité n'est-elle pas trop précoce pour une confirmation par le vétérinaire traitant, et donc la mise en place d'un traitement ?
- une valeur de LDH élevée dans le lait signifie-t-elle la présence d'une inflammation (mammaire ou non) ?
- les vaches ayant une valeur de LDH élevée doivent-elles donc être surveillées plus attentivement par l'éleveur, même en dehors de leur santé mammaire ?

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Les robots de traite VMS® DeLaval fonctionnent avec un bras à commande hydraulique et un système de visualisation des trayons composé d'une caméra optique couplée à deux lasers. Il gère ainsi le pré-trempe, la traite et le post-trempe, tout en distribuant aux vaches une portion de leur ration. Au-delà du confort et du gain de temps générés pour l'éleveur, le robot permet un suivi global du troupeau, mais aussi un contrôle individuel grâce à plusieurs indicateurs mesurés par la station (poids de l'animal, quantité de lait produite ...) ou directement dans le lait (progestérone, LDH, conductivité) et ce, à chaque passage de l'animal dans la station de traite.

Couplé à ce robot, le logiciel Herd Navigator™ (DeLaval) analyse les données ainsi obtenues pour fournir à l'éleveur une gestion simplifiée de son troupeau. Cela passe notamment par des alarmes signalant des situations critiques tant du point de vue de la santé mammaire (*Mammite, État Inflammatoire*) que de la reproduction (*Chaleurs, Kyste Folliculaire, Kyste Lutéal, Anœstrus Prolongé*) ou d'affections générales (*Cétose*).

1 - Objectifs de l'étude expérimentale

L'objectif de cette thèse expérimentale était de déterminer la fiabilité et la précocité des alarmes Mammite et État inflammatoire données à l'éleveur par le système Herd Navigator™, couplé au logiciel Delpro, sur la base des paramètres mesurés dans le lait (en particulier la mesure de l'activité de la LDH).

2 - Matériels et méthodes

2.1 - Caractéristiques de l'exploitation

Le domaine de Lamothe est situé à Seysses, dans le département de la Haute-Garonne (31). Il s'agit d'une ferme expérimentale dépendant de l'École Supérieure d'Agronomie de Purpan, exploitation agricole de polyculture-élevage fonctionnant avec 7,7 UTH (Unité de Travail Humain). Cette exploitation agricole est composée de plusieurs ateliers, dont un atelier bovin lait de 130 vaches de race Prim Holstein, séparées en deux lots recevant des rations différentes. L'exploitation produit 1 250 000 L de lait par an. La production moyenne par vache est de 9000 L de lait par an, avec un taux butyreux de 42 g/kg et un taux protéique de 32 g/kg.

La traite automatisée est réalisée par deux robots de traite VMS de marque DeLaval (un par lot de vaches) installés depuis 2013. Les deux robots de traite sont équipés du système Herd Navigator™ (DeLaval).

2.2 - Procédure expérimentale

2.2.1 - Critères d'inclusion

La population de base de l'expérimentation est constituée des vaches en lactation appartenant aux deux lots de l'exploitation et dont la traite est effectuée par le robot DeLaval. Deux groupes de vaches sont examinées :

- les vaches considérées comme en étant en *État inflammatoire*, c'est-à-dire pour lesquelles l'activité de la LDH mesurée dans le lait a été supérieure ou égale à 40 U/L au moins une fois depuis la dernière visite (donc dans les 2 à 4 jours précédents)
- les vaches pour lesquelles une alarme *Mammite* a été émise par le robot de traite au moins une fois depuis la dernière visite (donc dans les 2 à 4 jours précédents)

Ces deux groupes ne sont pas distincts : certaines vaches en alarme *Mammite* ont une activité de LDH supérieure à 40 U/L et font donc partie des vaches en *État inflammatoire* (**Figure 16**).

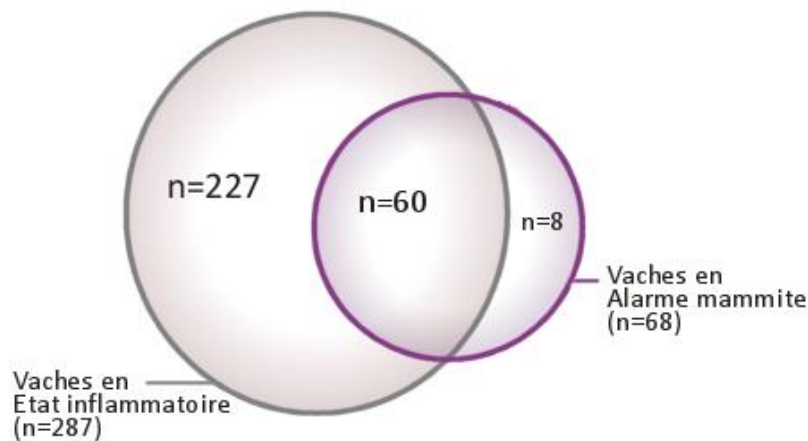


Figure 16 : Description des effectifs étudiés.

Un premier examen clinique est effectué (EC1). A la visite suivante (2 à 4 jours plus tard), toutes les vaches ayant reçu un EC1 lors de la visite précédente sont ré-examinées (EC2), indépendamment du fait que l'alarme soit encore activée ou non. L'objectif de ce second examen clinique est de juger de l'évolution de l'inflammation ou de la mammite :

- s'est-elle aggravée si elle était présente, ou bien a-t-elle au contraire disparu ?
- l'alarme était-elle trop précoce pour qu'une anomalie soit visible au premier examen clinique ? Autrement dit, une mammite et/ou une inflammation sont-elles apparues depuis le premier examen ?

2.2.2 - Critères d'exclusion

Avant toute inclusion d'une vache dans l'expérimentation, son profil de LDH est observé. La vache sera exclue (et ne recevra donc pas d'EC1) :

- si le vêlage a eu lieu moins de 10 jours auparavant et que l'activité de la LDH est en baisse continue depuis (et ce même si elle est supérieure à 40 U/L au jour de la visite)
- si le vêlage a eu lieu moins de 10 jours auparavant, que la vache a déjà été examinée deux fois (EC1 et EC2) au cours de cette période et que l'activité de la LDH est en baisse (dernière mesure plus basse que la mesure précédente)
- si la vache a déjà été examinée (EC1 et EC2) au cours de l'expérimentation et que l'activité de la LDH est restée supérieure à 40 U/L depuis son dernier EC1 ; on considère alors qu'il s'agit du même pic de LDH et donc du même état inflammatoire que lors de l'examen précédent. Le fait qu'une alarme *Mammite* ait été formulée entretemps n'est pas pris en compte dans l'exclusion.

Les critères d'inclusion et d'exclusion sont résumés dans la **Figure 17**.

2.2.3 - Examens et mesures réalisés

Les vaches incluses dans l'expérimentation sont examinées de la même manière qu'il s'agisse d'un EC1 ou d'un EC2, d'une alarme *Mammite* ou d'un *Etat inflammatoire*. L'examen comprend :

- une **prise de température rectale**
- un **examen vaginal** réalisé uniquement sur les vaches n'étant pas signalées gestantes par le logiciel Herd Navigator™, et conduisant à un score vaginal. La grille de notation varie selon si la vache est à moins de 21 jours post-partum (**Tableau 2**) ou à plus de 21 jours post-partum (**Tableau 3**). L'examen est réalisé, après nettoyage de la vulve, par exploration vaginale avec un gant et observation des sécrétions vaginales ainsi récoltées.
- un **CMT (California Mastitis Test)** réalisé à l'aide d'un plateau CMT et de réactif Leucocyttest (Zoetis). Les trayons sont rapidement nettoyés, puis les premiers jets de lait de chaque quartier sont versés respectivement dans les godets du plateau, puis une quantité équivalente de réactif est ajoutée. Après un mélange par mouvement circulaire, l'interprétation se fait selon l'aspect et la viscosité du liquide obtenu (**Tableau 4**).
- une **note d'aplomb** (0 à 4), attribuée visuellement en fonction des aplombs, de la présence de piétinement, d'une éventuelle voussure du dos (**Tableau 5**). La rougeur de la peau des paturons, observée sur de nombreux individus, n'est pas prise en compte.

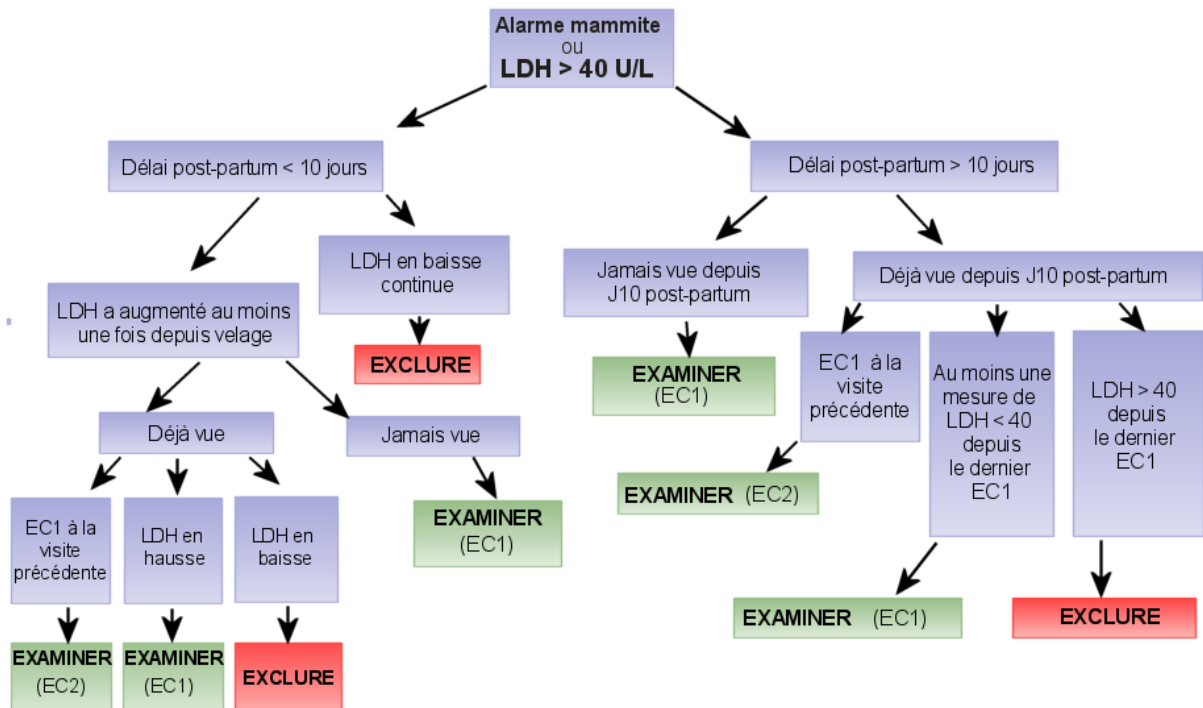


Figure 17 : Bilan des critères d'inclusion et d'exclusion dans l'étude expérimentale.

L'examen se limite à ces quatre critères pour deux raisons :

- la première est la forte prévalence de ces troubles. Ainsi, les boiteries et les mammites sont les affections les plus fréquentes en élevage laitier (Landais, 1989). Les affections génitales font également partie des affections les plus rencontrées, en particulier dans la période post-partum (Chastant, 2017)
- la seconde est la praticité. En effet, le grand nombre d'animaux à examiner à chaque visite rendait impossible un examen clinique complet, comprenant notamment une auscultation cardiaque ou une palpation-succussion du flanc. De plus, les examens étaient réalisés sur des vaches au cornadis, ce qui limite leur accessibilité. L'hyperthermie a donc été choisie comme critère permettant de cibler les affections de l'état général, car la prise de température rectale est un acte simple, rapide, et bien toléré par les animaux.

Tableau 2 : Grille de notation du score vaginal chez les vaches à moins de 21 jours post-partum.

Note	Observations
0	Absence de sécrétion, sécrétions translucides, lochies, sécrétions gris-violet ou purulente non nauséabondes
1	Sécrétions douteuses : coloration anormale, légèrement nauséabondes
2	Sécrétions sanguinolentes, gris-violet ou purulentes, nauséabondes

Tableau 3 : Grille de notation du score vaginal chez les vaches à plus de 21 jours post-partum.

Note	Observations
0	Absence de sécrétion.
1	Sécrétions claires ou translucides.
2	Mucus trouble ou présence de rares flocons de pus blancs.
3	Mucus contenant moins de 50% de pus blanchâtre.
4	Mucus contenant plus de 50% de pus blanchâtre.

Tableau 4 : Interprétation du CMT selon l'aspect du mélange obtenu par réaction du lait avec le Leucocyttest™.

Grade	Signification	Description	Interprétation (cellules/mL)
N	Négatif	Mélange liquide et homogène.	0 - 200 000
T	Trace	Mélange légèrement visqueux à tendance réversible.	150 000 - 500 000
1	Faiblement positif	Mélange visqueux sans formation de gel au centre. Viscosité persistante.	400 000 - 1 500 000
2	Clairement positif	Formation d'un gel au centre au godet. Si versé, la masse gélatineuse tombe mais peut laisser du liquide dans le godet.	800 000 - 5 000 000
3	Fortement positif	Formation d'un gel au centre au godet. Si versée, la masse gélatineuse tombe d'un coup sans laisser de liquide.	> 5 000 000

Tableau 5 : Grille de notation de la note d'aplomb.

Note	Observations
0	Aplombs parallèle, pas de piétinement
0.5	Aplombs parallèles, piétinement
1	Aplombs légèrement panards, piétinement
2	Aplombs panards de manière marquée, piétinement, voussure du dos
3	Aplombs panards de manière marquée, piétinement, voussure du dos, croisement des antérieurs
4	Aplombs panards de manière marquée, piétinement, voussure du dos, croisement des antérieurs, articulation gonflée

2.3 – Qualification des vaches

En fonction des résultats obtenus au cours des examens cliniques, l'état inflammatoire des différents appareils a été défini comme suit.

Affection mammaire : une vache est considérée comme « atteinte de mammite » (inflammation mammaire « positive ») si le CMT d'au moins un quartier est supérieur ou égal à 1, avec la distinction suivante :

- les quartiers dont le CMT a une valeur de 3 sont considérés comme étant en mammite clinique
- les quartiers dont le CMT a une valeur de 1 ou 2 sont considérés comme étant en mammite subclinique.

Les vaches sont alors séparées en 3 catégories :

- les vaches ayant au moins un quartier qualifié de clinique sont qualifiées « atteintes de mammite clinique »
- les vaches sans quartier qualifié de clinique mais ayant un ou plusieurs quartiers qualifiés de subcliniques sont qualifiées « atteintes de mammite subclinique »
- les vaches n'ayant aucun quartier en mammite sont qualifiées « sans mammite ».

Affection génitale :

- une vache est considérée comme « atteinte de métrite » (inflammation génitale « positive ») si le score vaginal à moins de 21 jours post-partum est supérieur ou égal à 1
- une vache est considérée comme « atteinte d'endométrite » (inflammation génitale « positive ») si le score vaginal à plus de 21 jours post-partum est supérieur ou égal à 2.

Les vaches considérées comme « atteintes de métrite » et « atteintes d'endométrite » ont par la suite été rassemblées sous l'appellation « inflammation génitale positive » lorsque l'objectif était de comparer les différents systèmes, indépendamment du nombre de jours en lactation des vaches étudiées.

Affection podale : une vache est considérée comme « boiteuse » (inflammation des pieds « positive ») si la note d'aplomb est supérieure ou égale à 2.

Concernant les affections systémiques, l'analyse est plus complexe. En effet, la température rectale de la vache laitière, bien que se situant physiologiquement entre 38 et 39°C, dépend, entre autres facteurs, du moment de la journée, du stade physiologique, de la température extérieure, de l'humidité, de l'alimentation (Suthar et al, 2012). Or tous ces paramètres étaient variables au cours de l'expérience et n'ont tous été mesurés. Pour cette raison, le seuil choisi pour déclarer qu'une vache est en hyperthermie a volontairement été placé à une valeur assez haute, à savoir 39,5°C (Radostits et al, 2000). Ainsi, les vaches dont la température rectale était supérieure ou égale à 39,5°C sont considérées comme étant « en hyperthermie » (inflammation systémique « positive »).

On qualifiera une vache étant positive à une affection au moins comme étant « En inflammation », tandis qu'une vache n'ayant aucun site inflammatoire positif sera qualifiée de « Sans inflammation ».

Par la suite, les résultats présentés sous forme de moyenne seront accompagnés de leur écart-type (moyenne \pm écart-type). Le test du χ^2 a été utilisé pour évaluer l'influence du nombre de jours entre l'alarme et l'EC1 sur la présence et le type d'inflammation, ainsi que pour évaluer l'influence du pourcentage de Risque et de l'activité de la LDH sur la santé mammaire et le nombre de sites en inflammation. Les tests de Kruskal-Wallis et de Wilcoxon ont été utilisés pour étudier l'influence du nombre de sites en inflammation sur l'activité de la LDH. Enfin, le modèle ANOVA a été utilisé pour comparer les sites inflammatoires selon l'activité de la LDH.

3. Résultats et interprétations

Au total, 295 vaches ayant déclenché une alarme *Mammite* ou *Etat inflammatoire* ont été examinées. Parmi elles, 68 ont déclenché une alarme *Mammite*, et 285 ont eu une activité de LDH > 40 U/L. Afin d'analyser les résultats obtenus au cours de cette étude, nous décrirons dans un premier temps l'ensemble de l'échantillon, avant de s'intéresser plus précisément aux vaches ayant déclenché une alarme *Mammite*, puis à l'intérêt de la mesure de l'activité de la LDH sur l'ensemble de l'échantillon.

3.1. Description de l'ensemble de l'échantillon étudié

3.1.1. Statuts inflammatoires lors de l'EC1

On s'intéresse ici à l'ensemble des vaches examinées, indépendamment du fait qu'elles soient en alarme *Mammite*, en *Etat inflammatoire* ou les deux. Ainsi, 266 vaches présentaient au moins un site inflammatoire lors de leur premier examen clinique (EC1), soit 90,2% de l'effectif examiné.

Comme le montre la **Figure 18**, la majorité des vaches présente 2 sites inflammatoires (43,4%) ou 1 seul site (35,9%).

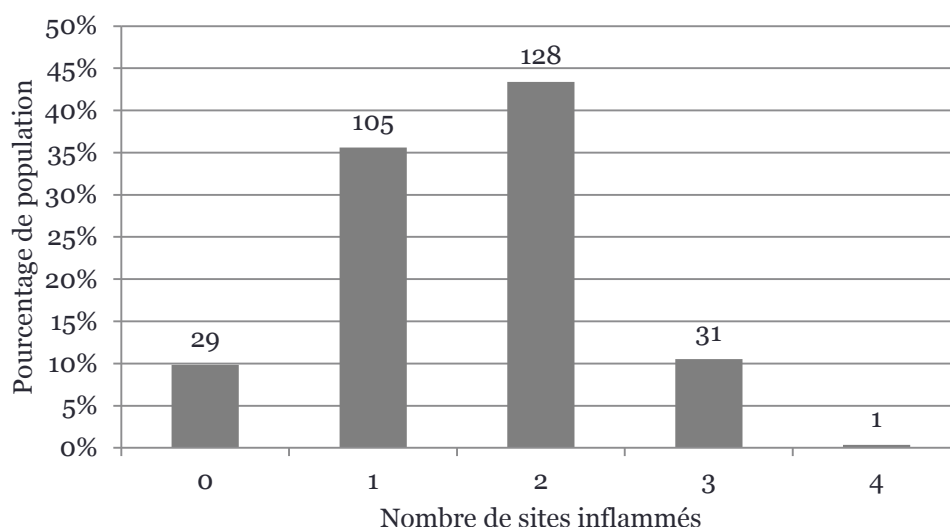


Figure 18 : Nombre de sites inflammés par vache détectés lors de l'EC1 (n=295 vaches) ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

Si on s'intéresse à l'effectif de vaches dans chaque état inflammatoire lors de l'EC1 (**Figure 19**), on remarque que le cas de figure le plus fréquent (34,6 %) est celui d'une vache présentant une affection mammaire et une affection podale. Les deux autres situations les plus fréquentes sont une affection mammaire seule (19,7 %) et une affection podale seule (13,9%). Enfin, on trouve autant de vaches présentant des affections génitale, podale et mammaire que de vaches n'ayant aucun site inflammé (9,8%). Les autres cas de figures sont anecdotiques.

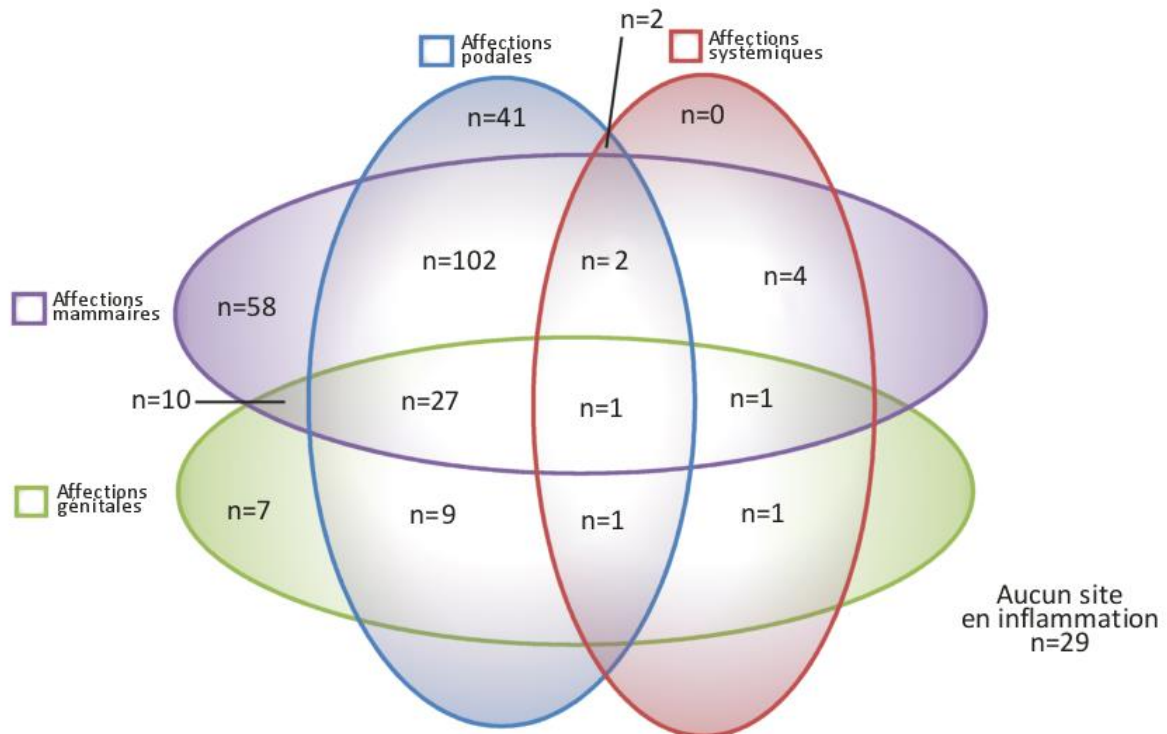


Figure 19 : Répartition de l'inflammation entre les différents sites examinés lors de l'EC1 (n=295)

Concernant les affections systémiques, on peut déjà noter qu'aucune vache ne présentait une affection systémique seule ; celle-ci était toujours associée à une autre inflammation. Plusieurs cas de figures se présentent alors :

- concernant les vaches qui présentaient également une affection mammaire ce jour-là (n=6), on peut noter que dans deux cas une mammite clinique était présente le même jour ; dans les quatre autres cas, on observait seulement une mammite subclinique, insuffisante pour expliquer l'hyperthermie mesurée
- concernant les vaches qui présentaient également une affection génitale ce jour-là (n=2), on peut noter la présence d'une métrite chez les deux animaux concernés
- concernant les vaches qui présentaient également une affection mammaire et une affection génitale ce jour-là (n=2), on peut noter la présence d'une métrite dans un cas (qui peut expliquer l'hyperthermie), et d'une endométrite dans l'autre.

A moins de 21 jours post-partum, les inflammations ont une forte prévalence dans tous les sites examinés (**Figure 20**), la seule exception étant l'inflammation systémique. Les inflammations génitales, mammaires ou podales sont ainsi présentes chez plus de 40% des vaches examinées. A plus de 21 jours post-partum, les inflammations ayant la plus forte prévalence sont les inflammations mammaires et podales (**Figure 21**), avec plus de 60% de vaches concernées pour chacune d'entre elles.

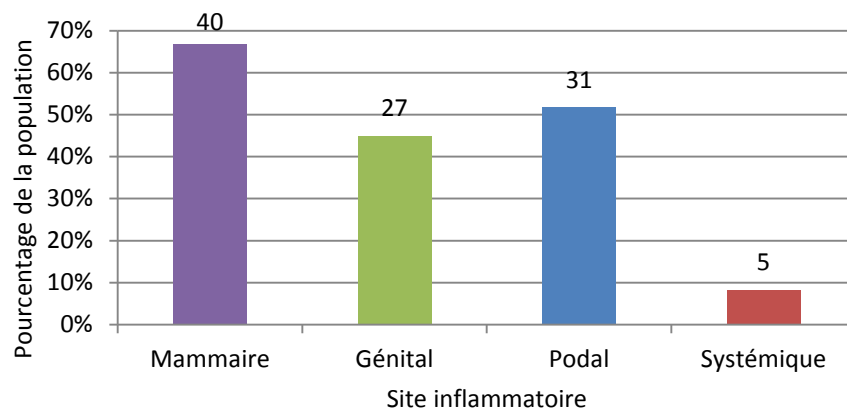


Figure 20 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 à moins de 21 jours post-partum (n=60 vaches) ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

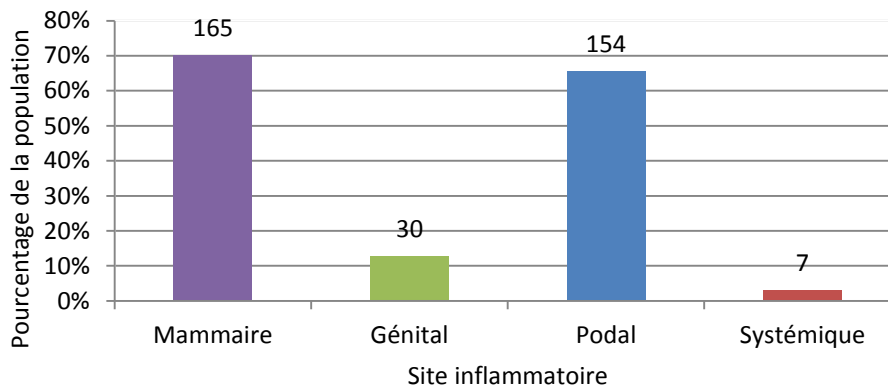


Figure 21 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 à plus de 21 jours post-partum (n=235 vaches) ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

La fragilité de la vache laitière vis-à-vis des inflammations varie au cours de sa lactation. Pour cette raison, nous nous sommes intéressés à la présence ou non de site inflammé, ainsi qu'à leur nature, en fonction du nombre de jours en lactation de la vache examinée (**Figure 22**). On remarque que l'absence d'inflammation, ainsi que les affections podales et systémiques sont peu affectées par le nombre de jours en lactation. En revanche, on observe que la prévalence des affections génitales diminue nettement après les 30 premiers jours de lactation (44%, puis 20%, puis moins de 12% au-delà de 100 jours en lactation). Au contraire, les affections mammaires tendent à être plus fréquentes après 100 jours en lactation (67% après 100 jours, 78% après 200 jours et 86% après 300 jours).

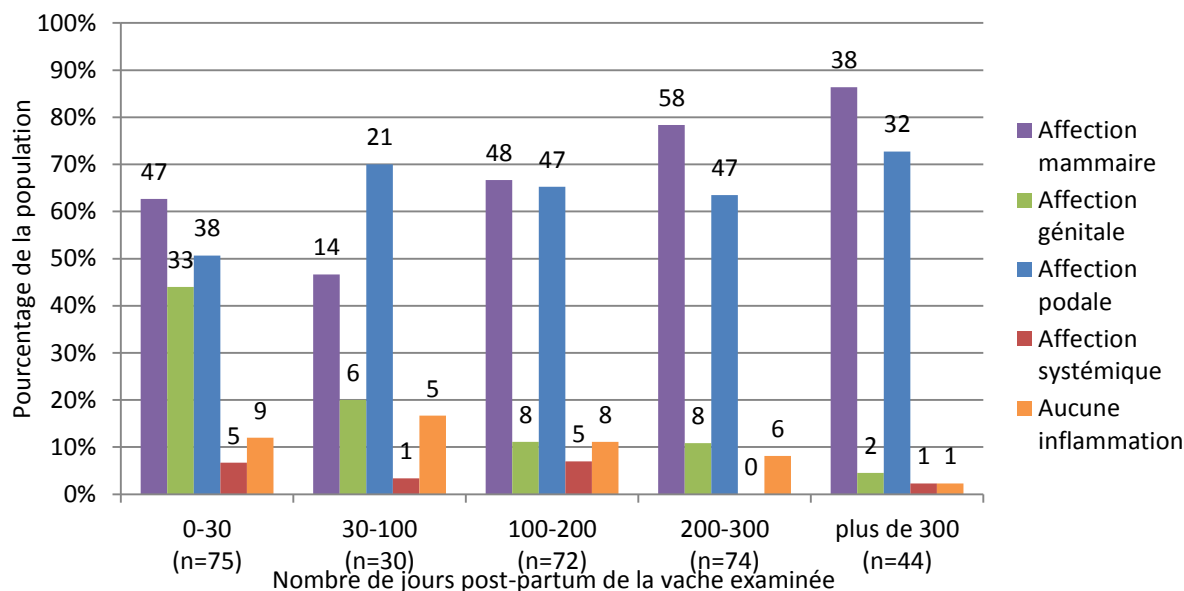


Figure 22 : Prévalence de chaque type d'inflammation lors de l'EC1 en fonction du nombre de jours post-partum de la vache examinée ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

Si l'on s'intéresse aux mammites uniquement, on peut distinguer les mammites cliniques des mammites subcliniques. La majorité des mammites peuvent être qualifiées de subcliniques (**Figure 23**). En effet, 45,4% des vaches étudiées sont atteintes de mammites subcliniques seules (c'est-à-dire qu'elles ne présentent aucun quartier en mammite clinique) ; 30,5% des vaches ont un CMT négatif et sont donc considérées comme n'étant pas en mammite. Enfin, 24,1% des vaches sont en mammite clinique et ont donc au moins un quartier qualifié comme étant en mammite clinique, ainsi que d'éventuels quartiers qualifiés comme étant en mammite subclinique.

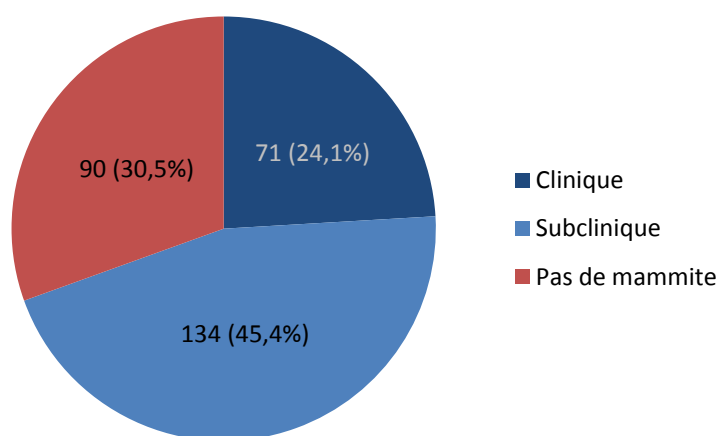


Figure 23 : Qualification de l'inflammation mammaire des vaches lors de l'EC1 (n=295)

Le nombre moyen de quartiers touchés lors de mammite est de $1,88 \pm 0,99$: $1,65 \pm 0,72$ quartiers touchés en moyenne lors des mammites subcliniques, et $2,32 \pm 1,06$ lors des mammites cliniques (parmi eux, on trouve en moyenne $1,13 \pm 0,33$ quartiers cliniques et $1,20 \pm 1,10$ quartiers subcliniques).

En bilan, cette première analyse de l'échantillon nous apprend qu'environ 9 vaches examinées sur 10 présentaient au moins un site inflammatoire. Parmi les 29 individus qui avaient déclenché une alarme mais ne présentaient aucun site inflammatoire, 70% avaient une activité de la LDH revenue en-dessous de 40 U/L le jour de l'examen. L'activité de la LDH était restée supérieure à 40 U/L pour 24,1% des vaches, tandis qu'elle n'était pas évaluée le jour de l'examen pour les 10,3% restants.

Les mammites et les boiteries sont les principales sources d'inflammation. Les vaches en début de lactation sont plus de 40% à présenter des troubles génitaux, mais leur proportion diminue avec le nombre de jours en lactation. Au contraire, plus la lactation avance, plus les mammites deviennent fréquentes. Concernant la santé mammaire, environ 7 vaches testées sur 10 présentaient ainsi un CMT positif, avec une majorité de quartiers en mammite subclinique.

La mesure de LDH couplée aux alarmes *Mammite* semble donc avoir une bonne valeur prédictive positive dans la détection précoce des inflammations, mais pas spécifiquement des mammites.

3.1.2. Impact du délai entre alarme et EC1 sur les états inflammatoires

Les examens cliniques n'étant pas toujours réalisés le jour de l'alarme mammite (lorsqu'elle était présente) ou le jour où la LDH dépassait la barre des 40 U/L, nous nous sommes intéressés à l'influence que pourrait avoir le nombre de jours séparant l'alarme de l'examen sur la proportion de vaches en inflammation.

Comme on peut le voir dans la **Figure 24**, la répartition du nombre de jours séparant l'alarme de l'examen est sensiblement la même entre les vaches en inflammation et sans. Pour s'en assurer, nous pouvons observer les box-plots de la **Figure 25** qui, à l'exception d'une valeur extrême à 19 jours entre alarme et examen sur une vache en inflammation, présentent également des répartitions similaires.

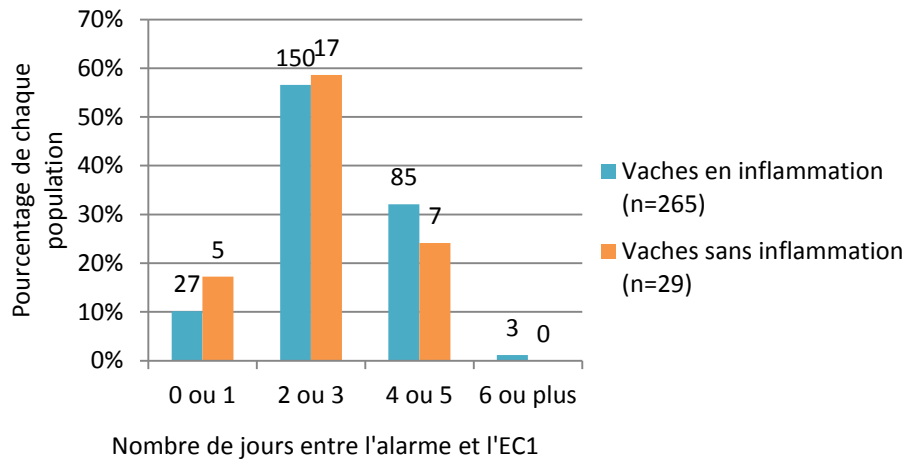


Figure 24 : Distribution des délais entre alarme et EC1 selon l'état inflammatoire (présence d'au moins un site inflammé ou non) ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

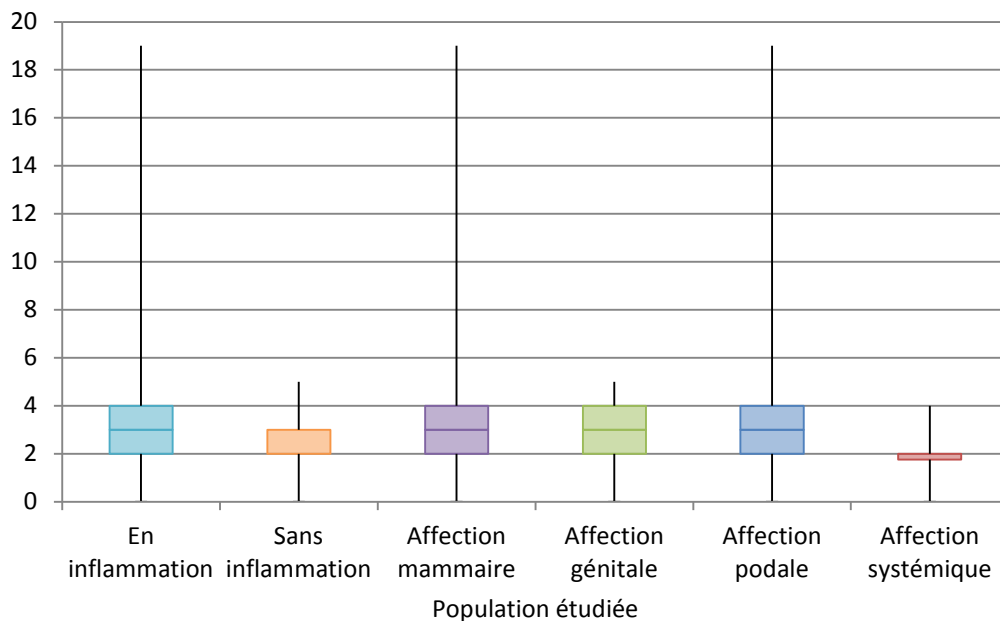


Figure 25 : Répartition des délais entre EC1 et alarme selon l'état inflammatoire (n=295).

Ainsi, le nombre de jours n'influence pas le statut inflammatoire (test χ^2 , $p=0,88$). De même, à l'exception des inflammations systémiques, où l'effectif est très faible (seulement 12 vaches concernées), ainsi que de la valeur extrême à 19 jours (une seule vache concernée), la répartition du nombre de jours séparant l'alarme du 1^{er} examen clinique est la même quelle que soit le site inflammatoire concerné et ne dépend donc pas du nombre de jours séparant l'alarme de l'EC1 (test χ^2 , $p=0,99$).

En raison des résultats des tests χ^2 évoqués ci-dessus, on considérera durant le reste de l'étude que l'intervalle de temps séparant l'alarme de l'examen est sans conséquence sur le statut inflammatoire des vaches et sur les sites d'inflammation.

3.1.2. Evolution des inflammations

Comme décrit précédemment, chaque vache de l'échantillon étudié faisait l'objet de deux examens cliniques, espacés de 2 à 4 jours, afin de juger de l'évolution de leur statut inflammatoire. L'objectif était ainsi de mettre en évidence une éventuelle précocité des alarmes par rapport à l'expression clinique, qui aurait empêché de voir les conséquences cliniques d'une inflammation avant plusieurs jours suivant l'alarme.

Comme le montre le **Tableau 6**, la majorité des vaches (89,5%) qui présentaient au moins un site en inflammation lors du premier examen clinique sont encore en état inflammatoire lors du second examen clinique. De plus, parmi les vaches n'étant pas en état inflammatoire lors du premier examen clinique, 69% ont présenté au moins un site inflammatoire lors du second examen – on notera cependant un effectif bien plus réduit.

Cela pourrait donc suggérer une certaine précocité dans la détection des inflammations : malgré l'alarme, les vaches ne rentreraient en phase clinique de l'inflammation que plusieurs jours après ladite alarme.

Tableau 6 : Evolution des statuts inflammatoires entre le 1^{er} examen clinique (EC1) et le second (EC2).

EC1	EC2	Effectifs
Au moins 1 site en inflammation n= 266	Au moins 1 site en inflammation	238 (89,5%)
	Pas d'inflammation	28 (10,5%)
Pas d'inflammation n=29	Au moins 1 site en inflammation	20 (69%)
	Pas d'inflammation	9 (31%)
Affections mammaires		
Mammite n=205	Mammite	158 (77%)
	Pas de mammite	47 (23%)
Pas de mammite n=90	Mammite	30 (33,3%)
	Pas de mammite	60 (66,7%)
Affections génitales : métrites		
Métrite (n=27)	Métrite	13 (48,1%)
	Pas de métrite	14 (51,9%)
Pas de métrite (n=32)	Métrite	10 (31,3%)
	Pas de métrite	22 (68,8%)
Affections génitales : endométrites		
Endométrite (n=31)	Endométrite	17 (54,8%)
	Pas d'endométrite	11 (35,5%)
Pas d'endométrite (n=88)	Endométrite	15 (17,0%)
	Pas d'endométrite	71 (80,7%)
Affections podales		
Boiterie (n=185)	Boiterie	128 (69,2%)
	Pas de boiterie	55 (29,7%)
Pas de boiterie (n=104)	Boiterie	54 (51,9%)
	Pas de boiterie	50 (48,1%)
Affections systémiques		
Hyperthermie (n=12)	Hyperthermie	0
	Pas d'hyperthermie	12 (100%)
Pas d'hyperthermie (n=275)	Hyperthermie	8 (2,9%)
	Pas d'hyperthermie	263 (95,6%)

Lorsqu'on s'intéresse aux évolutions de chaque site inflammatoire séparément, on constate les tendances suivantes :

- dans 77% des cas, les vaches en mammite le restent entre les deux examens ; un tiers des vaches qui n'avaient pas de mammite au premier examen en ont développé une au second
- concernant les affections génitales, la majorité des vaches négatives au premier examen le restent au second (68,8% pour les métrites, 80,7% pour les endométrites)
- deux tiers des vaches boiteuses au premier examen le restent lors du second mais parmi les vaches sans inflammation podale à l'EC1, la moitié en a développé une à l'EC2
- l'hyperthermie lorsque présente à l'EC1, disparaît à l'EC2 dans 100% des cas et reste absente à l'EC2 lorsqu'elle l'était à l'EC1 dans 95,6% des cas.

On peut également se poser la question de la variation du nombre de sites en inflammation entre l'EC1 et l'EC2 (**Figure 26**). L'histogramme révèle ainsi que pour 48,1% des vaches examinées, on trouve autant de sites inflammatoires au second examen clinique qu'au premier. 22,4% des vaches ont un site en moins, et 17,3% un site en plus. Enfin, 6,4% ont vu disparaître 2 sites ou plus, tandis que 5,8% ont vu apparaître 2 sites ou plus. Il est important de noter qu'ici, on s'intéresse uniquement à la variation du nombre de sites, et non au statut inflammatoire (présence ou absence d'au moins une inflammation) : une vache pourra ainsi avoir un site inflammatoire de moins, mais en avoir toujours au moins un, et être donc considérée comme « en inflammation ».

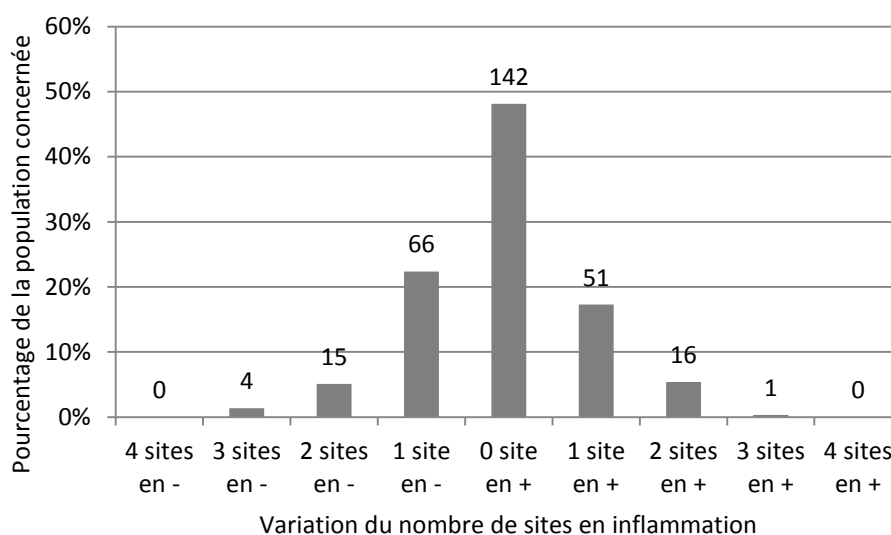


Figure 26 : Variation du nombre de sites en inflammation entre l'EC1 et l'EC2, sur l'ensemble de l'échantillon examiné (n=295) ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie.

Si l'on s'intéresse alors aux différents systèmes examinés, on peut se poser la question de la part d'apparition et de disparition de chacun entre les deux examens cliniques (**Tableau 7**). On voit ainsi que lorsqu'un nouveau site inflammé apparaît, il s'agit du pied dans près de 50% des cas. Lorsqu'un site disparaît, il s'agit le plus fréquemment du pied (43,5% des cas) ou de la mamelle (33,3% des cas).

Tableau 7 : Part des différents systèmes examinés dans l'apparition ou la disparition de site inflammatoire lors du second examen clinique.

		Effectif	Pourcentage
Apparition d'un site inflammatoire (n=86)	Mamelle	22	25,6%
	Génital	17	19,8%
	Podal	42	48,8%
	Systémique	7	8,1%
Disparition d'un site inflammatoire (n=108)	Mamelle	36	33,3%
	Génital	20	18,5%
	Podal	47	43,5%
	Systémique	6	5,6%

Si l'on se penche ensuite sur les vaches qui présentaient un site inflammatoire à l'EC1, plusieurs questions se posent. Dans un premier temps, quels sont les sites qui ont disparu entre les deux examens lorsqu'aucune inflammation n'est présente à l'EC2 ? Le **Tableau 8** montre que les systèmes dont l'inflammation disparaît dans ce cas de figure sont le système locomoteur dans 67,9% des cas et la mamelle dans 57,1% des cas.

Tableau 8 : Evolution du statut inflammatoire des différents systèmes examinés lorsque l'inflammation disparaît entre l'EC1 et l'EC2.

Présence d'au moins une inflammation à l'EC1 (n=266)	Présence inflammation EC2 (n=238)		
	Absence d'inflammation à l'EC2 (n=28)	Disparition mammite	16 (57,1 %)
		Disparition inflammation génitale	6 (21,4%)
		Disparition boiterie	19 (67,9%)
		Disparition hyperthermie	0

Enfin, si on se penche cette fois sur les vaches qui n'avaient aucune inflammation à l'EC1 mais qui en présentaient au moins une à l'EC2, on peut une fois de plus se poser la question de la part de chaque système examiné dans ce changement (**Tableau 9**). On remarque encore une fois que les systèmes pour lesquels l'inflammation varie le plus sont la mamelle (60%) et le système locomoteur (65%).

Tableau 9 : Evolution du statut inflammatoire des différents systèmes examinés lorsqu'une inflammation apparaît entre l'EC1 et l'EC2.

Absence d'inflammation à l'EC1 (n=29)	Présence inflammation EC2 (n=20)	Apparition mammite	12 (60%)
		Apparition inflammation génitale	3 (15%)
		Apparition boiterie	13 (65%)
		Apparition hyperthermie	3 (15%)
	Absence d'inflammation à l'EC2 (n=9)		

En bilan, on peut conclure que les états inflammatoires sont détectés assez précocement par le système : dans tous les systèmes à l'exception du pied, une minorité de vaches se positivent entre le 1^{er} et le 2nd examen (2,9% pour les affections systémiques, 17% pour les endométrites, 31,3% pour les métrites et 33% pour les mammites). Les inflammations sont assez persistantes : les vaches en inflammation au 1^{er} examen clinique le restent au 2nd dans la majorité des cas (89,5%). Le vétérinaire aura donc toujours une inflammation à constater dans son examen clinique, même si ce dernier a lieu en retard par rapport à l'apparition de l'inflammation dans les mesures du système. Ainsi, le nombre de sites inflammés varie peu entre les deux examens cliniques. Quel que soit l'échantillon observé, les systèmes à l'origine des variations sont essentiellement la mamelle et le pied, ce qui est logique étant donné que ce sont aussi les systèmes plus couramment inflammés (**Figure 19**).

3.2. Intérêt des alarmes mammites

Le logiciel fournit à l'éleveur des alarmes lorsque son algorithme détecte un risque élevé que la vache soit en mammite. Notre étude a pour but de répondre à plusieurs questions concernant ces alarmes :

- Les alarmes *Mammite* sont-elles fiables ? En d'autres termes, une vache en alarme *Mammite* va-t-elle effectivement présenter un CMT positif sur au moins un quartier ? Si oui, quelle sera la nature de cette mammite : clinique ou subclinique ?
- Le logiciel fournit-il des données permettant d'affiner la détection des vaches en mammite et de les classer selon leur état de gravité ?

Dans cette partie, nous nous intéresserons donc uniquement aux vaches signalées comme étant en alarme *Mammite* par le logiciel Delpro™ le jour de leur premier examen clinique (EC1), ce qui représente 68 individus.

Parmi ces vaches, 56 ont au moins un quartier en mammite (clinique ou subclinique), soit 82,4%, ce qui témoigne d'une fiabilité acceptable de l'alarme *Mammite*. Le système sur-diagnostique cependant près d'une vache sur cinq. Comme le montre la **Figure 27**, une majorité des vaches est atteinte de mammite subclinique : 45,6% de l'effectif en alarme (soit 55,4% des vaches effectivement en mammite), contre 36,8% de l'effectif total atteint de mammite clinique.

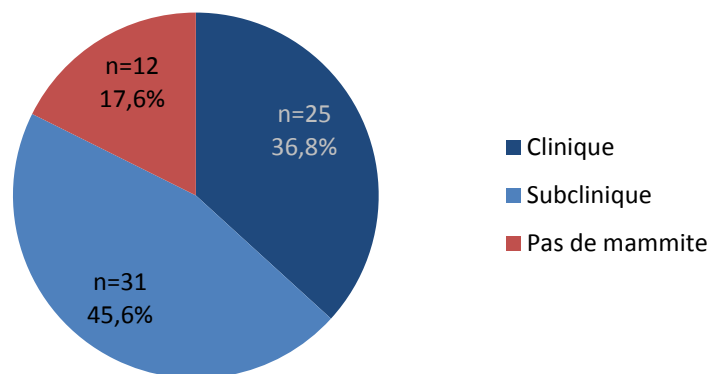


Figure 27 : Statut mammaire des vaches en alarme Mammite au 1er examen clinique (n=68).

En moyenne, les vaches en mammite présentent $2,1 \pm 1,1$ quartiers touchés (avec une moyenne de $0,5 \pm 0,6$ quartiers qualifiés de cliniques et $1,6 \pm 1,1$ quartiers qualifiés de subcliniques). Les vaches atteintes de mammite subclinique ont en moyenne $1,9 \pm 0,9$ quartiers touchés, tandis que les vaches atteintes de mammite clinique ont en moyenne $2,44 \pm 1,1$ quartiers touchés (avec une moyenne de $1,08 \pm 0,3$ quartiers qualifiés de cliniques et $1,36 \pm 1,2$ quartiers qualifiés de subcliniques).

Pour évaluer l'évolution des mammites entre le premier examen clinique (EC1) et le second (EC2), on considère toute vache ayant au moins un quartier clinique comme étant en mammite clinique. Les vaches ayant un quartier ou plus en mammite subclinique mais n'ayant aucun quartier clinique seront pour leur part considérées comme étant en mammite subclinique (**Tableau 10 ; Figure 28**). Cette distinction a pour but d'être au plus proche de la prise en charge par l'éleveur ; en effet, ce dernier considérera une vache en comme étant en mammite clinique dès qu'un de ses quartiers le sera.

Nous pouvons ainsi constater que 52% des vaches qui étaient en mammite clinique au premier examen le sont toujours au second examen. 32% sont passées en mammite subclinique, tandis que seuls 16% ne présentent plus de mammite. Concernant les vaches en mammite subclinique au premier examen, la majorité (58%) sont toujours en mammite subclinique lors du second examen. 26% ne sont plus en mammite, tandis que 16% sont passées en mammite clinique. Enfin, les vaches sans mammite au premier examen sont toujours majoritairement saines (67%), tandis que les 33% restant sont passées en mammite subclinique.

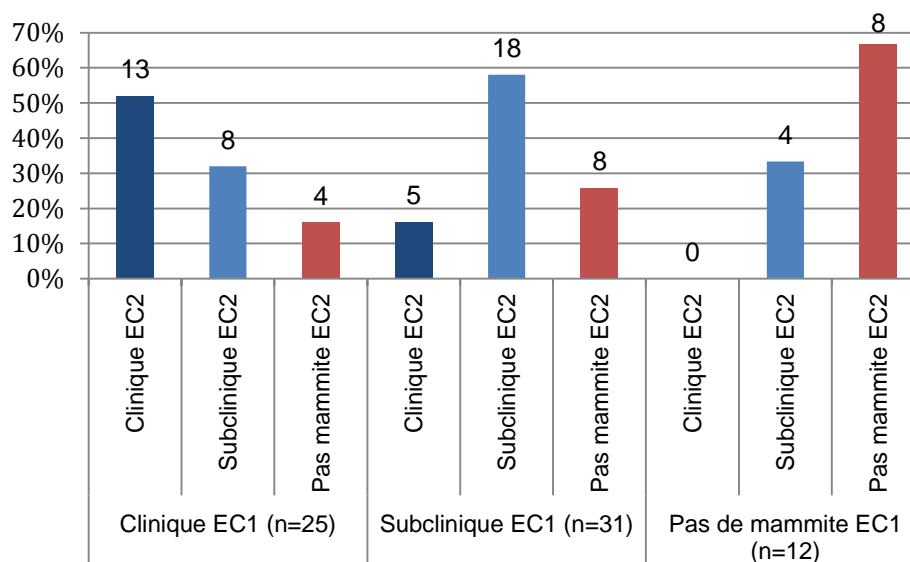


Figure 28 : Evolution des mammites entre les deux examens cliniques ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 0.02$)

En bilan, ce tableau et cette figure nous montrent que le modèle des alarmes *Mammite* a une bonne fiabilité, notamment pour les mammites subcliniques, car peu des vaches sans mammite au premier examen se sont positivées par la suite. En termes de précocité de la détection, on notera également que la majorité des mammites restent de même nature entre les deux examens : le 1^{er} examen est donc suffisant pour détecter une éventuelle mammite, en réponse à une alarme. Autrement dit, le modèle ne signale pas les mammites « trop tôt » pour qu'elles puissent être confirmées cliniquement par l'éleveur ou un vétérinaire.

La question se pose alors des huit vaches pour qui l'alarme s'est révélée être une « fausse alerte », c'est-à-dire celles qui étaient signalées par le logiciel comme étant atteintes de mammite, mais dont les CMT des quatre quartiers était négatif lors de l'examen clinique. On peut formuler plusieurs hypothèses pour expliquer cette observation :

- un autre site inflammatoire est présent et est à l'origine d'un faux positif dans l'augmentation de la valeur de LDH, d'où une alarme *Mammite* erronée
- l'augmentation de la valeur de LDH ayant conduit à une alarme était en fait une valeur aberrante et les mesures suivantes ont montré que l'activité de la LDH était retournée à des valeurs basses.

En s'intéressant à chaque cas individuellement, on observe ainsi que :

- pour une des vaches, l'activité brute de la LDH est retombée à 0 entre le jour de l'alarme et le jour de l'examen
- pour deux vaches, une inflammation podale était présente lors des deux examens
- pour trois vaches, l'activité brute de la LDH était retombée à 0 entre le jour de l'alarme et le jour de l'examen, et un autre site inflammatoire était présent (métrite à l'EC1 dans un cas, endométrite à l'EC2 dans un autre, inflammation des pieds dans le dernier cas)
- pour les deux vaches restantes, la LDH était restée élevée et aucun autre site examiné n'était en inflammation.

Le faible effectif de vaches concernées (n=8) ne nous permet cependant pas de conclure quant à une possible corrélation entre la chute de la valeur de LDH et/ou la présence d'un autre site inflammatoire, et l'absence de mammite lors d'une alarme.

Pour chaque vache incluse dans l'étude, le logiciel, en plus de signaler une éventuelle alarme, indiquait également le Risque (présenté sous forme de pourcentage) de présence d'une mammite. Quel est l'intérêt de ce pourcentage de risque pour l'éleveur ? Une vache ayant un Risque plus élevé est-elle plus susceptible d'avoir une mammite clinique ?

Nous nous sommes ainsi intéressés à la répartition des vaches en mammite clinique, subclinique et sans mammite lors de leur premier examen clinique (EC1) en fonction de leur pourcentage de Risque de mammite. Nous avons pour cela distingué le Risque signalé le jour de l'alarme (**Figure 29**) et le Risque signalé le jour de l'examen (**Figure 30**), lorsqu'il était indiqué – car il n'était pas systématiquement calculé chaque jour pour chaque vache.

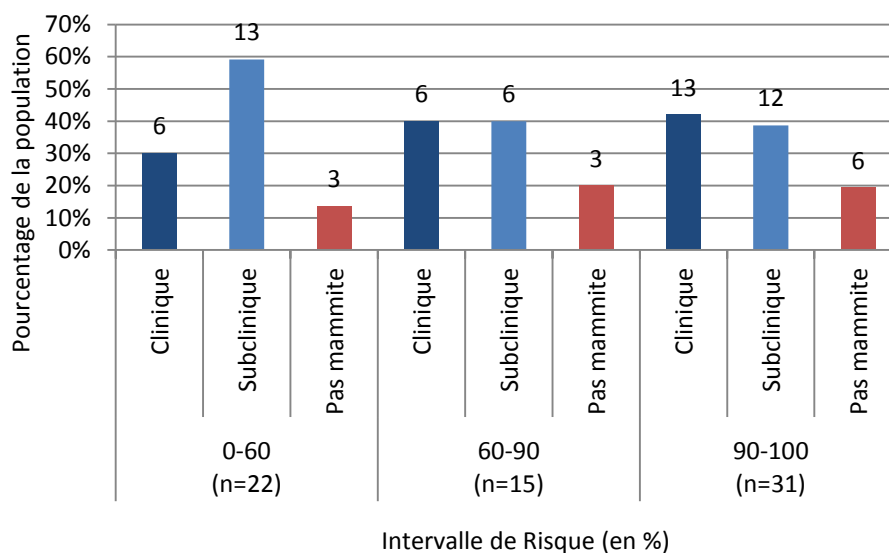


Figure 29 : Présence et nature des mammites en fonction du Risque calculé par le logiciel le jour de l'alarme ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie (p = 0,88).

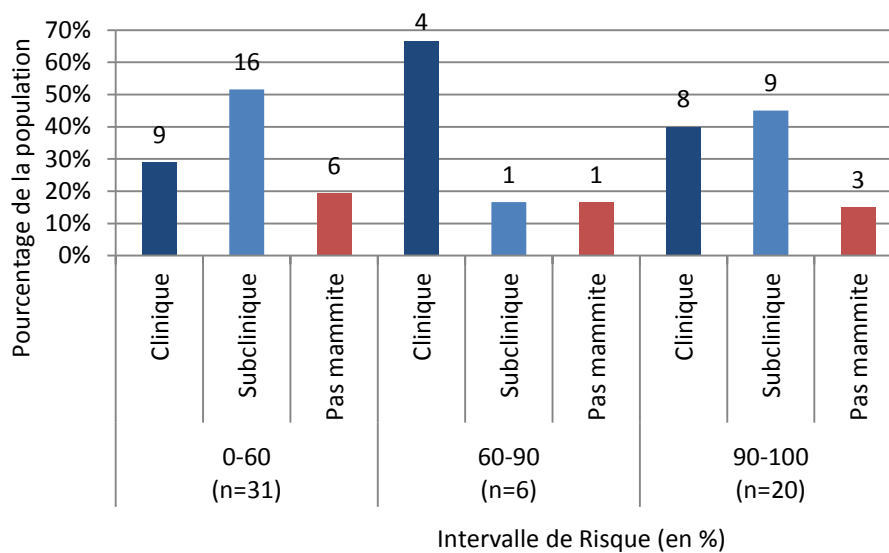


Figure 30 : Présence et nature des mammites en fonction du Risque calculé par le logiciel le jour de l'examen ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie (p=0,74).

Pour le Risque calculé le jour de l'examen (**Figure 29**), on observe peu de différences entre les différentes fourchettes de LDH (p=0,88).

On rappelle toutefois que plusieurs jours (le plus souvent entre 2 et 4) pouvaient séparer l'alarme de l'examen. Cependant, si on s'intéresse au pourcentage de risque mesuré le jour de l'examen (**Figure 30**), on ne met pas non plus en évidence de différence en fonction de la classe de Risque (p=0,74).

Bien que l'algorithme reste sous secret industriel, nous savons que le calcul du Risque intègre de nombreux éléments, comme la mesure de l'activité de la LDH, la conductivité du lait, mais également les antécédents de la vache, son avancée dans la lactation... On peut donc se poser la question de l'intérêt de ces mesures brutes pour l'éleveur : lui permettent-elles de distinguer plus finement les vaches à risque lorsque le logiciel signale une alarme ?

Nous nous sommes donc penchés sur le statut de la mamelle des vaches (mammite clinique ou subclinique, absence de mammite) en fonction de la mesure de LDH le jour de l'alarme (**Figure 31**) et le jour de l'examen (**Figure 32**), mais aucune différence n'a pu être mise en évidence ($p=0,18$ et $0,12$ respectivement).

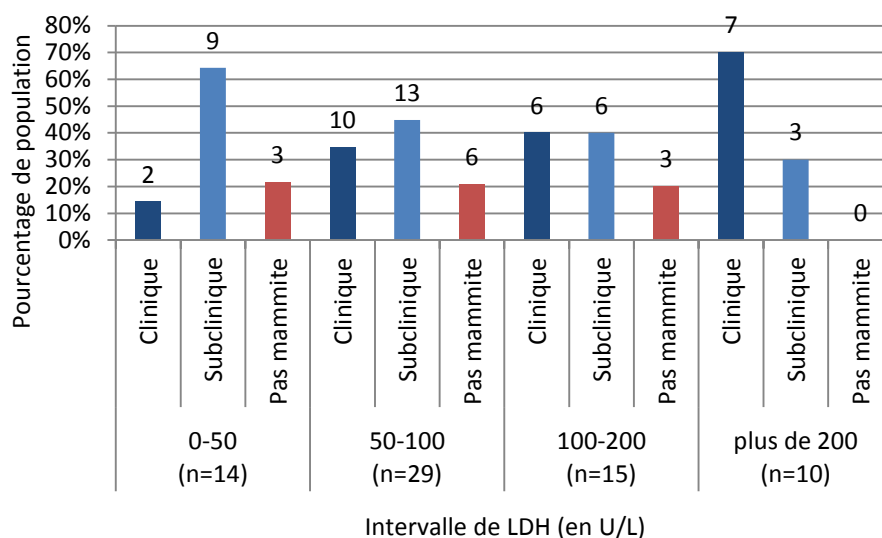


Figure 31 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée dans le lait le jour de l'alarme ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 0,18$).

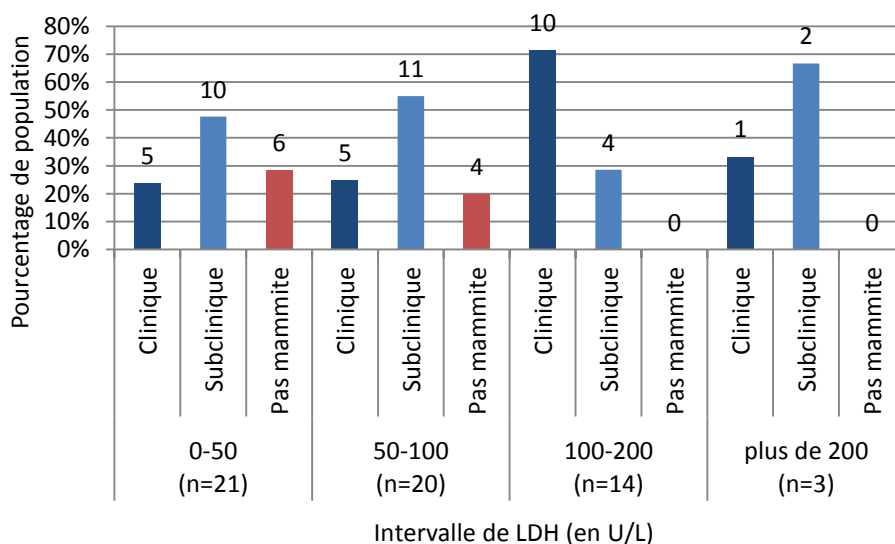


Figure 32 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée dans le lait le jour de l'examen ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 0,12$).

En bilan, cette étude permet de calculer la valeur prédictive positive de l'alarme *Mammite*. La valeur prédictive positive se définit par (nombre de vrais positifs) / (nombre total de positifs). Dans notre cas, cela donne ainsi (56 vaches en mammite) / (68 vaches ayant déclenché l'alarme), soit une valeur prédictive positive de 82,4%. Parmi les vaches atteintes de mammite, 44,6 % sont atteintes de mammite clinique (au moins un quartier qualifié de clinique, donc ayant un CMT = 3), tandis que 55,3% sont atteintes de mammite subclinique.

Lors du second examen clinique, on observe peu de changement au niveau de la santé mammaire : les mammites cliniques le restent dans 52% des cas, les mammites subcliniques le restent dans 58% des cas, et les vaches n'étant pas atteintes de mammite le sont toujours dans 67% des cas. Autrement dit, le modèle ne signale pas les mammites « trop tôt » pour qu'elles soient ensuite détectées par l'éleveur ou un vétérinaire.

Les pourcentages de Risque fournis par le logiciel le jour de l'alarme ou le jour de l'examen ne semblent pas avoir de relation avec la santé mammaire des vaches étudiées. Il en va de même pour la mesure de l'activité de la LDH le jour de l'alarme et le jour de l'examen.

3.3. Exploitation de la mesure de l'activité de la LDH

Comme nous l'avons développé précédemment, l'alarme *Mammite* se base sur un algorithme intégrant plusieurs facteurs, notamment mesurés dans le lait (concentration de cellules somatiques, conductivité, dosage de la LDH ...). Dans cette partie, nous nous intéresserons à la valeur prédictive du seul dosage de LDH, afin de répondre aux questions suivantes :

- la valeur de l'activité de la LDH seule a-t-elle un intérêt pour l'éleveur ?
- une augmentation de l'activité de la LDH dans le lait est-elle synonyme d'un état inflammatoire, même hors de la mamelle ?
- en bref, une vache avec une activité de la LDH élevée, même si elle n'a pas déclenché d'alarme *Mammite*, doit-elle être surveillée plus attentivement par l'éleveur ?

Dans la suite de cette partie, le jour de « l'alarme » désignera le jour où l'activité de la LDH a dépassé le seuil de 40 U/L. Dans l'objectif de se rapprocher au maximum des conditions de l'éleveur au jour le jour, nous nous intéresserons uniquement à l'activité de la LDH mesurée le jour de l'examen. En effet, l'éleveur doit pouvoir décider dès lors qu'il voit une valeur augmentée s'il doit aller voir la vache, voire la montrer à un vétérinaire.

On s'intéresse dans un premier temps au statut inflammatoire (présence ou non d'au moins un site inflammatoire) en fonction de la mesure de LDH le jour de l'examen (**Figure 33**). Pour rappel, l'examen clinique effectué sur les vaches lorsque leur LDH dépassait 40 U/L comprenant quatre systèmes: la mamelle, l'appareil génital (métrite ou endométrite), les pieds (présence ou non d'une boiterie) et enfin les affections systémiques (présence ou non d'une hyperthermie).

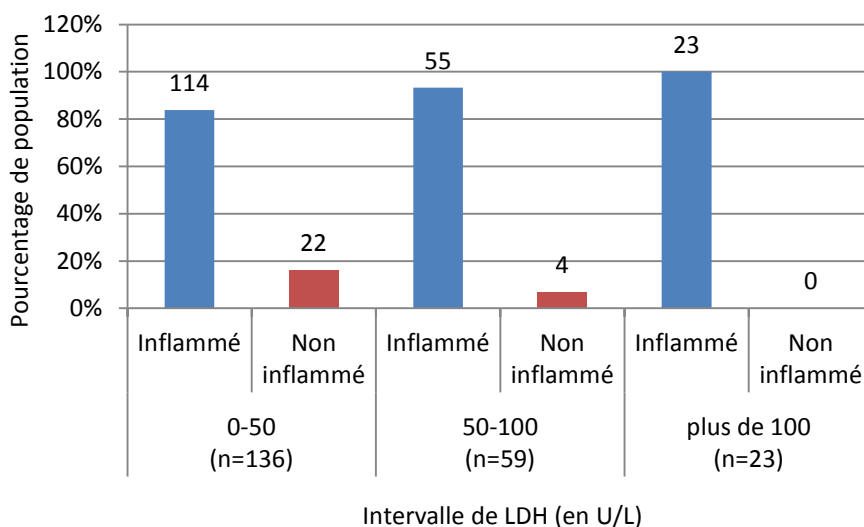


Figure 33 : Répartition des vaches présentant au moins un site inflammatoire (« inflammé ») et de celles ne présentant aucun site inflammatoire (« non inflammé ») selon la mesure de LDH le jour de l'examen ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 0,07$).

Nous pouvons ainsi constater que lorsque l'activité de la LDH dépasse 100 U/L, toutes les vaches présentent au moins un site en inflammation. De plus, la part de vaches sans inflammation diminue lorsque l'activité de la LDH augmente. La mesure brute de la LDH le jour de l'examen semble donc être un bon indicateur de la présence d'une inflammation.

Dans un second temps, nous nous penchons sur le nombre de sites inflammatoires, toujours selon la fourchette de LDH dans laquelle la vache se situe (**Figure 34**). Le cas de « zéro site inflammatoire » diminue avec l'augmentation de la mesure de LDH et correspond au cas « sans inflammation » décrit ci-dessus. Un test de Kruskal-Wallis et un test de Wilcoxon nous apprennent qu'il y a bien une différence statistique de la mesure de LDH entre les vaches sans inflammation et les vaches présentant au moins un site inflammatoire. En revanche, les mesures de LDH ne sont pas significativement différentes selon le nombre de sites en inflammation.

Cela nous amène enfin à nous questionner sur l'origine de ces inflammations. Nous avons donc comparé les valeurs de LDH dans chacune des catégories définies par la **Figure 19** à l'aide d'une étude de variances ANOVA. Les seuls résultats pour lesquels les effectifs sont suffisants pour conclure sont les inflammations de la mamelle, du pied, et la co-inflammation pied+mamelle. L'analyse des variances montre alors que les inflammations du pied n'ont pas d'impact sur l'activité de la LDH mesurée. En d'autres termes, une boiterie ne pourra pas être détectée à l'aide de l'activité de la LDH mesurée dans le lait.

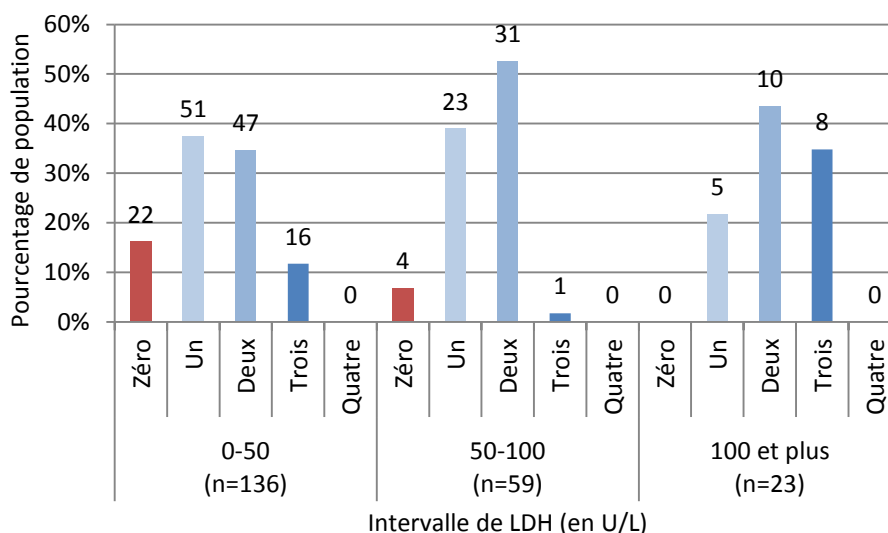


Figure 34 : Nombre de sites inflammatoires selon la mesure de LDH le jour de l'examen ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 7 \times 10^{-4}$).

Pour finir, nous nous sommes questionnés sur l'intérêt de la mesure de l'activité de la LDH seule dans l'évaluation de la gravité des mammites. Nous nous sommes donc intéressés à l'état de santé de la mamelle chez les vaches dont la LDH dépassait 40 U/L lors du premier examen clinique. Le paragraphe 3.2 a montré l'intérêt de la mesure de l'activité de la LDH chez les vaches en alarme *Mammite*. Mais qu'en est-il chez les vaches sans alarme *Mammite* (**Figure 35**) ?

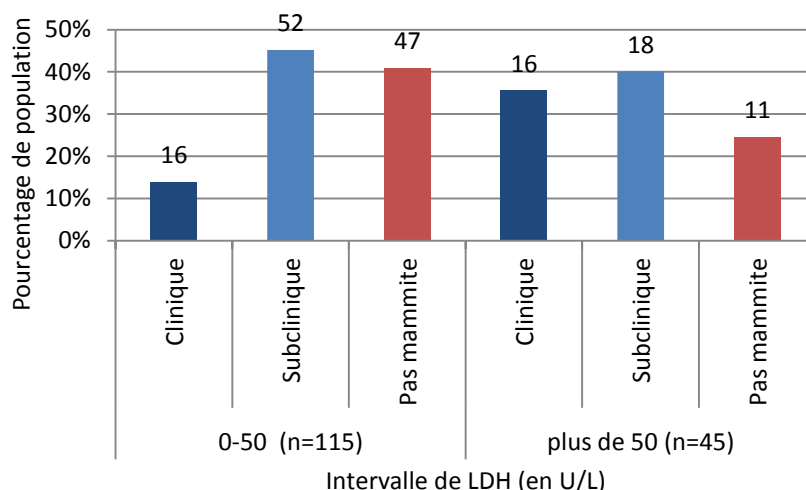


Figure 35 : Présence et nature des mammites en fonction de l'activité de la LDH mesurée dans le lait le jour de l'examen chez les vaches dont l'activité de la LDH a dépassé 40 U/L mais n'ayant pas déclenché d'alarme *Mammite* ; le chiffre indiqué au-dessus des barres représente l'effectif de chaque catégorie ($p = 0,002$).

On remarque que la proportion de vaches sans mammite diminue quand l'activité de la LDH augmente, de même que la proportion de vaches en mammite clinique augmente nettement avec l'activité de la LDH. La mesure de l'activité de la LDH semble donc être un bon indicateur de la gravité des éventuelles mammites, particulièrement lorsque l'activité est au-delà de 50 U/L.

Avec 100% des vaches présentant au moins un site inflammatoire lorsque la mesure de l'activité de la LDH dépasse les 100 U/L, la mesure brute de l'activité de la LDH le jour de l'examen semble être un bon indicateur de la présence d'une inflammation. Les tests statistiques vont également en ce sens. En revanche, ils révèlent que l'activité de la LDH n'est pas influencée par le nombre de sites en inflammation.

Concernant les inflammations mammaires, on note une nette augmentation de la proportion de vaches en mammite lorsque l'activité de la LDH augmente. On aurait donc un intérêt de la LDH pour la détection des mammites, même en dehors des alarmes envoyées par le logiciel. C'est donc bien la mamelle que l'éleveur devra aller vérifier si une vache sans alarme mammite présente un dosage de la LDH élevé, en particulier s'il est supérieur à 100 U/L.

4. Discussion

4.1. Conditions expérimentales

Lors de cette étude, les conditions expérimentales ont connu des variations notables. En effet, les examens cliniques sur les vaches de l'échantillon n'ont pas toujours été réalisés au même moment de la journée. Pour la majorité, les examens ont été réalisés dans la matinée, entre 8h et 11h, mais il est arrivé que des examens doivent être reportés dans la soirée, car le temps nécessaire à leur réalisation était élevé et que l'éleveur ne pouvait laisser ses vaches à l'attache (en effet, le système de traite au robot nécessite que les vaches soient en circulation libre pour passer sur les différentes zones : traite, alimentation, repos). En conséquence, la température extérieure était variable, ce qui pouvait influencer la température rectale.

De plus, l'étude s'est déroulée dans un élevage expérimental ; de ce fait, les éleveurs étaient tous salariés, et les traitements notamment étaient gérés par un responsable désigné. Lors de plusieurs semaines sur la durée de l'étude, ce responsable était en congés, d'où un net changement dans la prise en charge des mammites et des métrites notamment. Il est important de prendre ce facteur en compte dans l'interprétation de l'évolution des inflammations, car il a pu avoir un impact sur la disparition ou non des inflammations au cours de l'étude. De plus, il est difficile de conclure quant à la nécessité ou pas d'un traitement lorsqu'une alarme *Mammite* par le système, par exemple, puisque nous ne savons pas lorsqu'ils ont eu lieu ou pas au cours de notre expérimentation et ne pouvons donc pas juger de la part d'auto-guérison chez les vaches étudiées.

Il est également important de noter que l'élevage présentait déjà un problème chronique de boiteries. Ainsi, environ 60% des vaches de l'échantillon présentaient une boiterie. A titre d'exemple, la prévalence des boiteries dans les troupeaux laitiers au Royaume-Uni est évaluée à 22,1% (Whay, 2002). Notre échantillon cible les vaches en état inflammatoire,

mais la forte prévalence des boiteries peut être partiellement liée à un problème préexistant dans le troupeau, et n'est peut-être pas lié à l'échantillonnage seulement – c'est-à-dire à la sélection de vaches ayant une activité de LDH élevée.

Notre étude montre une prévalence des métrites de 45% chez les vaches à moins de 21 jours post-partum contre une prévalence de 21% dans une autre étude (Zwald et al, 2004). Concernant les endométrites, nous obtenons une prévalence de 12,8% ; la littérature fait état de prévalences comprises entre 10 et 20% (Sheldon et al, 2017). Enfin, concernant les mammites, notre étude montre une prévalence des mammites cliniques à 24,1% et des mammites subcliniques à 45,4% tandis que la littérature décrit des prévalences de 20-25% et 40% respectivement (Erskine et al, 1988).

Enfin, il faut signaler que la valeur de l'activité de LDH utilisée dans cette étude est la valeur brute, c'est-à-dire telle qu'elle a été mesurée par le robot de traite. Le logiciel propose également des valeurs lissées, ce qui permet d'éliminer les erreurs de mesure et autres valeurs aberrantes. Cependant, les conditions de l'étude (sélection des vaches à examiner sur la période de 3 à 4 jours précédant la visite, en incluant le jour de la visite) ne permettaient pas de considérer les valeurs lissées, mais uniquement les valeurs brutes. Cela a pu conduire à des « faux positifs » dans la sélection des vaches dont la LDH était élevée.

4.2. Analyse des données

Concernant l'analyse des données brutes, la difficulté principale a consisté à poser une norme basse pour différencier les vaches normothermes des vaches en hyperthermie. En effet, la température rectale d'une vache dépend de nombreux facteurs (stade de gestation, proximité du repas, température extérieure) qui étaient variables au cours de l'étude et n'ont pas pu être pris en compte dans l'analyse des données. La limite basse a été choisie à 39,5°C, conformément à d'autres études (Radostits et al, 2000). On ne peut cependant pas s'assurer qu'il s'agisse d'une hyperthermie « vraie ». Autrement dit, il reste difficile de s'assurer qu'aucune vache au-dessus des 39,5°C ne l'était pas pour des raisons physiologiques, ni qu'aucune vache en-dessous des 39,5°C n'était pas en hyperthermie.

Les alarmes *Mammite* sont calculées à partir de plusieurs données, mises en relation par un algorithme, qui n'était pas à notre disposition pour cette étude. Cela a également compliqué l'analyse des données, dans le sens où la présence ou l'absence d'une alarme n'était pas toujours corrélée à la mesure de LDH seule, sans pour autant qu'il soit possible d'en connaître les raisons.

Cette étude permet un calcul de la valeur prédictive positive des alarmes mammites, mais ne permet cependant pas d'évaluer sa sensibilité. En effet, seul a été étudié l'échantillon des vaches réellement en alarme (ou dont la LDH avait dépassé 40 U/L). La sensibilité, pour être évaluée, aurait nécessité que l'intégralité du cheptel reçoive un examen clinique à chaque visite de l'élevage, soit deux fois par semaine, ce qui était impossible dans les conditions de cette étude.

4.3. Bilan des résultats

Cette étude s'intéressait, dans un troupeau laitier dont la traite était effectuée par un robot Delaval associé au logiciel Herd Navigator™, aux vaches ayant déclenché une alarme *Mammite* ou dont l'activité de la LDH aurait dépassé les 40 U/L.

Dans cet échantillon du troupeau, environ 9 vaches examinées sur 10 présentaient au moins un site inflammatoire. Les mammites et les boiteries étaient les principales sources d'inflammation, ainsi que les métrites chez les vaches à moins de 21 jours post-partum. Concernant la santé mammaire, environ 7 vaches testées sur 10 présentaient un CMT positif, avec une majorité de quartiers en mammite subclinique. La fréquence des mammites augmentait avec le nombre de jours en lactation, tandis que la fréquence des affections génitales diminuait.

La valeur prédictive positive de l'alarme *Mammite* a été évaluée par cette étude à 82,4%. Une étude conduite sur un système similaire permettait d'obtenir une spécificité de 99% et une sensibilité de 82% (Chagunda et al, 2006b). Notre étude ne permet cependant pas d'évaluer la sensibilité de l'alarme. En effet, seul a été étudié l'échantillon des vaches réellement en alarme (ou dont la LDH avait dépassé 40 U/L). La sensibilité, pour être évaluée, aurait nécessité que l'intégralité du cheptel reçoive un examen clinique à chaque visite de l'élevage, soit deux fois par semaine, ce qui était impossible dans les conditions de cette étude.

Lors du second examen clinique, les mammites restaient majoritairement de même nature. Autrement dit, le modèle ne signalait pas les mammites « trop tôt » pour qu'elles soient ensuite détectées par l'éleveur ou un vétérinaire.

Aucun intérêt du Risque fourni par le système n'a été trouvé au cours de cette étude. Il en est de même pour la valeur brute de LDH des vaches en mammite, également accessible à l'éleveur. Il est cependant intéressant de prendre en compte deux éléments à ce sujet :

- concernant les valeurs de Risque ou de LDH le jour de l'alarme, il se peut que les valeurs aient peu d'impact sur l'examen car prises trop longtemps auparavant (plusieurs jours pouvaient en effet séparer l'alarme de l'examen)
- concernant les valeurs de Risque ou de LDH le jour de l'examen, les effectifs étaient faibles, car ces valeurs n'étaient pas toujours fournies par le système sur le jour qui nous intéressait. Il pourrait donc être intéressant d'étudier l'intérêt du Risque calculé par le système sur un effectif plus grand.

Enfin, cette étude montre un certain intérêt de la mesure de l'activité de la LDH sur l'ensemble de l'échantillon. En effet, la présence d'une inflammation est plus probable chez des vaches dont l'activité de la LDH est plus haute (cependant, le nombre de sites en inflammation n'influence pas l'activité de la LDH). De plus, sur les vaches qui ne sont pas en alarme, on observe que lorsque sa valeur est haute, la probabilité que la vache soit en mammite – et le plus souvent, en mammite clinique – est élevée. Cette mesure n'a en revanche pas d'intérêt pour la détection des boiteries. On notera enfin que les effectifs des vaches en inflammation (ou co-inflammation) génitale et systémique étaient trop faibles pour permettre une analyse de ces données.

Cette étude montre en effet un grand nombre de co-inflammations possibles : les vaches ont souvent plusieurs sites en inflammation, et les interactions entre ces différents sites inflammatoires, ainsi que leur impact sur l'activité de la LDH dans le lait, sont difficiles à évaluer en raison des faibles effectifs dans la majorité des catégories réalisées (on n'aura par exemple que 4 vaches présentant à la fois une inflammation mammaire et systémique, ou seulement 9 vaches présentant à la fois une inflammation podale et génitale. Une étude plus orientée vers ces co-inflammations et leur influence sur les marqueurs inflammatoires (comme l'activité de la LDH dans le lait, mais aussi dans le sang, par exemple) pourrait permettre de savoir quelles situations sont à surveiller.

CONCLUSION

Cette étude montre donc que l'alarme *Mammite*, déclenchée par le logiciel Herd Navigator™, a une valeur prédictive positive de 82,4%. Parmi les vaches positives, plus de la moitié présente uniquement un ou plusieurs quartiers subcliniques. L'alarme permet donc à l'éleveur de repérer des vaches sans mammite clinique et de les traiter avant que leur état ne s'aggrave. Herd Navigator™ donne également accès à la valeur d'activité de LDH mesurée dans le lait, ainsi qu'à un pourcentage de risque de mammite, mais notre étude n'a pas permis de démontrer un intérêt de ces mesures dans ce contexte.

Un second examen des vaches en alarme, effectué quelques jours après le premier, montre que l'alarme n'est pas trop précoce et que les inflammations sont persistantes, ce qui signifie qu'une vache en alarme pourra être directement examinée et traitée ni nécessaire, même si cet examen a lieu quelques jours après le déclenchement de l'alarme.

La valeur d'activité de LDH mesurée dans le lait présente peu d'intérêts en-dehors de la santé mammaire. En revanche, une vache qui n'est pas en alarme, mais qui présente une mesure de LDH élevée, devra être surveillée attentivement, voire examinée, car elle est susceptible de présenter une mammite dans 63,8% des cas (un pourcentage qui s'élève à 100% lorsque l'activité de la LDH dépasse 100 U/L).

Notre étude a permis de montrer que les boiteries ne modifiaient pas l'activité de la LDH dans le lait. En revanche, il a été impossible de conclure sur l'impact possible des métrites, endométrites ou des affections systémiques. L'étude bibliographique n'a cependant montré aucune preuve scientifique d'un passage de la LDH dans le lait en-dehors des situations d'inflammation de la mamelle.

Afin de déterminer plus précisément l'intérêt du logiciel Herd Navigator™ dans la détection des mammites, une seconde étude pourrait être conduite, orientée cette fois-ci vers la sensibilité des alarmes. En effet, notre étude ne s'intéressait qu'à un échantillon du troupeau, et non à l'intégralité du cheptel ; de ce fait, nous ne pouvons pas savoir si les alarmes permettent bien de détecter toutes les vaches en mammite, ou bien si l'éleveur doit, en plus de surveiller les individus qui sont en alarme, observer l'intégralité de son troupeau pour y repérer d'éventuels faux négatifs.

En raison notamment d'effectifs trop faibles dans beaucoup de situations inflammatoires et co-inflammatoires, cette étude ne permet pas non plus d'établir un protocole centré sur l'activité de la LDH et permettant à l'éleveur de sélectionner les vaches à fort risque inflammatoire. Une étude avec de plus grands effectifs et recherchant les corrélations entre sites inflammatoires et activité de la LDH mesurée dans le lait (mais aussi pourquoi pas dans le sang) pourrait permettre de donner à l'éleveur des clés pour repérer les vaches à risque de métrite ou d'endométrite, et pas uniquement à risque de mammite.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, **Sylvie CHASTANT-MAILLARD**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Agathe KERBIRIOU** intitulée « Intérêt d'un outil de médecine de précision pour l'aide à la décision en santé mammaire et l'évaluation de l'état inflammatoire chez la vache laitière » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 23 octobre 2018
Professeur Sylvie CHASTANT-MAILLARD
Enseignant Chercheur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Sylvie Chastant-Maillard
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
31076 Toulouse Cedex 03
France

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



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Éric OSWALD

Eric Oswald
Professeur Eric OSWALD
Chef de Service
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène
Institut Fédératif de Biologie
330 av. de Grande Bretagne - TSA 40031
31059 TOULOUSE CEDEX 9

Mlle Agathe KERBIRIOU
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017
a validé son année d'approfondissement le : 18/07/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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

Monsieur Jean-Pierre VINEL
Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

Régine Andre-Obrecht
Régine ANDRE-OBRECHT

BIBLIOGRAPHIE

AMADOR E., DORFMAN L.E., WACKER W.E.C. Serum Lactic Dehydrogenase Activity: An Analytical Assessment of Current Assays. *Clin. Chem.* 1963, 9, 4391-4399.

BERGMEYER H.U., GAWEHN K. *Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition)*. Verlag Chemie GmbH. Elsevier. Cambridge, Etats-Unis. 1974.

BIGL M., BRÜCKNER M.K., ARENDT T., BIGL V., ESCHRICH K. Activities of key glycolytic enzymes in the brains of patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 1999, 106, 499-511.

BOGIN E., ZIV G. Enzymes and minerals in normal and mastitic milk. *Cornell Veterinarian.* 1973, 63, 666–676.

BOGIN E., ZIV G., AVIDAR J. Enzyme activities in normal and inflamed bovine udder tissues. *Zentralblatt Veterinärmedizin A.* 1976, 23, 460–466.

BOLOTINA I.A., MARKOVICHM D.S., VOLKENSTEINV., ZAVODZKY P. Investigation of the conformation of lactate dehydrogenase and of its catalytic activity. *BBA Enzymology.* 1967, 132, 271-281.

BROOKS L., OLKEN H.G. An Automated Fluorometric Method for Determination of Lactic Dehydrogenase in Serum. *Clin. Chem.* 1965, 11, 748-762.

CABAUD P.G., WROBLEWSKI F. Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Am. J. Clin. Pathol.* 1958, 30, 234-236.

CHAGUNDA M.G., LARSEN T., BJERRING M., INGVARSEN K.L. L-lactate dehydrogenase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. *J. Dairy. Res.* 2006a, 73, 431-40.

CHAGUNDA M.G., FRIGGENS N.C., RASMUSSEN M.D., LARSEN T. A model for detection of individual cow mastitis based on an indicator measured in milk. *J. Dairy Sci.* 2006b, 89, 2980-98.

CHASTANT S. L'inflammation peripartum : amie et ennemie de la vache. *ReproMag.* 2017, 17, 16-23.

CHERNECHY C., BERGER B.J. *Laboratory Tests and Diagnostic Procedures (Fifth Edition)*. Saunders Elsevier. Cambridge, Etats-Unis. 2007.

CONTRERAS G.A., SORDILLO L.M. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2011, 34(3), 281-289.

DECKER T., LOHMANN-MATTHES M.L. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *J. Immunol. Methods.* 1988, 115, 61-69.

DIXON M., WEBB E. C. *Enzymes*. Longmans, Green and Co. Harlow, Royaume-Uni. 1958.

DUFOUR F., KONING E, NEHLIG A. Basal levels of metabolic activity are elevated in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS): measurement of regional activity of cytochrome oxidase and lactate dehydrogenase by histochemistry. *Exp. Neuro.* 2003, 182, 346-352.

ERSKINE, R.J., EBERHART R.J., HUTCHINSON L.J., SPENCER S.B., CAMPBELL M.A. Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *J.A.V.M.A.* 1988, 192-761.

FAN J., HITOSUGI T., CHUNG T.W., XIE J., GE Q., GU T.L. et al. Tyrosine phosphorylation of lactate dehydrogenase A is important for NADH/NAD(+) redox homeostasis in cancer cells. *Mol. Cell. Biol.* 2011, 31, 4938–4950.

FIRTH J.D., EBERT B.L., RATCLIFFE P.J. Hypoxic regulation of lactate dehydrogenase A. Interaction between hypoxia-inducible factor 1 and cAMP response elements. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 21021–21027.

FOGH-ANDERSEN N., SØRENSEN P., MØLLER-PETERSEN J., RING T. Lactate Dehydrogenase Isoenzyme 1 in the Diagnosis of Myocardial Infarction. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1982, 20(5), 291-294.

GRIMM M., ALEXANDER D., MUNZ A., HOFFMANN J., REINERT S. Increased LDH5 expression is associated with lymph node metastasis and outcome in oral squamous cell carcinoma. *Clin. Exp. Metastasis.* 2013, 30, 529–540.

HAMBITZER R., SOMMER H. Determination of lactate dehydrogenase in bovine milk--a simple method for diagnosis of subclinical mastitis. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1987, 34, 721-727.

HANSON D.G., JUHN S.K., GIEBINK G.S., PAPARELLA M.M. Lactate Dehydrogenase as a Measure of Inflammation in Experimental Otitis Media. *Arch Otolaryngol.* 1978, 104(6), 333-5.

Hugo Gene Nomenclature Committee (HGNC). LDHC lactate dehydrogenase C. In : National Center for Biotechnology Information. Consulté le 15/05/2018. Dernière mise à jour le 08/04/2018. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3948>.

HOLMES R.S., GOLDBERG E. Computational analyses of mammalian lactate dehydrogenases: human, mouse, opossum and platypus LDHs. *Comput. Biol. Chem.* 2009, 33 (5), 379-385.

KATO K., MORI K., KATOH N. Contribution of leucocytes to the origin of lactate dehydrogenase isozymes in milk of bovine mastitis. *Japan. J. Vet. Sci.* 1989, 51, 530–539.

KOLEV Y., UETAKE H., TAKAGI Y., SUGIHARA K. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) expression in human gastric cancer: association with hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) pathway, angiogenic factors production and poor prognosis. *Ann. Surg. Oncol.* 2009, 15, 2336–2344.

KOOLMAN J., ROEHM K.H. *Color Atlas of Biochemistry*, 2nd edition. Thieme, Flexibook. Stuttgart, Allemagne. 2005.

KOUKOURAKIS M.I., GIATROMANOLAKI A., SIVRIDIS E, GATTER KC, TRARBACH T, FOLPRECHT G et al. Prognostic and predictive role of lactate dehydrogenase 5 expression in colorectal cancer patients treated with PTK787/ZK 222584 (vatalanib) antiangiogenic therapy. *Clin. Cancer. Res.* 2011, 17, 4892–4900.

KOUKOURAKIS M.I., GIATROMANOLAKI A., PANTELIADOU M., POULILIOU S.E., CHONDROU P.S., MAVROPOULOU S., SIVRIDIS E. Lactate dehydrogenase 5 isoenzyme overexpression defines resistance of prostate cancer to radiotherapy. *Br. J. Cancer.* 2014, 110, 2217–2223.

LAKOWICZ J. R., SZMACINSKI H., NOWACZYK K., JOHNSON M. L.. Fluorescence lifetime imaging of free and protein-bound NADH. *Proc. Nat. Ac. Sci. U.S.A.* 1992, 89, 1271-1275.

LANDAIS E., COULON J.B., GAREL J.P., HODEN A. Caractérisation de la pathologie de la vache laitière à l'échelle de la lactation. Principaux facteurs de variation et typologie des profils pathologiques de lactation. *Annales de Recherches Vétérinaires.* 1989, 20 (3), 277-294.

LARSEN T. Determination of lactate dehydrogenase (LDH) activity in milk by a fluorometric assay. *J. Dairy Res.* 2005, 72, 209-216.

LU H., DALGARD C.L., MOHYELDIN A., MCFATE T., TAIT A.S., VERMA A. Reversible inactivation of HIF-1 prolyl hydroxylases allows cell metabolism to control basal HIF-1. *J. Biol.* 2005, 280, 41928–41939

RADOSTITS O., ARUNDEL J., GAY C. *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.* 9th Edition. Elsevier Health Sciences. Chem. Amsterdam, Netherlands.

READ J.A., WINTER V.J., ESZES C.M., SESSIONS R.B., BRADY R.L. Structural basis for altered activity of M- and H-isozyme forms of human lactate dehydrogenase. *Proteins.* 2001, 43, 175-185.

SCHUEREN F., LINGNER T., GEORGE R., HOFHUIS J., DICKEL C., GÄRTNER J., THOMS S. Peroxisomal lactate dehydrogenase is generated by translational readthrough in mammals. *eLife.* 2014, 3, e03640.

SEMENZA G.L., JIANG B.H., LEUNG S.W., PASSANTINO R., CONCORDET J.P., MAIRE P., GIALLONGO A. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 32529–32537.

SHELDON I.M., OWENS S.E. Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. *Anim. Reprod.* 2017, 14, 622-629.

SOMMER H., HAMBITZER R. & AYDIN I. LDH activity and correlations to pathogenic and non-pathogenic micro-organisms in dairy-milk. *Isr. J. Vet. Med.* 1986, 42, 373–375.

SULAIMAN S.T., AL-NAJAFI T.S., HAMDON H.S. Sensitive method for measuring lactate dehydrogenase activity in human serum by differential-pulse polarography. *Analyst*. 1994, 119, 2199-2200.

SUTHAR V., BURFEIND O., BONK S., VOIGTSBERGER R., KEANE C., HEUWIESER W. Factors associated with body temperature of healthy Holstein dairy cows during the first 10 days in milk. *J.Dairy Res.* 2012, 79, 135-142.

SYMONS D.B.A., WRIGHT L.J. Changes in bovine mammary gland permeability after intramammary exotoxin infusion. *J. Comp. Pathol.* 1974, 84, 9–17.

VALVONA C.J., FILLMORE H.L., NUNN P.B., PILKINGTON G.J. The Regulation and Function of Lactate Dehydrogenase A :Therapeutic Potential in Brain Tumor. *Brain Pathol.* 2016, 26 (1), 3-17.

WEIDNER N. Laboratory diagnosis of acute myocardial infarct: usefulness of determination of lactate dehydrogenase (LDH)-1 level and of ratio of LDH-1 to total LDH. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1982, 106, 375-377.

WHAY H. Locomotion scoring and lameness detection in dairy cattle. *In Practice*. 2002, 24, 444-449.

WROBLEWSKI F., LADUE J.S. Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1955, 90, 210-213.

ZANK W., SCHLATTERER B. Assessment of subacute mammary inflammation by soluble biomarkers in comparison to somatic cell counts in quarter milk samples from dairy cows. *J. Vet. Med.* 1998, 45, 41–51.

ZHAO X., LACASSE P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J. Anim. Sci.* 2008, 86, 57-65.

ZHAO D., ZOU S.W., LIU Y., ZHOU X., MO Y., WANG P. Lysine-5 acetylation negatively regulates lactate dehydrogenase A and is decreased in pancreatic cancer. *Cancer Cell.* 2013, 23, 464–476.

ZWALD N.R., WEIGEL K.A., CHANG Y.M., WELPER R.D., CLAY J.S. Genetic selection for health traits using producer-recorded data. I. Incidence rates, heritability estimates, and sire breeding values. *J Dairy Sci.* 2004, 87, 4287-4294.

NOM : KERBIRIOU

PRENOM : Agathe

TITRE : Intérêt d'un outil de médecine de précision pour l'aide à la décision en santé mammaire chez la vache laitière.

RESUME : Le logiciel Herd Navigator™ est un outil d'élevage de précision effectuant à intervalles réguliers des mesures de l'activité de la LDH dans le lait. L'objectif de cette étude était de déterminer l'exactitude des alarmes *mammite* déclenchées par ce logiciel. Au sein d'un élevage, les 295 vaches ayant déclenché cette alarme ou dont l'activité de la LDH dépassait 40 U/L ont fait l'objet de deux examens cliniques à quelques jours d'intervalle (CMT, température rectale, examen vaginal, score de boiterie).

L'alarme *mammite* présente ainsi une valeur prédictive positive de 82.35% dès le premier examen. Plus de la moitié des mammites (55,4%) sont subcliniques. De plus, une activité de la LDH supérieure à 40 U/L, même en-dehors d'une situation d'alarme, est révélatrice d'une mammité dans 63.75% des cas (100% des cas si activité supérieure à 100 U/L). L'éleveur doit donc examiner et si besoin traiter les vaches en alarme ou ayant une activité de LDH élevée.

MOTS-CLES : Mammité ; Inflammation ; Herd Navigator ; LDH ; Boiterie ; Métrite ; Endométrite

TITLE: Benefit of a precision medicine software for the decisions concerning the mammary health of the dairy cow.

SUMMARY: The Herd Navigator™ system is a connected device making frequent measuring of the milk LDH activity. This study's purpose was to establish the accuracy of alarms reporting mastitis to the farmer. In a farm, 295 cows triggering this alarm or with an increased value of LDH activity (over 40 U/L) were given two clinical examinations within a few days of each other, including a CMT, rectal temperature, vaginal examination and lameness scoring.

The *mastitis* alarm had a positive predictive value of 82.35% for the first examination. Over a half of the mastitis (55,4%) were subclinical. Moreover, a LDH activity value over 40 U/L, even in the milk of alarm-free cows, indicated the presence of mastitis in 63.75% cases (100% cases if the activity value was over 100 U/L). Thus the farmer should examine – and if necessary cure – his cows when an alarm is triggered for them, or when their LDH activity increases.

KEY-WORDS: Mastitis ; Inflammation ; Herd Navigator ; LDH ; Lameness ; Metritis ; Endometritis