

EXCES CHRONIQUE D'AZOTE CHEZ LES BOVINS *BIOCHIMIE SANGUINE ET RUMINALE* *Etude expérimentale*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement le 5 janvier 2010
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Jean-Marie, Gustave FERRATON
Né le 04.08.1983, à Saint-Flour (15)

Directeur de thèse : M. le Professeur François SCHELCHER

JURY

PRESIDENT :

M. DABERNAT Henri

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. SCHELCHER François
M. ENJALBERT Francis

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

MEMBRE(S) INVITES(S) :

M. RABOISSON Didier

Assistant d'enseignement et de recherche à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse

EXCES CHRONIQUE D'AZOTE CHEZ LES BOVINS *BIOCHIMIE SANGUINE ET RUMINALE* *Etude expérimentale*

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2010
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Jean-Marie Gustave FERRATON
Né le 04.08.1983, à Saint-Flour (15)

Directeur de thèse : M. le Professeur François SCHELCHER

JURY

PRESIDENT :

M. DABERNAT Henri

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. SCHELCHER François
M. ENJALBERT Francis

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

MEMBRE(S) INVITES(S) :

M. RABOISSON Didier

Assistant d'enseignement et de recherche à l'Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires : M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	
M. C. PAVAU	M. ECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D. GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. BRAUN Jean-Pierre, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. DORCHIES Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. TOUTAIN Pierre-Louis, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{re} CLASSE

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

PROFESSEURS 2^e CLASSE

Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Pharmacologie et Thérapeutique*
M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistique, Modélisation*
M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
M. PICAVET Dominique, *Pathologie infectieuse*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mme TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

INGENIEUR DE RECHERCHE

- M. TAMZALI Youssef, *Responsable Clinique Equine*
M. REYNOLDS Brice, *Médecine, Ophtalmologie*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, (DISPONIBILITE) *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du Bétail*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
M MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants.*
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
Mme TROEGELER-MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUEL

- Mlle BUCK-ROUCH, *Médecine interne des animaux de compagnie*
M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
M. DOUET Jean-Yves, *Ophtalmologie*
M. SEGUELA Jérôme, *Médecine interne des animaux de compagnie*
M. VERSET Michaël, *Chirurgie des animaux de compagnie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. GIN Thomas, *Production et pathologie porcine*
M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la reproduction*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*
Mlle TREVENNEC Karen, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Henri DABERNAT

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Bactériologie-hygiène,

Qui nous fait l'honneur de présider ce jury de thèse
Veuillez accepter mes hommages respectueux.

A Monsieur le professeur François SCHELCHER

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse cour,

Qui nous fait l'honneur de participer à notre jury de thèse
Veuillez croire en mon amitié la plus profonde.

A Monsieur le professeur Francis ENJALBERT

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation,

Qui nous fait l'honneur de participer à notre jury de thèse
Veuillez considérer mon respect le plus sincère.

Et aux TRES nombreuses personnes qui m'ont aidé à réaliser ces travaux de thèse :

- Didier RABOISSON (ENVT), pour le travail accompli parfois dans la douleur, mais sans qui tout ceci n'aurait pas été possible. Mille mercis pour ta disponibilité et pour tout ce boulot tombé. J'ai ainsi pu découvrir à tes côtés ce que le mot RIGUEUR pouvait signifier. Tu m'auras bien « bougé » !
- MC NICOT (alimentation ENVT) pour son investissement dans mes travaux, sa patience et sa gentillesse ; et bien sûr toute l'équipe de la chaire d'alimentation pour la bonne ambiance qui règne dans ce labo.
- Le personnel du laboratoire d'analyse des consultations canine de l'ENVT pour leur rapidité et leur adaptation à nos souhaits.
- Le personnel technique des chaires de bovine et de reproduction pour leur collaboration si précieuse.
- Loïc DE MARCHI et Allain MILLET et à ces innombrables heures passées dans cette stabulation à défumer, nourrir, peser, prélever, aliquoter, centrifuger ...
A ces cafés-chocolatines pré prélèvements et ces apéro post prélèvements
- A ces 4 TOTOS de 800 kg, bêtes comme leurs sabots mais si attachants au final !
- A tous les intermittents de cet essai pour leur « bénévolat » : Alexis FERRIERES (père spirituel des totos), Alexandre BELLIARD (le Mr à tout faire, toujours là quand il faut), Odile ARNAUDIES (spécialisée dans le prélèvement d'urine), Pauline BORIES (pour les casse-croustes), Julie TABEL (Pour les stat), Vivien PHILIS, Fabien LAGOUTTE, Marie MARTORELLO, Patrick COUSINIE, JS VIVLLE, Xavier DUBORD et j'en oublie ...

Merci à l'équipe vétérinaire de la Primaube – Rodez et à ses éleveurs pour m'avoir permis de faire mes premières armes dans ce métier.

- Merci à Lionel LAFON et Patrice ARNAL pour la confiance dont ils m'ont fait part. Je leur suis profondément reconnaissant de m'avoir guidé dans mes premières expériences de terrain. Ah si tous les patrons étaient comme vous !!!
- Merci à cette fameuse équipe de secrétaires : Florence, Elodie, Mathilde et Brigitte et Cathy bien sûr ! Ne changez rien dans votre accent aveyronnais : il me fera toujours rigoler. Et le Cht'i ? n'en parlons pas !!! Pour tous ces bons moments passés à rire : MERCI !

A mes **parents**, si complémentaires, si précieux pour moi. Toujours là pour leurs enfants, et qui ont fait tant de sacrifices pour leurs réussites. Vous vous dites fiers de nous, mais je ne crois pas beaucoup me tromper si au nom des trois, je vous dis que nous aussi nous sommes fiers de vous aussi. Merci d'avoir toujours été là pour moi dans les moments de réussite mais aussi et surtout dans les moments plus difficiles. Je vous dois tout et vous aime très fort ...

A mes deux sœurs, **Hélène** et **Lucie** qui tant de fois subissent mes sautes d'humeur. A ma grande sœur qui parle souvent pour ne rien dire (et ça me fera toujours autant rire) mais qui a si bien ouvert le chemin pour les deux autres. A la petite dernière, qui m'énerve si souvent quand elle est là mais qui, je dois bien le dire ici, me manque quand elle est absente ! Je vous aime ...

A **Marguerite Malbec**, ma grand-mère, que je n'ai jamais vue de mauvaise humeur. Merci pour l'esprit de famille que tu as si bien su nous transmettre. Tes pains perdus resteront cultes, personne ne les réussis mieux que toi ...

A ma **famille** source de réconfort perpétuel. De ces noëls à Orcières au coin du feu, à ces 15 aout dans le vieux four, je réalise la chance que j'ai d'avoir les Ferrat d'un côté, et la mafia de l'autre.

A ma fillote, **Eloïse**, source de tant de joie et de fierté. Tu fais courir ton petit monde et moi le premier. Merci à Yves et mumu de la confiance dont ils m'ont fait part, je serai toujours là pour toi ...

A **Robert Boyer**, mon qui aura su me transmettre les valeurs du rugby, depuis les cadets jusqu'en juniors. En quelques saisons, de par ton investissement sans limite tu auras su faire de cette équipe, une bande de copains pour qui le rugby était une passion : Merci !

A la famille BY, mes amis d'enfance du pays Sanflorain : **Aline, Isa, Steph, Pierro, Pedro, Ju, Farid, Ben** et leur pièce rapportée. A toutes ces années passées à vos côtés avec nos délires (parfois si particuliers), ces soirées anniversaires, ces campings SAUVAGES, ces vacances mouvementées. Je suis heureux de vous compter encore parmi mes amis : pour tout cela je vous dis : « Y a pas de quoi ! »

A ma petite **Julie**, qui partage ma vie depuis bientôt 4 ans. Soutien inconditionnel, tu m'apportes au quotidien, réconfort, zénitude, équilibre et motivation. Tu fais de moi un homme heureux qui a confiance en l'avenir avec toi ...
Je suis fier de toi et je t'aime

A **Xavier Leseur**, taquet, co-promo de cette fameuse promo d'ASV 2007. A toutes ces journées qui n'ont servi à rien, ces craquages en révisant, ce TP d'anatomie où le port du scalpel nous été interdit. A ces 24 789 Mac Do reconstructeurs. A ces 2 étés passés à la clinique de Clermont l'Hérault, lieu de nos premières expériences professionnelles parfois particulières : V-RG- !!

A **Xavier Dubord**, la Dub, la Douve, Doubounet, la Panse, bref l'homme le plus diplomate que j'ai connu. Le coup de la moulinette restera pour moi une référence. Tu es un véritable artiste d'un terrain de rugby (illustre membre de cette fameuse troisième ligne) jusque sur les pistes de danse. Je peux toujours compter sur toi, même pour m'acheter des chaussures, c'est pour dire... (Au fait elles me sont un peu petites !)

A **Vivien Philis**, Crado, l'homme le plus romantique de l'ENVT capable de pleurer sur mon épaule pour un capitanat (que tu auras eu). A ce concours de panse périgourdins qui s'est joué sur une part d'omelette norvégienne ... Cruel. A ces batailles entre moucherons et ces chatouilles sternelles ! Quelques imbécilités ont failli tout gâcher mais je suis content aujourd'hui de te compter parmi mes amis.

A **Edouard Huchin**, Babar, le bel homme, le plus grand n°7 du VRC que l'ENVT est connu et membre illustre de cette troisième ligne de rêve. Je te le dis toujours, le physique au rugby, c'est inutile. J'ai découvert le sens de l'accueil des gens du 4-7 : Tu es un sacré bon copain

A mes coloc **Alex**, l'animalière, et **Foufoune**, le compétiteur pour ces deux années passées au « Sgouig ». Je retiendrai mes 2% de victoires à PES (non significatif peut être mais tellement jouissives), ces espaces verts si bien entretenus, ces concours de plouf, ces tartiflettes, ces parties de Wii et de ping pong endiablées ...

A **Alexandre Belliard**, l'homme le plus sympa. Toujours là, toujours prêt à rendre service. Ma seule « objection » : ton KO simulé sur un coup de tête de vache une veille de ronde pour me refiler tous tes dossiers ! Je ne t'en veux pas ; t'es un sacré copain

A **Pat**, la plus grande gueule que l'ENVT ai connu. Toujours le dernier mot. Leader incontesté, gros bosseur, ta rhétorique et ton sens de l'humour, resteront cultes. Tu es mon mentor ...

A **Iban** Irubeta...., Ibanisovitch le terrible mais qu'une terrible percussive a terrassé un soir d'entraînement. Doc d'adoption, ces bons moments passés ensemble où les départs prévus à minuit se terminent à 5 heures : grandiose ... Un des rares à me plaindre les soirs de finale de Top 14 depuis 3 ans ! J'aime les basques ...

Au reste de la promo Brard, la meilleure que l'ENVT n'ait jamais connue, intégrée un dimanche midi, adoubé par Christophe Brard en personne, lors de cette fameuse sortie « élevage taurin » :

Son noyau dur : **Aude** (jamais invitée, toujours présente pour le plaisir de tous), **La bourde** (0 défaite en 372 confrontations à PES avec toi), **Carioux** (toujours chaud pour se battre mais toujours bien entouré), **Ronsard** (le plus déjanté) **Majida** (à notre amitié simple et sincère), **Mado** (Melle Hit only de la promo : Palapapa...), **Milou** (petit par la taille, grand par l'esprit), **Wallou** (WE dans le 4-7 mémorable), **Cyrielle** (et notre T1 NAC jamais réalisée), **Ben** (la blatte la plus dingue en soirée), **Baptiste** (et ces soirées poker), **Bouss** (37 km de

bouchon en Dordogne le 11.09.09, les journaux en parle encore), **Brice** (elle avait vraiment faim celle là !), **Léni** (toujours la bonne vieille blague grasse) **Loucoume, Marie, Fanny** Mais aussi Marie, La Rig (Tchaïc pute, ah ces Aveyronnais, business is business!), Balouk, Python, Cécile, Bruno, Raoul, Cyril, Steph, Raoul, et les autres...
Au groupe de TP de D3 et leurs représentés féminines **Alice et Juliette** qui ne s'échappaient pas lors des repas sur des débats

A cette équipe de folie de bovine au premier semestre de l'année 2007/2008 : Pat et Alex (Mes Mentors), Marie, Didile (organisatrice de covoiturage des vétos aveyronnais), Crado et Alex bien sûr, et puis Fred, Laeticia, Doogy, Caro, les Gilles, Fabien, Françoise, le Grand Schelch
Ces 70 heures hebdomadaires en valaient la peine

Au VRC, le plus grand club de l'ENVT et ses membres : Jean Seb, Rhymbo, La bouliche, Pat, Crado, Clement, Romain, la Muss, Vincent, La Rad, Francou, Greg, Psy, Babar, Iban, Bruno, Beubeuille, Jo, Cyril, Bala, gegette, tas de lasagne, Evence, Doudou, Jon, Shyk., Julien, le guid, Bubble, Sébastien Jacquinet (le seul au monde à m'avoir retourné !!!) J'ai pris du plaisir à vous gueuler dessus pendant 2 ans ; Bilan : on ne s'est pas fait marcher sur la gueule !!!

A l'équipe de Handball, championne d'académie 2007 : Timothée, Fouf, Antoine, Fabien L., tas de lasagne, Thibaut, Alain,

A ces bons poulots : Mumu (mon digne successeur dans les stats), la Bouliche, Zezette, tas de lasagne, Michou, la Gueid (tafiolle), Pierro (merci pour Marseille), Martin, Gaston les 2 Aurélie, Manon, Elise, Julie, Yohan, Cécile(s), Marielle
Je suis fier de vous et de vos descendants (ce sacré réverse clandé ou je pensais les plier ...)

A cette Promo d'accueil et ce taïaut mémorable : on s'est bien battu

A la promo de communistes : j'aurai tenté en vain de vous faire pencher de l'autre bord: Elsa, Timothée, tristan (mes demi colocs), Marivan, Jean Seb, Julien, Elsa, La Muss, chaton, popo, Steph... et vos poulots Nico, Guinette, Camille, Arthur ...

A mes Docs, Némoch, Pétrus, Bugs, Amandine, Zorba, Puche, le Chef, Doudou, Web, Doumé pour m'avoir appris les rouages de la vie estudiantine et les valeurs de cette sacré école !

A mes Doc d'adoption, Baz, Douze, Lionel, Bubble, Bob, Adrien, Laure ...

A Colette, toujours au courant de tout, toujours le petit truc en plus qui manque. La coopé se portera toujours bien avec vous aux commandes.

A toi Lulu, ces moments passés au cercle à discuter toujours des mêmes choses avaient vraiment une saveur particulière. Le cercle sans toi n'est plus vraiment le cercle. Pierre angulaire des générations de vétos toulousains tu resteras pour moi LE MONSIEUR de l'ENVT.

A la promo Agro 2001-2003 du DUT Biologie d'Aurillac : Xavier (mon binôme), Julien, Elodie, Philippe, Francois, Louis, Pierro, Lucie, manue ...

A la classe prépa de La Roque 2003-2004 et son fameux conseil de crise : Guillaume, julien, Denis et moi-même.

Aux personnes absentes ce jour, parties trop tôt, avec qui j'aurais tellement aimé partager ce moment :

Au Docteur Vétérinaire Jean Ferraton, Bon Papa, mon grand père et mon parrain, j'aurais tellement aimé partager mes premières expériences avec toi. Merci de m'avoir donné l'amour de ce métier. Je pense à toi souvent !

A Chantal Callet, Bonne Maman, ma grand-mère. Merci d'avoir su insuffler à la famille les valeurs qui sont les nôtres et qui rendent ces réunions de famille si agréables et si importantes pour moi ...

A Gustave Malbec, Papé, mon grand-père, toujours râleur pendant les matchs télévisés de rugby, mais que j'aimais tant. Merci d'avoir su garder soudée autour de toi et mamie cette Mafia tout aussi importante pour moi...

A Guy Serre, Tonton Guitou, qui m'a donné l'amour du monde agricole, du pays, des bêtes, et de la Salers. Ces moments passés à Esclairargues resteront un magnifique souvenir !

A Nadine Boyer, seconde mère de ses quinze gamins du samedi après midi sur le terrain de rugby. Je garderai de toi ta perpétuelle bonne humeur ...

Vous me manquez ...

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	17
TABLE DES ILLUSTRATIONS	20
TABLE DES ABREVIATIONS	23
INTRODUCTION	25
1. BESOINS ET APPORTS EN AZOTE CHEZ LES RUMINANTS.....	26
1.1. <i>Besoins en azote des ruminants</i>	26
1.2. <i>Apports en azote chez les ruminants</i>	26
1.3. <i>Circonstance d'apparition et fréquence des excès d'azote chez les ruminants</i>	26
2. EFFETS ZOOTECHNIQUES ET SANITAIRES DES EXCES D'AZOTE SOLUBLE.....	27
2.1. <i>Excès d'azote et reproduction</i>	27
2.2. <i>Excès d'azote et métabolisme énergétique</i>	28
2.3. <i>Excès d'azote et immunité</i>	28
2.4. <i>Excès d'azote et boiteries</i>	29
1^{ERE} PARTIE : MATERIEL ET METHODES	31
1. ANIMAUX.....	31
1.1. <i>Caractéristiques des animaux</i>	31
1.2. <i>Logement</i>	32
1.3. <i>Alimentation pré-essai</i>	32
2. ALIMENTATION ET PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	33
2.1. <i>Rations</i>	33
2.2. <i>Rotation alimentaire</i>	34
3. PRELEVEMENTS ET CONDITIONNEMENT DES ECHANTILLONS.....	35
3.1. <i>Jus de rumen</i>	35
3.2. <i>Sang</i>	35
3.3. <i>Prélèvement urinaire</i>	35
3.4. <i>Calendrier des prélèvements</i>	36
4. METHODES ANALYTIQUES.....	37
4.1. <i>Jus de Rumen</i>	37
4.2. <i>Sang</i>	38
4.3. <i>Urine</i>	39
5. SUIVI CLINIQUE.....	40
6. STATISTIQUES.....	41
6.1. <i>Calcul des moyennes pondérées</i>	41
6.2. <i>Analyse de l'effet ration sur les moyennes pondérées</i>	41
6.3. <i>Analyse des effets animal, période et ration sur les moyennes journalières individuelles périodiques</i>	41

6.4.	<i>Analyse des effets heure et ration sur les valeurs de chaque prélèvement</i>	42
6.5.	<i>Analyse de l'effet de paramètres biochimiques sur d'autres paramètres biochimiques</i>	42
7.	CALENDRIER EXPERIMENTAL.....	43
2^{EME}	PARTIE : RESULTATS	45
1.	EVOLUTION CLINIQUE ET COMPORTEMENT ALIMENTAIRE.....	45
2.	EVOLUTION DES PARAMETRES RUMINAUX MESURES	46
2.1.	<i>pH</i>	46
2.2.	<i>Ammoniaque</i>	48
2.3.	<i>Acides Gras Volatils</i>	51
3.	PARAMETRES SANGUINS MESURES.....	54
3.1.	<i>Ammoniémie</i>	54
3.2.	<i>Urémie</i>	57
3.3.	<i>Glycémie</i>	59
3.4.	<i>Bilan acido – basique</i>	62
3.5.	<i>Ionogramme</i>	68
3.6.	<i>Enzymes hépatiques</i>	73
4.	EVOLUTION DES PARAMETRES URINAIRES	74
4.1.	<i>pH</i>	74
4.2.	<i>Protéines urinaires</i>	74
5.	VARIATIONS DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES EN FONCTION D'AUTRES PARAMETRES BIOCHIMIQUES.....	75
5.1.	<i>Effets de l'ammoniaque ruminal</i>	75
5.2.	<i>Effets de l'ammoniémie</i>	76
5.3.	<i>Effets de l'urémie</i>	77
5.4.	<i>Effets de la bicarbonatémie et de la PCO₂</i>	79
3^{EME}	PARTIE : DISCUSSION	81
1.	METHODES DE PRELEVEMENT ET DE MESURE	81
1.1.	<i>Jus de rumen</i>	81
1.2.	<i>Sang</i>	83
1.3.	<i>Urine</i>	84
2.	MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES RUMINALES	85
2.1.	<i>Les concentrations en ammoniaque</i>	85
2.2.	<i>Le pH</i>	89
3.	MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES ET ACIDO-BASIQUES SANGUINES.....	92
3.1.	<i>L'ammoniémie</i>	92
3.2.	<i>Urémie</i>	96
3.3.	<i>Glycémie</i>	98
3.4.	<i>L'équilibre acido – basique</i>	100
3.5.	<i>Evolution de la kaliémie</i>	102
3.6.	<i>Le pH urinaire : réponse rénale à l'alcalose métabolique</i>	103

4. PERTINENCE DES NIVEAUX D'AZOTE TESTES.....	105
4.1. Niveaux d'azote atteints lors de la mise à l'herbe.....	105
4.2. Excès azotés et quantité de matière sèche ingérée (MSI).....	108
CONCLUSION	109
BIBLIOGRAPHIE.....	111

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES :

Figure 1 : Schéma d'une canule ruminale	31
Figure 2 : Evolution du pH ruminal au cours de la journée	46
Figure 3 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour le pH ruminal.	47
Figure 4 : Evolution des concentrations ruminales moyennes en ammoniacque au cours de la journée.....	48
Figure 5 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'ammoniacque ruminal.....	49
Figure 6 : Effet de la ration sur la concentration moyenne en ammoniacque du rumen.	50
Figure 7 : Evolution des AGV ruminiaux au cours de la journée	51
Figure 8 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour les acides gras volatils du rumen.	52
Figure 9 : Evolution des proportions en AGV au cours de la journée en fonction du régime.	53
Figure 10 : Evolution de l'ammoniémie au cours de la journée	54
Figure 11 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'ammoniémie.	55
Figure 12 : effet de la ration sur l'ammoniémie moyenne et maximale.....	56
Figure 13 : Evolution de l'urémie au cours de la journée	57
Figure 14 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'urémie.	58
Figure 15 : effet de la ration sur l'urémie moyenne et maximale	59
Figure 16 : Evolution de la glycémie au cours de la journée	60
Figure 17 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la glycémie.	60
Figure 18 : Evolution du pH sanguin au cours de la journée	62
Figure 19 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour le pH sanguin.	62
Figure 20 : Evolution de la bicarbonatémie au cours de la journée	64

Figure 21 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la bicarbonatémie.....	65
Figure 22 : Evolution de la pCO ₂ au cours de la journée.....	66
Figure 23 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la pCO ₂	66
Figure 24 : Evolution de la natrémie au cours de la journée.....	68
Figure 25 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la natrémie.....	69
Figure 26 Evolution de la kaliémie au cours de la journée.....	70
Figure 27 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la kaliémie.....	70
Figure 28 : Evolution de la chlorémie au cours de la journée.....	71
Figure 29 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la chlorémie.....	72
Figure 30 : Evolution du pH urinaire cours de la journée.....	74
Figure 31 : Relations entre les cocentrations d' ammoniacque ruminal et l'ammoniémie ou l'urémie.....	76
Figure 32 : Relations entre l'ammoniémie moyenne et maximale,l'urémie et la concentration en ammoniacque ruminal.....	77
Figure 33 : Relations entre l'urémie moyenne et maximale, l'ammoniémie moyenne et maximale, l'ammoniacque ruminale, la kaliémie et la bicarbonatémie.....	78
Figure 34 : Relations entre la bicarbonatémie , la pCO ₂ , la tCO ₂ et l'urémie maximale.....	79
Figure 35 : Production des 3 principaux AGV (Enjalbert, 2004).....	90
Figure 36 : Cycle de l'urée.....	94
Figure 37 : cycle de Krebs.....	99
Figure 38 : Voie d'élimination rénale de la glutamine (d'après Houpt, 1993).....	101
Figure 39 : Co-transport de l'ion ammoniacal (d'après Houpt, 1993).....	102
Figure 40 : Elimination rénale du NH ₄ ⁺	103
Figure 41 : Echanges rénaux entre les ions sodium, hydrogène et bicarbonate.....	104
Figure 42 : différences de concentrations ruminales en ammoniacque entre 2 régimes (Head, 1957).....	107

TABLEAUX :

Tableau 1 : Poids initial des bœufs à l'entrée au début de l'essai	31
Tableau 2 : Compositions des 4 rations	33
Tableau 3 : Calcul des caractéristiques des 4 régimes (Logiciel La Relev, 2004).....	34
Tableau 4: Récapitulatif de la répartition des rations pour chaque animal et période	34
Tableau 5 : calendrier expérimental	43
Tableau 6 : Evolution des poids	45
Tableau 7 : Moyennes pondérées quotidiennes du pH ruminal	47
Tableau 8 : Moyennes pondérées quotidiennes des concentrations ruminales en ammoniacque (mg/l).....	49
Tableau 9 : Moyennes pondérées quotidiennes de l'ammoniémie ($\mu\text{mol/l}$) en fonction du régime.....	55
Tableau 10 : Moyennes pondérées (mmol/l) de l'urémie en fonction du régime	58
Tableau 11 : moyennes pondérées des glycémies (mmol/l) en fonction des régimes.....	61
Tableau 12 : Moyennes pondérées quotidiennes du pH sanguin en fonction du régime	63
Tableau 13 : moyennes pondérées quotidiennes de la bicarbonatémie (mmol/l) en fonction du régime.....	65
Tableau 14 : Moyennes pondérées quotidiennes des pCO_2 en fonction du régime (mm Hg) .	67
Tableau 15 : moyennes pondérées des composants du ionogramme en fonction des régimes	73
Tableau 16 : moyennes pondérées des pH urinaires	74
Tableau 17 : analyse de variance sur les paramètres ruminal et sanguin.....	75
Tableau 18 : Valeurs moyennes et maximales des concentrations en ammoniacque ruminal (mg/l).....	85
Tableau 19 : Moyenne et écart-type de la glycémie en fonction du régime	98
Tableau 20 : moyennes pondérées des pH urinaires	103
Tableau 21 : Moyennes des pH urinaires des 3 premiers jour de l'essai	104
Tableau 22 : Contraintes calculées pour une race rustique à la mise à l'herbe sur 3 types de pâturages.....	105
Tableau 23 : Contraintes calculées pour une ration complète en faisant varier l'apport en ensilage de maïs	106
Tableau 24 : Dégradabilité théorique moyenne de l'azote (DTN) en pourcentage sur 72 fourrages verts dans le rumen (d'après Le Goffe, 1993).....	107

TABLE DES ABREVIATIONS

AGV : Acides Gras Volatils.

ANP : Azote non Protéique.

dr : digestibilité réelle.

DT : Dégradabilité Théorique.

MADég : Matière Azotée Dégradable.

MAM : Matière Azotée d'origine Microbienne.

MAnonDég : Matière Azotée non Dégradable.

MAT : Matière Azotée Totale.

MG : Matières Grasses.

MOD : Matière Organique Digestible.

MOF : Matière Organique Fermentescible.

MSI : Matière Sèche ingérées

PDI : Protéines Digestibles dans l'Intestin.

PDIE : Protéines réellement Digérées dans l'Intestin permises par l'Energie.

PDIM : Protéines réellement Digérées dans l'Intestin d'origine Microbienne.

PDIME : quantité de Protéines réellement Digérées dans l'Intestin d'origine Microbienne permise par l'Energie.

PDIMN : quantité de Protéines réellement Digérées dans l'Intestin d'origine Microbienne permise par l'Azote.

PDIN : Protéines réellement Digérées dans l'Intestin permises par l'Azote.

PIA : Protéines Intestinales d'origine Alimentaire.

PIM : Protéines Intestinales d'origine Microbienne.

UF : Unité Fourragère.

INTRODUCTION

Les fermentations ruminales des aliments ingérés conduisent à des produits terminaux (acides gras volatils – AGV-, protéines d'origine microbienne, vitamines B et K, ...) qui, après absorption, seront métabolisés par les tissus de l'hôte et serviront à couvrir ses besoins nutritionnels.

Cette activité microbienne nécessite des conditions physico-chimiques du contenu ruminal relativement constantes.

Les troubles du fonctionnement de l'écosystème ruminal peuvent être aigus ou chroniques, et concernent aussi bien le métabolisme énergétique, azoté que vitaminique.

Les mécanismes des troubles aigus (acidose ruminale aiguë, intoxication par l'urée, intoxication par le tourteau de soja) sont bien connus, de même que les mesures thérapeutiques associées. (*Braun, 1992; Edjtehadi, 1978; Nagaraja, 2007; Whitehair, 1989; Ferrières 2009*)

Les effets ruminiaux, sanguins et cliniques des excès aigus d'azote ont été bien décrits pour l'intoxication par l'urée (*Edjtehadi, 1978; Emmanuel, 1982 ; Whitehair, 1989*) et ont été récemment décrits lors d'intoxication par le tourteau de soja (*Ferrières, 2009*). L'ingestion massive de tourteau de soja à raison de 1 et 2 % du poids vif (3.6 et 8.1 kg de MB) induit une évolution biphasique. La première phase est caractérisée par une acidose ruminale, due à une forte production d'AGV, et associée à une alcalose métabolique sanguine. Dans la seconde phase (> 14 heures), la concentration en ammoniacque ruminal augmente fortement induisant une hyperammoniémie probablement responsable des troubles cliniques.

Les mécanismes des troubles chroniques des fermentations ruminales sont moins bien connus, même si une partie des mécanismes est commune avec les troubles aigus. Ainsi, lors d'acidose ruminale chronique et aiguë, l'accumulation des acides gras volatils est-elle impliquée, alors que l'acide lactique ne l'est que dans l'acidose ruminale aiguë.

Les excès chroniques d'azote peuvent résulter d'un déséquilibre modéré et persistant entre apports et besoins en azote, mais aussi entre apports azotés et apports en énergie.

1. Besoins et apports en azote chez les ruminants

1.1. Besoins en azote des ruminants

Les besoins protéiques varient selon les stades physiologiques de l'animal (Annexe 2). Par exemple, une vache en lactation produisant 40 kg de lait par jour, a des besoins PDI six fois plus importants qu'une vache à l'entretien (*Enjalbert, 2004*). Les besoins protéiques nécessaires lors d'une fin de gestation représentent 40 % des besoins protéiques à l'entretien (*Huber, 1981*).

Les réserves corporelles en protéines des ruminants sont limitées, comparées aux réserves énergétiques. Par ailleurs leur capacité de mobilisation de protéines est faible comparée à la capacité de mobilisation énergétique. Aussi, un déficit alimentaire azoté marqué se traduit chez la vache par une baisse du taux protéique du lait et de sa production globale (*Wolter, 1981*). De plus, une corrélation positive entre le taux de matière azotée de la ration et la production laitière est décrite (*Huber, 1981 ; Clark, 1980*).

1.2. Apports en azote chez les ruminants

La teneur en azote des principaux aliments varie fortement (annexe 3).

Les ensilages d'herbe apportent le plus souvent des quantités en azote supérieures aux ensilages de maïs, structurellement pauvres en azote.

Les fourrages verts conduisent à un rendement de synthèse de protéines microbiennes supérieur aux fourrages secs, avec une dégradation quasi-complète des protéines alimentaires dans le rumen. La teneur en azote est supérieure pour l'herbe jeune par rapport aux repousses et est maximale au stade épiaison (épi à 10 cm du sol) (*Vérité, 1986*). Ainsi, l'herbe jeune permet-elle une production de 22 à 25 kg de lait par jour (*Vérité, 1986*).

Les céréales sont plutôt pauvres en matière azotée (10 à 15 % de la MS) alors qu'elles sont riches en glucides cytoplasmiques, principalement en amidon (40 à 55 % de la MS).

Les tourteaux représentent une source majeure de protéines en alimentation animale.

1.3. Circonstance d'apparition et fréquence des excès d'azote chez les ruminants

L'importance et la fréquence des excès chroniques en azote restent mal renseignées.

L'excès azoté peut être soit absolu (l'apport énergétique est correct alors que les apports azotés sont supérieurs aux besoins), soit relatif (les apports azotés sont corrects mais les apports énergétiques sont insuffisants).

Les excès d'azote sont rencontrés dans 2 situations majeures :

- lors d'erreurs de rationnement,
- lors de mise à l'herbe.

Certains effets sur la santé ou sur la production des excès d'azote soluble sont décrits, même si certains de ces effets restent mal documentés.

2. Effets zootechniques et sanitaires des excès d'azote soluble

2.1. Excès d'azote et reproduction

L'infécondité a été associée à des excès d'azote soluble.

Par exemple, le taux de vaches gravides un mois après insémination était respectivement de 14 et 0 %, pour 2 lots de génisses ingérant des rations enrichies en urée à 1 et 2 % MS (*Huber, 1982*). Une corrélation entre la réussite à l'insémination artificielle (IA) et l'urémie a été décrite, avec une baisse 0,8% du taux de réussite en IA1 (TRIA1) pour une augmentation moyenne de 0,021 g/l d'urée sanguine (*Ferguson, 1993*). Cependant, les excès azotés chroniques (rations enrichies en urée au moins deux semaines avant l'insémination) ne semblent pas affecter le taux de conception (*Laven, 2004 ; Dawuda, 2004*).

Les mécanismes explicatifs de l'infertilité / infécondité en lien avec les excès azotés sont multiples.

Lors d'excès d'azote soluble, l'urémie augmente à l'inverse de la progestéronémie (*Huber, 1982*). La progestéronémie et l'excès d'azote soluble pourrait être liés par le bilan énergétique (*Huber, 1982, Ferguson, 1993*). En effet, le TRIA1 dépend fortement du pic de progestéronémie en phase lutéale ; le bilan énergétique est modifié lors d'excès d'azote soluble (cf. 2.2).

La progestéronémie ne semble pas affectée par les excès azotés chroniques (*Laven, 2004 ; Dawuda, 2004*).

L'urée et l'ammoniaque ont une action délétère sur les synthèses hormonales (*Vissek, 1984 ; Bourland, 1998*).

Lors d'excès d'azote soluble, les concentrations en ammoniaque sont plus élevées dans le mucus utérin par rapport au plasma sanguin (*Hammon, 2005*). Ainsi, la composition chimique des glaires utérines semble modifiée avec une augmentation du pH utérin.

Des concentrations élevées en ammoniaque diminuent significativement le rendement de la culture *in vitro* des embryons mais n'a pas d'effet sur la fécondation elle-même (*Hammon, 2000*). La cytotoxicité de l'ammoniaque sur l'ovocyte ou l'embryon serait à l'origine de l'infertilité et de la mortalité embryonnaire précoce (*Enjalbert, 2008*).

Les excès chroniques d'azote pourraient favoriser les métrites, l'urée étant facilement utilisable par des agents bactériens tels qu'*Arcanobacterium pyogenes* (*Bourland, 1998*).

2.2. Excès d'azote et métabolisme énergétique

Par un effet positif sur la production laitière, l'azote soluble peut potentiellement et indirectement augmenter le risque de déficit énergétique (stéatose hépatique, cétose ...).

Parallèlement, la détoxification hépatique de l'ammoniaque est consommatrice d'énergie, augmentant ainsi potentiellement le risque de trouble énergétique (*Wolter, 1981 ; Huber, 1982, Bourland, 1998*).

2.3. Excès d'azote et immunité

A la mise à l'herbe, une augmentation de la fréquence des infections mammaires et utérines est souvent décrite. La diminution de l'efficacité des fonctions immunitaires lors d'excès d'azote soluble est une hypothèse généralement avancée (*Wolter 1992, Enjalbert 2008*).

2.4. Excès d'azote et boiteries

Peu de données sont disponibles sur les excès d'azote soluble et les boiteries. L'excès d'azote soluble a été associé à l'augmentation des boiteries (*Manson, 1988*).

L'objectif de ce travail est de décrire les effets des excès chroniques d'azote sur les paramètres cliniques, ruminiaux et sanguins, et d'en déduire les mécanismes impliqués.

1^{ERE} PARTIE : MATERIEL ET METHODES

1. Animaux

1.1. Caractéristiques des animaux

L'étude est réalisée sur 4 bœufs de race Prim'holstein âgés de 22 mois, nommés A, B, C, D, de poids compris entre 643 et 688 kg (tableau 1). Chacun d'entre eux possède une canule ruminale bien tolérée (Fig. 1)

Tableau 1 : Poids initial des bœufs à l'entrée au début de l'essai

Animal		Poids (kg)
5280	A	688
5285	B	643
5273	C	684
5283	D	663

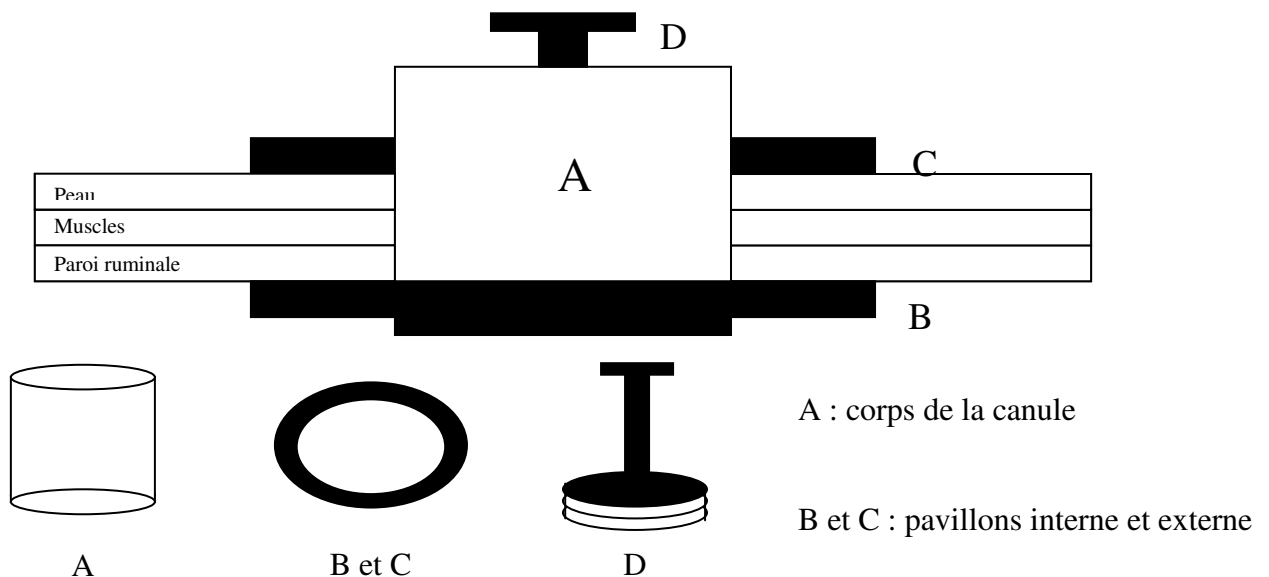


Figure 1 : Schéma d'une canule ruminale

1.2. Logement

Avant le début de l'essai, le logement est constitué d'un parc plein air et d'un abri avec aire paillée.

Cinq jours avant le début de l'essai, les 4 bœufs sont transférés dans une stabulation entravée, sur copeaux (nettoyage biquotidien) sans contact physique possible entre eux mais avec un contact visuel.

1.3. Alimentation pré-essai

Les bœufs reçoivent quotidiennement une ration à base de fourrage (1^{ère} coupe d'une prairie permanente, stade épiaison) et de concentrés du commerce (Excel selectionND).

Cinq semaines avant le début de l'essai, la ration est équilibrée à 16 % de MAT.

2. Alimentation et protocole expérimental

2.1. Rations

Les animaux sont alimentés avec 4 rations de niveau azoté différent (Tableau 2) :

- 16% de MAT (16),
- 20% de MAT à base de soja (20S),
- 20% de MAT à base d'urée (20U),
- Et 24% de MAT (24).
-

Tableau 2 : Compositions des 4 rations

	Ration 1	Ration 2	Ration 3	Ration 4
	16% MAT	20% MAT Soja	20% MAT Urée	24% MAT
Luzerne kg MS / jour	11,90	11,90	11,90	11,90
Maïs concassé kg MB/ jour	1,8	0,3	1,8	0,3
Tourteau de soja 48 kg MB/ jour	0,4	1,9	0,4	1,9
Urée kg MB/ jour	0	0	0,21	0,21
AMV 15/11/6 kg MB/ jour	0,1	0,1	0,1	0,1

La distribution des aliments est biquotidienne et individuelle, à heure fixe : le matin à 8 heures et le soir à 18 heures. Les refus éventuels sont pesés.

Les 4 rations ne diffèrent que par la teneur azotée. Elles sont en particulier iso énergétiques (Tableau 3).

Tableau 3 : Calcul des caractéristiques des 4 régimes (Logiciel La Relev, 2004)

	Ration 1	Ration 2	Ration 3	Ration 4	Recommandations		
	16% MAT	20 % MAT SOJA	20% MAT UREE	24% UREE	Opt.	Min	Max
MS totale (kg)	13.84	13.86	14.05	14.07			
Concentrés (% MS)	13.78	13.91	15.04	15.17			
Matière Brute (kg)	15.30	15.30	15.51	15.51			
MS (%)	90.45	90.59	90.55	90.69			
UEB	11.98	12.00	11.97	11.98	12.56	12.56	12.56
UFV	9.14	9.13	9.14	9.13	9.76	9.76	10.73
UFV (/ kg MS)	0.661	0.659	0.651	0.649			
PDIE (g)	1343.50	1561.00	1343.50	1561.00	885.93	885.93	
PDIN (g)	1461.60	1862.10	1764.60	2165.10			1328.20
(PDIE - PDIN) / UFV	-12.91	-32.98	-46.05	-66.17	0.00		22.50
PDIE (g/ kg MS)	97.08	112.63	95.66	110.98			
PDIN (g/ kg MS)	105.62	134.36	125.64	153.93			
MAT (% MS)	16.04	20.05	20.02	23.96			
Cellulose Brute (% MS)	26.77	27.14	26.38	26.74		10.00	
ADF (% MS)	30.52	30.99	30.08	30.53			
Amidon + Sucres (% MS)	12.06	5.83	11.88	5.74			
Ca (g)	261.69	266.19	261.69	266.19		62.50	
P (g)	48.68	54.08	48.68	54.08		38.08	
P abs. Rts (g)	34.82	38.57	34.82	38.57		18.57	

2.2. Rotation alimentaire.

L'expérimentation est basée sur une rotation en « cross over ». Pour un mois donné, chaque animal reçoit une ration différente d'un autre. L'attribution des rations aux animaux a été définie par tirage au sort (Tableau 4).

Tableau 4: Récapitulatif de la répartition des rations pour chaque animal et période

		RATIONS			
		16% MAT	20% MAT Soja	20% MAT Urée	24% MAT
PERIODE	1	B	D	C	A
	2	C	A	D	B
	3	A	C	B	D
	4	D	B	A	C

3. Prélèvements et conditionnement des échantillons

3.1. Jus de rumen

Le prélèvement de jus de rumen (150 ml) est réalisé à l'aide d'une sonde rigide (L = 40 cm ; Ø = 12 mm) sur laquelle est montée une seringue drogueuse de 200 ml. Après ouverture de la canule, la sonde est dirigée à l'intérieur du rumen crânio-ventralement, en longeant la paroi latérale du rumen. Tous les prélèvements sont réalisés par le même opérateur et dans la même zone du rumen. Entre chaque prélèvement, la sonde est rincée abondamment à l'eau chaude puis séchée.

Au total, la durée d'ouverture de la canule est d'environ 2 minutes.

Cinq ml de jus de rumen (phase liquide) sont aussitôt mélangés à 0,5 ml de HgCl₂ (2% p/v) (arrêt de l'activité microbienne). Deux échantillons sont immédiatement congelés et conservés à - 20°C.

L'autre partie du prélèvement est utilisée immédiatement, afin de limiter au maximum le contact avec l'air, pour la mesure du pH.

3.2. Sang

Les prises de sang s'effectuent à la veine jugulaire, après désinfection locale à l'aide d'une solution iodée (Vétédine ®). Les sillons jugulaires de chaque bœuf ont été rasés avant le début de l'expérimentation. Afin d'éviter les phlébites, les prélèvements sanguins sont réalisés alternativement sur l'une ou l'autre veine.

Un tube hépariné est utilisé immédiatement pour l'analyse des gaz du sang. Deux autres tubes héparinés sont centrifugés 10 min à 4000g et le plasma est congelé immédiatement (-20°C).

3.3. Prélèvement urinaire

L'urine est prélevée sur miction spontanée (d'où une fréquence irrégulière de prélèvements) dans un récipient en plastique lavé et séché après chaque miction.

3.4. Calendrier des prélèvements

Les prélèvements sont réalisés en 4^e semaine de chaque période d'un mois. Les jours de prélèvements, les différents échantillonnages sont réalisés toutes les 2 heures de 8 heures à 20 heures.

Tous les points de prélèvement sont toujours réalisé dans le même ordre (à part pour l'urine) : A suivi de B, puis de C, et enfin D.

4. Méthodes analytiques

4.1. Jus de Rumen

4.1.1. *pH ruminal*

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre / thermomètre « TESTO 230 ». Ce dernier est étalonné entre chaque point de prélèvement avec des solutions tampons placées dans un bain-marie. Les mesures de pH sont effectuées deux fois. La valeur retenue est la moyenne de ces 2 mesures.

4.1.2. *Acides Gras Volatils (AGV)*

Les acides gras volatils détectés sont l'acide acétique (C2), l'acide propionique (C3) et l'acide butyrique (C4). Ils sont dosés par technique de chromatographie en phase gazeuse.

Les échantillons sont tout d'abord décongelés et subissent une première centrifugation de 15 minutes à 4000 tours par minute afin d'éliminer les éléments grossiers de l'échantillon. Ensuite, 1 ml du surnageant obtenu est mélangé à 200 µl d'acide métaphosphorique pour le déprotéiner. Une deuxième centrifugation de 15 minutes est réalisée à 20 000 g, (élimination des particules fines (mitochondries, lysosomes ...)). Enfin, 100 µl de ce surnageant sont dilués dans 900 µl d'eau distillée et mélangés à 75 µl de solution étalon (témoin de passage).

L'échantillon est injecté à l'aide d'une micro seringue (0.2 µl dans le cas présent) dans le chromatographe (Hewlett Packard 5890 Series II) en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme. Une colonne capillaire (ECTM – 1000, Alltech, polyéthylène glycol acidifié, L = 15 m ; Ø = 0,53 mm ; épaisseur du film = 1,20 µm) est utilisée.

Les concentrations en acétate (C2), en propionate (C3) et en butyrate (C4) sont exprimées en mmol/l.

4.1.3. *Ammoniaque*

L'ammonium, par la réaction de Berthelot, est javellisé par du monochloramine, lequel réagit avec le salicylate et devient du 5-aminosalicylate. Après oxydation, un complexe coloré vert

est formé. La réaction est catalysée par le nitroprussiate et le dichloroisocyanurate est utilisé pour un apport de chlore. L'extinction du complexe formé est mesurée à 660 nm.

4.2. Sang

4.2.1. Analyse des gaz du sang

Les gaz sanguins sont mesurés dans les 15 minutes suivant le prélèvement à l'aide d'un analyseur portable (VetStat Electrolyte and Blood Gaz Analyser ; IDEXX) muni de cassettes (VetStat fluïdo-thérapie/Acide-Base ; IDEXX, Westbrook, USA). L'appareil est situé en salle climatisée.

Les paramètres mesurés sont (*Jensen, 2001*) :

- § le pH sanguin
- § la pression partielle en dioxyde de carbone : $p\text{CO}_2$ (mm Hg)
- § la natrémie : $[\text{Na}^+]$ (mmol/L)
- § la kaliémie : $[\text{K}^+]$ (mmol/L)
- § la chlorémie : $[\text{Cl}^-]$ (mmol/L)

L'analyseur calcule ensuite, à partir des paramètres mesurés, les paramètres suivants :

- § la concentration en ions bicarbonates $[\text{HCO}_3^-]$:

$$\log [\text{HCO}_3^-] = \text{pH} + \log p\text{CO}_2 - 7,608$$

Ce calcul découle de l'équation d'Henderson Hasselbach :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{HCO}_3^-] / [\text{H}_2\text{CO}_3])$$

Or le pKa du couple = 6,1 et $[\text{H}_2\text{CO}_3] = 0,03 \times p\text{CO}_2$ avec 0,03 = constante de solubilité du CO_2 dans le plasma (*Carlson, 1997*).

- § la teneur en CO_2 totale : $t\text{CO}_2 = [\text{HCO}_3^-] + 0,03 p\text{CO}_2$

§ le trou anionique : $\text{TA} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-])$ qui correspond donc à la différence entre les cations mesurés (95 % des cations plasmatiques totaux) et les anions mesurés (85 % des anions plasmatiques totaux) (*Navetat, 1999*).

4.2.2. Biochimie sanguine

Une fraction aliquote de plasma est utilisée pour les dosages de l'ammoniaque, de l'urée et du glucose. L'ensemble de ces analyses biochimiques est réalisé par le Laboratoire de biologie clinique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (LBC ; ENVT) (Vitros 250®, Orto Clinical Chemistry, Issy les Moulineaux, France). Pendant les horaires d'ouverture du laboratoire les analyses sont effectuées immédiatement (dans les 10 minutes avec conservation dans de la glace pilée) après centrifugation des échantillons.

Pendant les horaires de fermeture (H₈ et H₁₀), le plasma est conservé à -20°C et analysé au maximum 14 heures après prélèvement.

Les deux autres tubes sont directement déposés dans de la glace pilée après la ponction et centrifugés dans les 10 minutes qui suivent. Le plasma est séparé du culot et est ensuite congelé à -80°C dans les 30 minutes. Les dosages des ASAT, CK et GGT sont effectués à la fin de l'expérimentation (LBC ; ENVT ; même analyseur).

4.3. Urine

Toutes les mesures sont effectuées immédiatement après prélèvement.

4.3.1.pH

Le pH de l'urine est mesuré à l'aide du même pH mètre et de la même sonde que pour les mesures des pH ruminiaux. Une double mesure du pH est réalisée.

La sonde est rincée et séchée entre chaque mesure. Le pH mètre est étalonné entre chaque série de mesures.

4.3.2.Bandelettes urinaires

Sur chaque prélèvement d'urine, une bandelette urinaire (Combur Test®) est réalisée. Les paramètres mesurés sont : le pH (confirmé et affiné par la mesure au pH mètre), les

leucocytes, les nitrites, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine, le sang et l'hémoglobine.

4.3.3. Réaction de Heller

Un ml d'urine est ajouté dans 1 ml d'acide nitrique à 64%. En présence de protéines, il se forme un précipité blanc à l'interface urine - acide nitrique. L'épaisseur du précipité est d'autant plus forte que la concentration de protéines dans les urines est importante.

5. Suivi clinique

Un examen clinique des animaux est réalisé (annexe 5) selon la même fréquence que pour les prélèvements.

La présence de refus à la distribution est systématiquement notée.

La vitesse d'ingestion est observée et notée qualitativement.

6. Statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel R (version 2.9.2 (2009-08-24), Copyright (C) 2009 The R Foundation for Statistical Computing).

6.1. Calcul des moyennes pondérées

Pour chaque paramètre, animal et période, les moyennes pondérées ont été calculées avec la formule suivante, à partir des valeurs obtenues pour les différentes heures (H_x) :

$$M = ([P]_0 + 2[P]_2 + 2[P]_4 + 2[P]_6 + 2[P]_8 + [P]_{10}) / 10$$

Pour S-[NH₄⁺] et [Urée], où une valeur à H₁ était disponible, la formule devient :

$$M = (0,5[P]_0 + [P]_1 + 1,5 [P]_2 + 2[P]_4 + 2[P]_6 + 2[P]_8 + [P]_{10}) / 10$$

Ces valeurs sont nommées « moyennes journalières individuelles périodiques ». La moyenne de ces valeurs par animal est nommée « moyenne par animal » (4 périodes). La moyenne de ces valeurs par ration est nommée « moyenne par ration » (4 animaux, 4 périodes).

6.2. Analyse de l'effet ration sur les moyennes pondérées

Pour chaque paramètre, les courbes de synthèse regroupant les 4 animaux et les 4 périodes ont été tracées pour chaque ration.

La moyenne par ration (cf. 6.1) a été comparée par analyse de variance entre ration, sans tenir compte des effets période et animal. Le modèle linéaire adopté est donc :

$$Y = \mu + \text{Ration} + \varepsilon \quad [\text{modèle 1}]$$

Les résultats sont reportés avec les moyennes des paramètres pour chaque ration.

6.3. Analyse des effets animal, période et ration sur les moyennes journalières individuelles périodiques

A partir des moyennes journalières individuelles périodiques (cf. 6.1), l'effet de l'animal, de la période et de la ration sur les valeurs des différents paramètres a été déterminé par analyse de variance. Le modèle linéaire adopté est donc :

$$Y = \mu + \text{Animal} + \text{Période} + \text{Ration} + \varepsilon \quad [\text{modèle 2}]$$

Le même modèle a été appliqué à la valeur de la MAT à la place de la ration :

$$Y = \mu + \text{Animal} + \text{Période} + \text{MAT} + \varepsilon \quad [\text{modèle 2bis}]$$

Le même modèle a été appliqué à l'effet Soja ou Urée, avec une interaction :

$$Y = \mu + \text{Animal} + \text{Période} + \text{Soja} + \text{Urée} + \text{Soja} \times \text{Urée} + \varepsilon \quad [\text{modèle 2ter}]$$

6.4. Analyse des effets heure et ration sur les valeurs de chaque prélèvement

A partir des valeurs obtenues pour les différentes heures d'une série (période-animal) (cf. 6.1), les effets de l'animal, de la période, de la ration et de l'heure du prélèvement sur ces valeurs pour les différents paramètres ont été déterminés par analyse de variance. Un effet du croisement entre l'effet de la ration et de l'heure de prélèvement a été recherché. Le modèle linéaire adopté est donc :

$$Y = \mu + \text{Animal} + \text{Période} + \text{Heure} + \text{Ration} + \text{Ration} \times \text{Heure} + \varepsilon \quad [\text{modèle 3}]$$

Les comparaisons 2 à 2 des 4 rations, des 6 (ou 7) heures et des 276 couples rations / heures ont été réalisées avec le test de Tukey.

Les résultats sont représentés graphiquement avec la valeur moyenne de l'effet (Heure, Ration ou Heure x Ration) et l'intervalle de confiance à 95 % correspondant.

6.5. Analyse de l'effet de paramètres biochimiques sur d'autres paramètres biochimiques

A partir des moyennes journalières individuelles périodiques (cf. 6.1), l'effet de l'animal, de la période et des valeurs de certains paramètres biochimiques sur les valeurs des différents paramètres a été déterminé par analyse de covariance. Le modèle linéaire adopté est donc :

$$Y = \mu + \text{Animal} + \text{Période} + \text{Paramètre Biochimique} + \varepsilon \quad [\text{modèle 4}]$$

7. Calendrier expérimental

Tableau 5 : calendrier expérimental

	janv.-08			Période 1 févr.-08			Période 2 mars-08			Période 3 avr.-08			Période 4 mai-08		
	A	L	P	A	L	P	A	L	P	A	L	P	A	L	
	1	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
3	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
4	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
5	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
6	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
7	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
8	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
9	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
10	■			■	■		■	■	■	■	■	■	■	■	
11	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
12	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
13	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
14	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
15	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
16	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
17	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
18	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
19	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
20	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
21	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
22	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
23	■			■	■		■	■	■	■	■	■	■	■	
24	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
25	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
26	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
27	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
28	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
29	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
30	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
31	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	

P = Prélèvements

A = Alimentation

L = Logement



Fourrage (15% MAT)
+ concentrés

Luzerne (16% MAT)
+ concentrés

Rations expérimentales

Plein air



Stabulation

243 = Mois 2

Semaine
4

Jour 3

2^{EME} PARTIE : RESULTATS

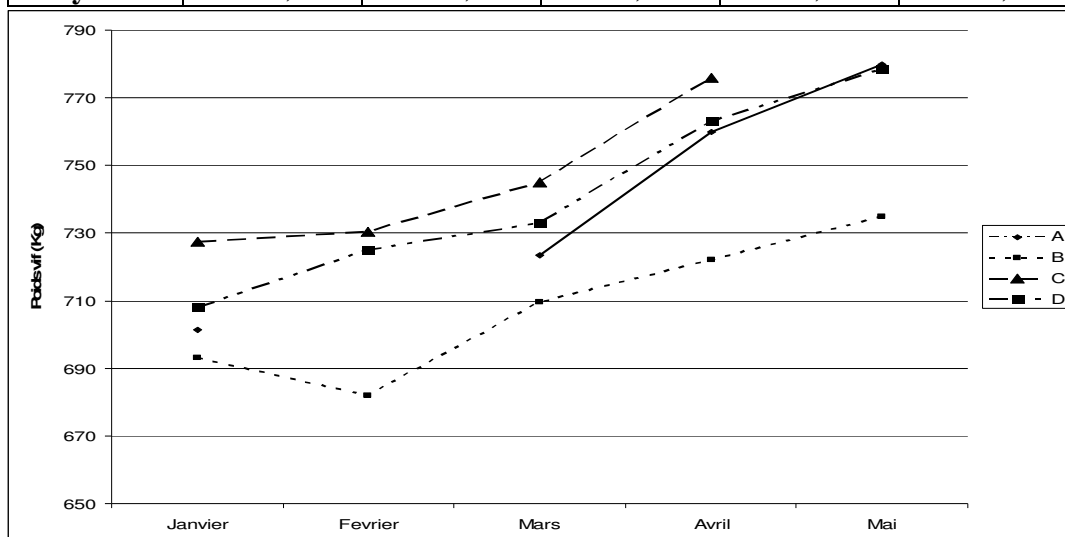
1. Evolution clinique et comportement alimentaire

Aucun signe clinique n'est observé tout au long de l'essai.

Le poids des bœufs augmente pratiquement tout le long de l'essai (Tableau 6)

Tableau 6 : Evolution des poids

		Pré essai	P1	P2	P3	P4
		janvier-08	février-08	mars-08	avril-08	mai-08
A	5280	701,5	-	723,5	760	780
B	5285	693	682	709,5	722	735
C	5273	727,5	730,5	745	776	-
D	5283	708	725	733	763	778,5
Moyennes		707,5	712,5	727,75	755,25	764,5



Le comportement alimentaire est variable d'un régime à l'autre :

- Les rations 16 et 20S sont ingérées en 10 à 20 minutes en moyenne. Les rations à 16% sont à chaque fois les plus rapidement ingérées. La consommation pour les deux régimes se fait de manière régulière.
- Les rations 20U et 24 sont ingérées sur une durée plus élevée: de 40 à 90 minutes en moyenne, la ration à 24% étant toujours la plus longue à ingérer. La consommation est beaucoup plus irrégulière.

2. Evolution des paramètres ruminiaux mesurés

2.1. pH

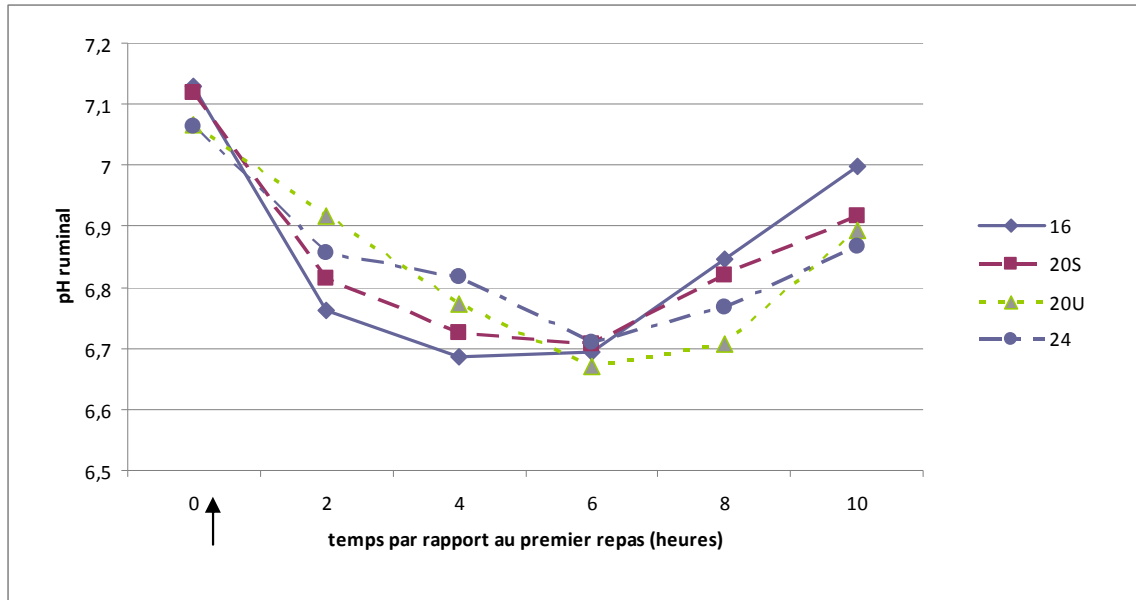


Figure 2 : Evolution du pH ruminal au cours de la journée

↑ Distribution des rations

2.1.1. Effet temps

Le repas est suivi d'une baisse du pH ruminal de H₂ à H₆ (Fig. 2). Les valeurs minimales moyennes sont atteintes à H₆.

Les valeurs moyennes de pH baissent significativement de 0,2 à 0,4 unité de pH entre H₀ et les temps suivants ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]) (Fig. 3). Le pH est 0,14 unité inférieur à H₆ par rapport à H₂ ($p < 0,05$), et inférieur de 0,17 et 0,23 unité à respectivement H₄ et H₆ par rapport à H₁₀ ($p < 0,05$) (Fig. 3).

2.1.2. Effet régime

Le pH ruminal (Fig. 3, Tableau 7), ne varie pas avec les 4 régimes.

2.1.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de pH ruminiaux des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 3, annexe 4)

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

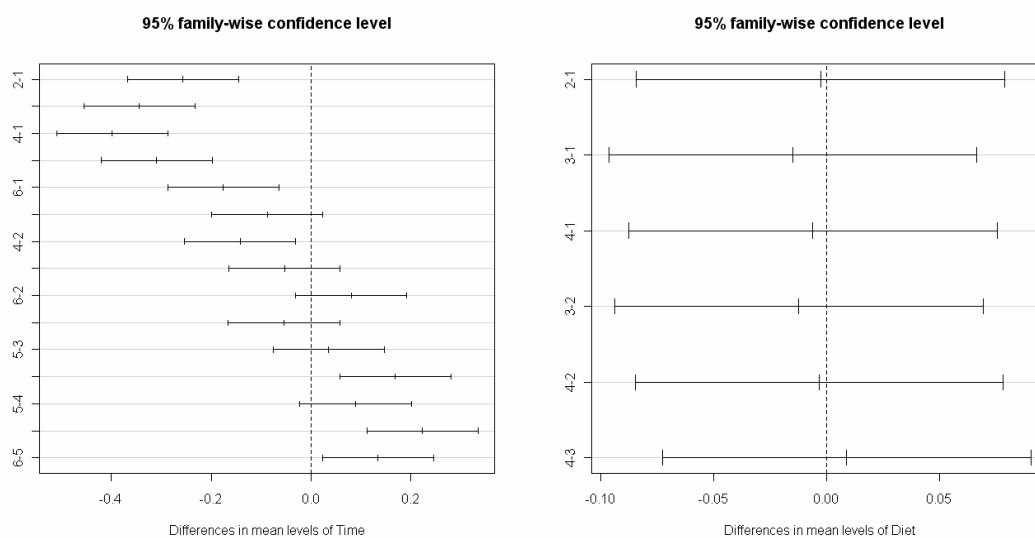


Figure 3 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour le pH ruminal.

Tableau 7 : Moyennes pondérées quotidiennes du pH ruminal

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	7,022	6,905	6,922	6,861	6,9275
B	6,647	6,8285	6,8675	6,876	6,80475
C	6,901	6,8625	6,7125	6,8185	6,82363
D	6,672	6,6705	6,735	6,737	6,70363
Moyennes	6,8105	6,81663	6,80925	6,82313	

2.1.4. Effet MAT, Soja et Urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

2.2. Ammoniaque

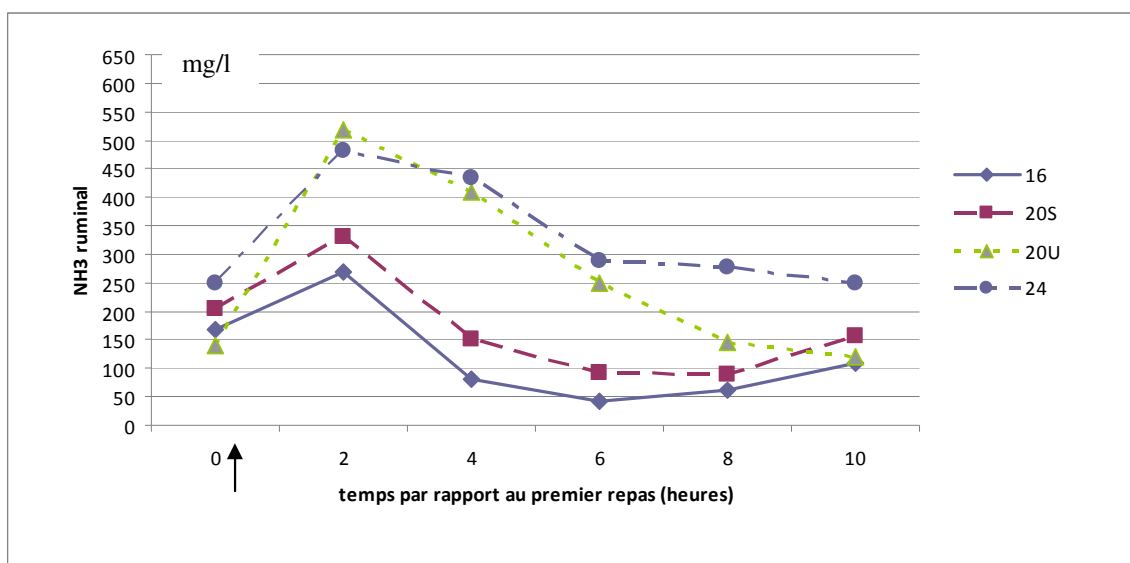


Figure 4 : Evolution des concentrations ruminales moyennes en ammoniaque au cours de la journée

↑ Distribution des rations

2.2.1. Effet temps

La concentration ruminale moyenne en ammoniaque (R-[NH₃]) augmente de 210 mg/l à H₂ par rapport à H₀ ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]), puis diminue de 100 à 250 mg/l à H₄, H₆, H₈ et H₁₀ par rapport à H₂ ($p < 0,05$), et d'environ 100 mg/l à H₆, H₈ et H₁₀ par rapport à H₄ ($p < 0,05$) (Fig. 4 et Fig. 5).

2.2.2. Effet régime

Une différence significative est notée entre les régimes 16 et 20S d'une part et les régimes 20U et 24 d'autre part ($p < 0,05$ [modèle 1, effets animal et période négligés]) (tableau 8).

La concentration moyenne augmente pour les régimes 24 et 20U par rapport au régime 16 et 20S ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Aucune différence n'est décrite entre les rations 16 et 20S. La ration 20U est significativement supérieure à 20S ($p < 0,05$) et la ration 24 est significativement supérieure à 20S et 20U ($p < 0,05$) (fig. 5).

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

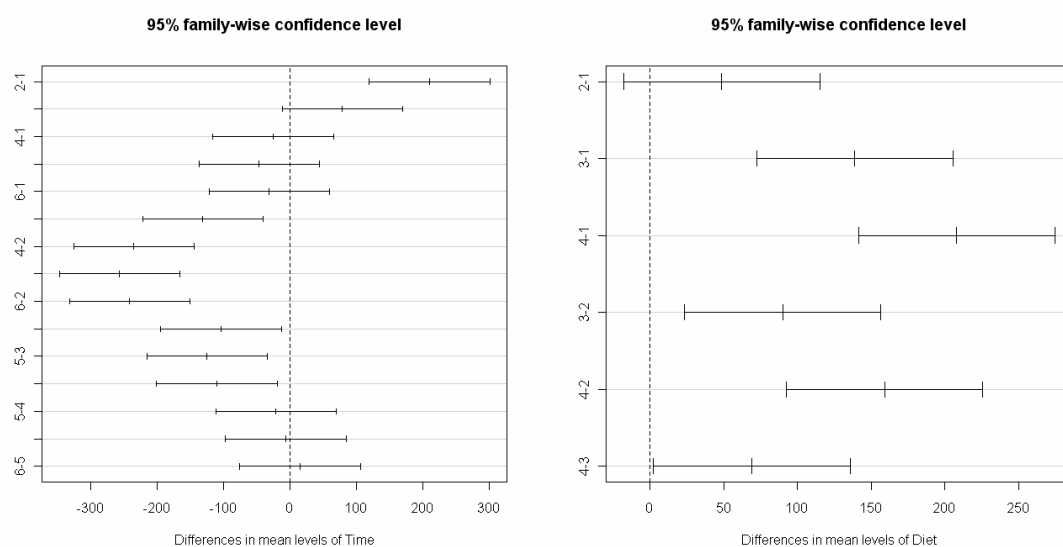


Figure 5 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'ammoniaque ruminal.

Tableau 8 : Moyennes pondérées quotidiennes des concentrations ruminales en ammoniaque (mg/l)

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	112,772	217,317	266,932	332,188	232,302
B	161,838	178,01	318,93	361,501	255,07
C	113,01	170,038	293,186	335,611	227,961
D	87,9135	110,985	270,367	355,738	206,251
Moyennes	118,883 ^a	169,087 ^a	287,354 ^b	346,26 ^b	

La concentration ruminale en ammoniaque (R-[NH₃]) varie de manière significative entre les rations ($p < 0.05$, [modèle2 : effet du régime sur les moyennes journalières individuelles périodiques]) (annexe 6). Plus le régime est riche en azote, plus les concentrations en ammoniaque ruminal sont élevées. (Fig. 6).

Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

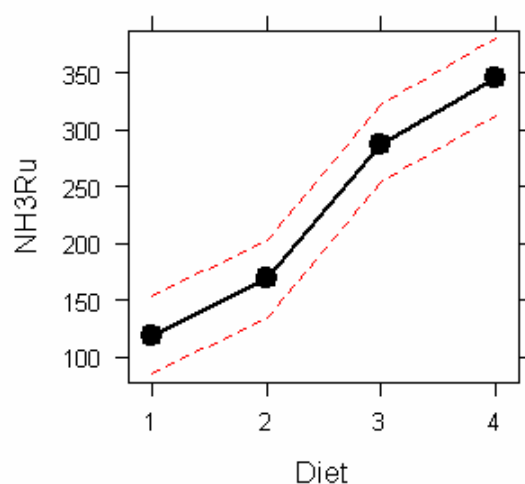


Figure 6 : Effet de la ration sur la concentration moyenne en ammoniac du rumen.

2.2.3.Effet temps x régime

Peu de valeurs de R-[NH₃] des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 5, annexe 4).

2.2.4.Effet MAT, Soja et Urée

La concentration ruminale en ammoniac (R-[NH₃]), varie de manière significative selon la quantité d'urée, de soja et de MAT présente dans la ration ($p < 0,05$ [modèle 2bis et 2ter]). (Annexe 6)

2.3. Acides Gras Volatils

2.3.1. Evolution des différents AGV (AGV)

2.3.1.1. Effet temps

Les concentrations moyennes des différents AGV augmentent suite à la prise alimentaire quel que soit le régime (Fig. 7), sans différence significative (Fig.8). A l'exception du C₄, elles diminuent ensuite progressivement à partir de H₂.

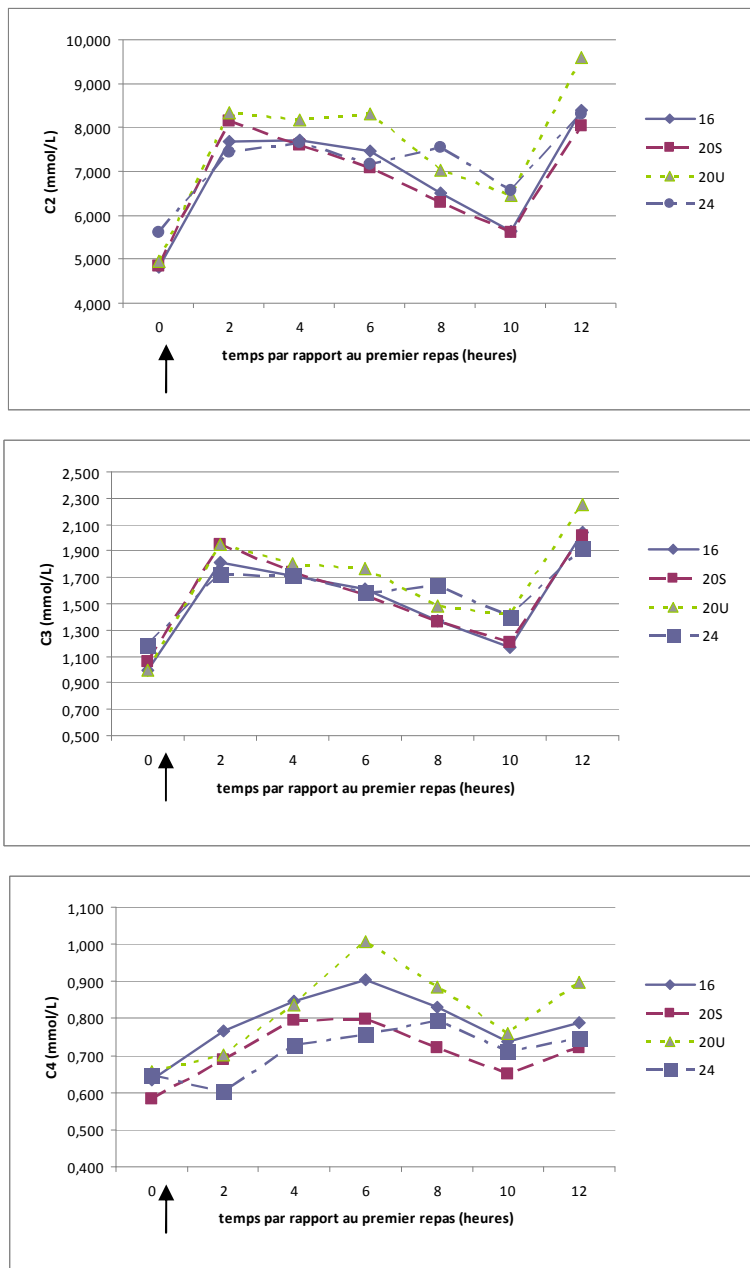


Figure 7 : Evolution des AGV ruminiaux au cours de la journée

↑ Distribution des rations

2.3.1.2. Effet régime

Le régime n'a pas d'effet significatif sur les acides gras volatils du rumen (Fig. 7, Fig. 8), quelle que soit l'analyse de variance réalisée.

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

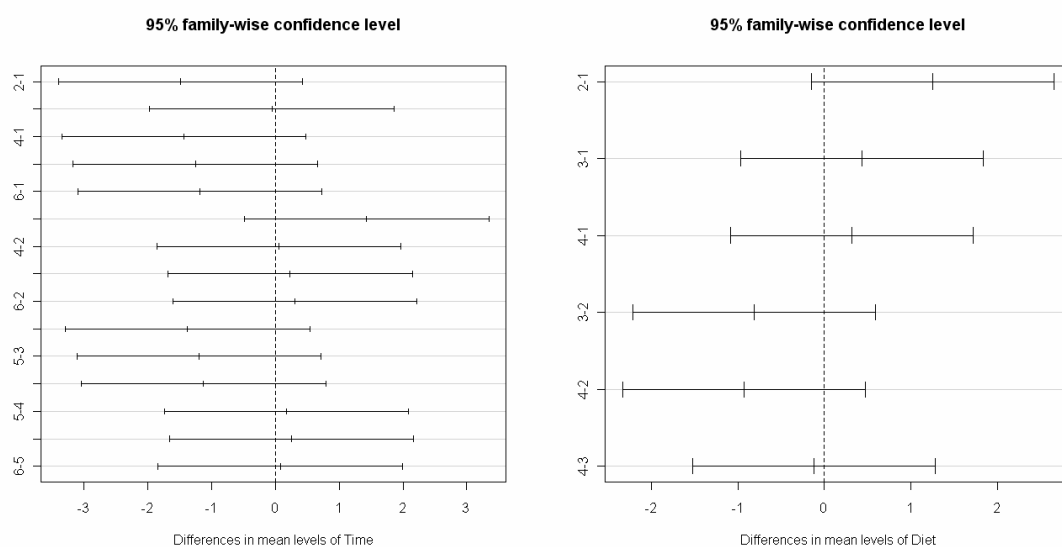


Figure 8 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour les acides gras volatils du rumen.

2.3.1.3. Effet temps x régime

Peu de concentrations en AGV des couples Temps x Régime différent entre elles (Fig. 8, annexe 4)

2.3.1.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

2.3.2. Proportion des différents AGV

La prise alimentaire induit une augmentation de la proportion de C₃ aux dépens du C₄, quel que soit le régime. (Fig. 9) Le régime n'a pas d'effet significatif sur les proportions d'acides gras volatils du rumen.

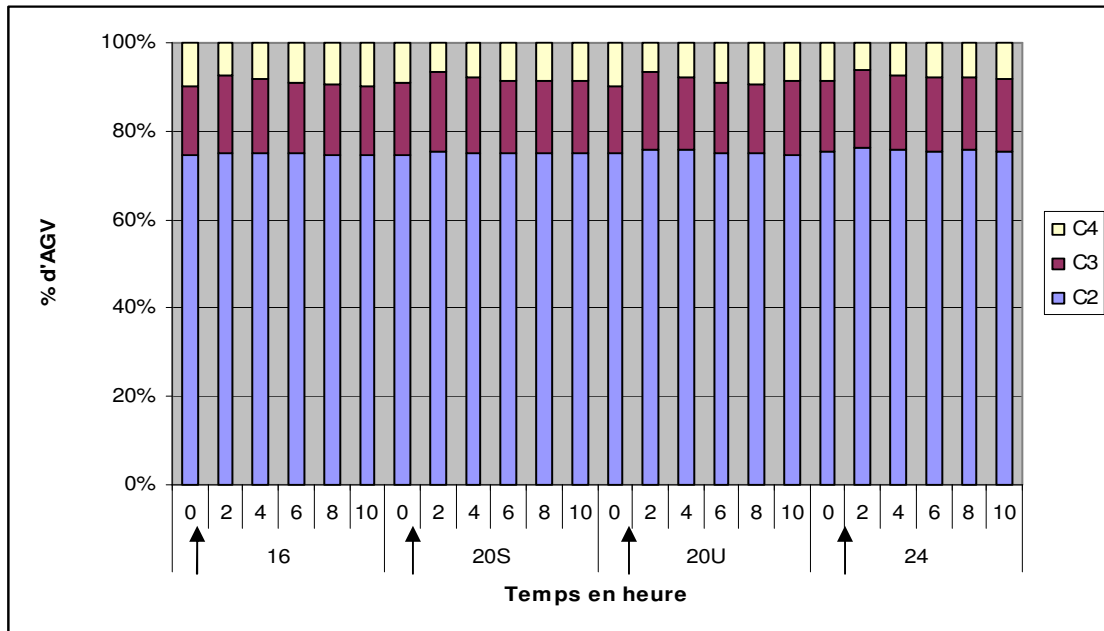


Figure 9 : Evolution des proportions en AGV au cours de la journée en fonction du régime

↑ Distribution des rations

3. Paramètres sanguins mesurés

3.1. Ammoniémie

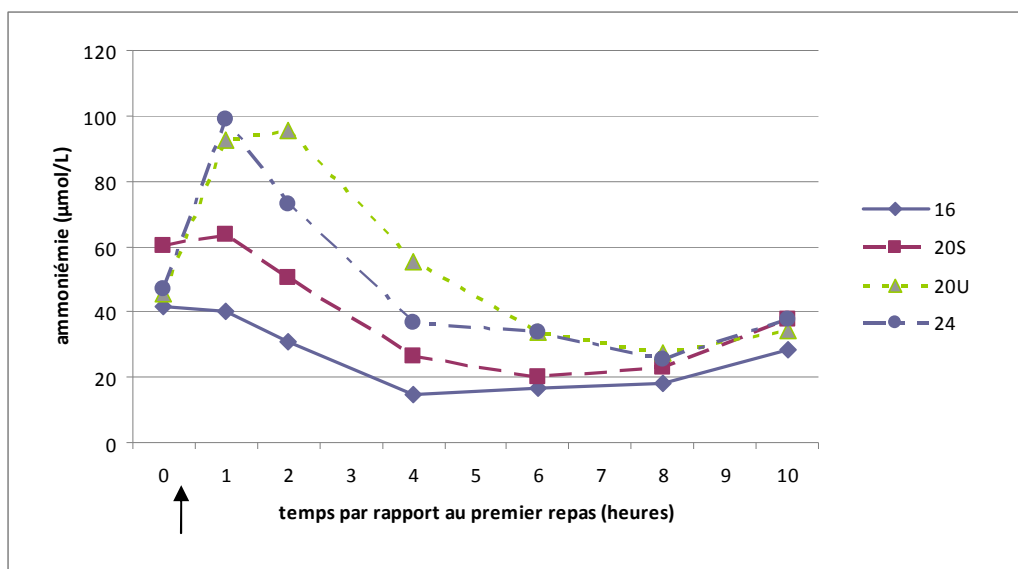


Figure 10 : Evolution de l'ammoniémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

3.1.1. Effet temps

L'ammoniémie augmente en moyenne de 29 $\mu\text{mol/l}$ à H_1 par rapport à H_0 ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Les valeurs à H_6 et H_8 sont inférieures de 20 $\mu\text{mol/l}$ par rapport à H_0 (Fig. 10 et 11).

De plus, l'ammoniémie diminue de 30 à 50 $\mu\text{mol/l}$ à H_4 , H_6 , H_8 et H_{10} par rapport à H_1 ($p < 0,05$), et d'environ 30 $\mu\text{mol/l}$ pour les mêmes horaires par rapport à H_2 ($p < 0,05$), (Fig. 10, Fig. 11).

3.1.2. Effet régime

Les rations 16 et 20S sont significativement inférieures aux régimes 20U et 24 ($p < 0,05$ [modèle 1, effets animal et période négligés]) (tableau 9).

L'ammoniémie augmente significativement pour les régimes 24, 20U et 20S par rapport au régime 16 ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Elle est aussi

supérieure pour le régime 20U par rapport au régime 20S ($p < 0,05$). Le régime 24 n'est pas significativement différent des régimes 20S et 20U (Fig. 11).

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

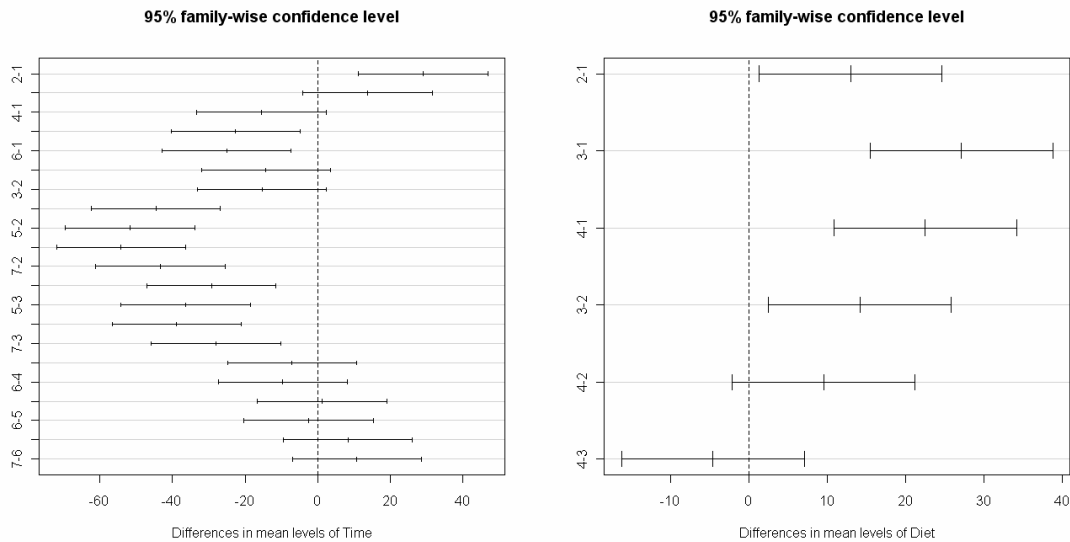


Figure 11 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'ammonémie.

Tableau 9 : Moyennes pondérées quotidiennes de l'ammonémie ($\mu\text{mol/l}$) en fonction du régime

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	42,2	34,2	59,65	50,95	46,75
B	16,15	42,95	72,05	41,45	43,15
C	18,3	43,2	44,45	28,6	33,6375
D	19,55	20,6	35,1	64,3	34,8875
Moyennes	24,05 ^a	35,23 ^a	52,81 ^b	46,32 ^b	

L'ammonémie moyenne (S-[NH₄⁺]) et la valeur maximale atteinte (NH₃ max) varient de manière significative entre les rations ($p < 0,05$, [modèle2 : effet du régime sur les moyennes journalières individuelles périodiques]) (annexe 6).

Les ammonémies moyenne et maximale des deux régimes les plus azotés sont plus élevées que pour les régimes 16 et 20S mais les valeurs les plus importantes sont atteintes avec le régime 20 U. (Fig. 12)

Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

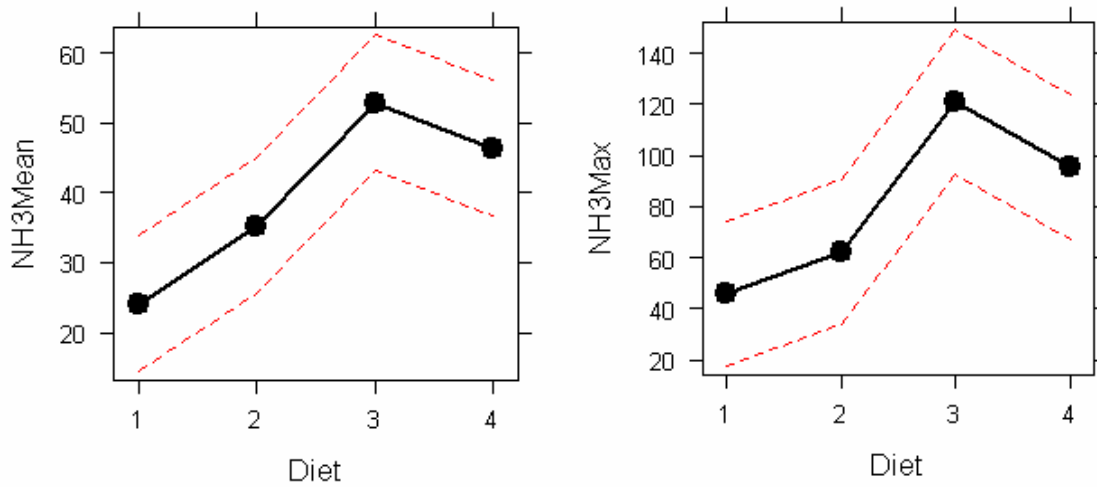


Figure 12 : effet de la ration sur l'ammoniémie moyenne et maximale

3.1.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de l'ammoniémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 11, annexe 4).

3.1.4. Effet MAT, soja et urée

L'ammoniémie moyenne(S-[NH₄⁺]) et la valeur maximale en S-[NH₄⁺] (NH₃ max) varient de manière significative selon la quantité d'urée et de MAT présente dans la ration (p<0,05 [modèle 2bis et 2 ter]). (Annexe 6)

3.2. Urémie

3.2.1. Effet temps

L'urémie chute en moyenne d'environ 0.75 mmol/l à H₁ par rapport à H₀ ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Elle augmente par la suite à H₂ et H₄ d'environ 0.75 mmol/l par rapport à H₀ et de 1.5 mmol/l par rapport à H₁ ($p < 0,05$). La concentration à H₆ reste en moyenne élevée par rapport à H₁ ($p < 0,05$) (Fig. 13 et 14).

Enfin, la concentration en urémie sanguine rechute de 1 mmol/l à H₆ et H₈ par rapport à H₂ et H₄ ($p < 0,05$).

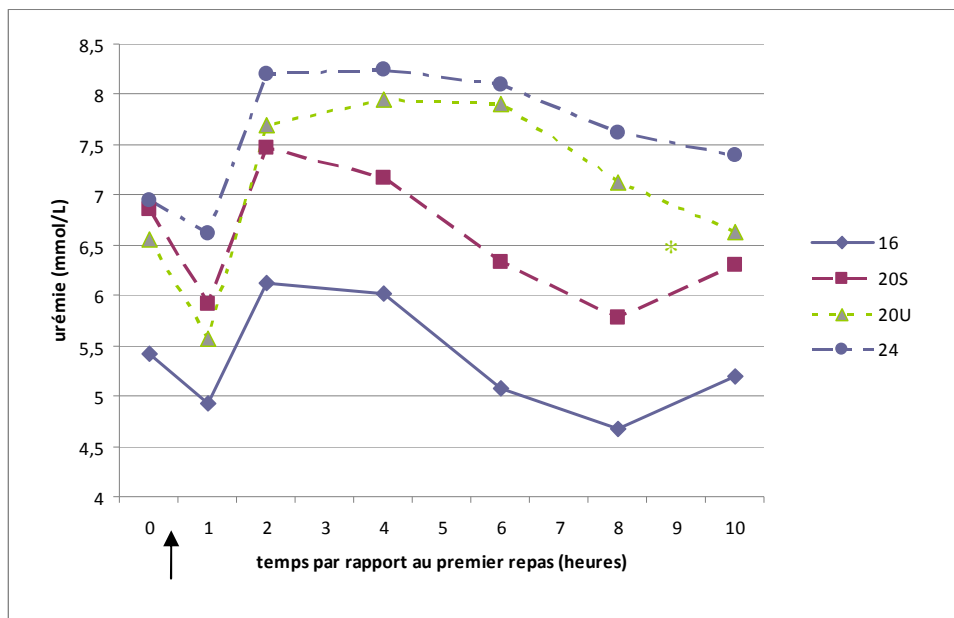


Figure 13 : Evolution de l'urémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

3.2.2. Effet régime

Les concentrations en urée sont significativement inférieures pour le régime 16 par rapport aux régimes 20U et 24 ($p < 0,05$ [modèle 1, effets animal et période négligés]). De plus, l'urémie est plus importante pour le régime 24 par rapport au régime 20S ($p < 0,05$). (Tableau 10)

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

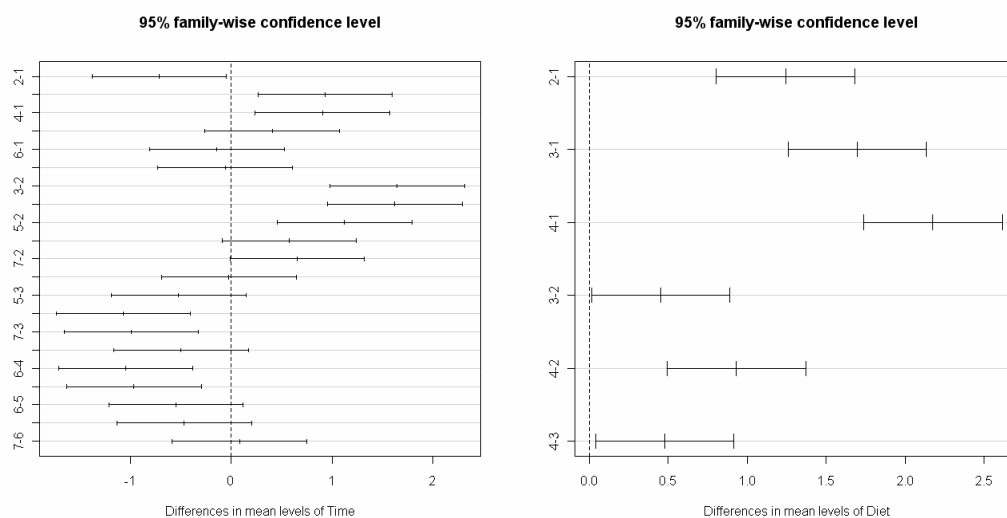


Figure 14 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour l'urémie.

L'urémie augmente de manière significative pour les régimes 24, 20U et 20S par rapport au régime 16 ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Elle est aussi significativement supérieure pour les régimes 20U et 24 par rapport au régime 20S et pour le régime 24 par rapport aux régimes 20U ($p < 0,05$) (Fig. 14).

Tableau 10 : Moyennes pondérées (mmol/l) de l'urémie en fonction du régime

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	5,745	7,04	8,29	8,115	7,2975
B	5,29	7,135	6,605	8,13	6,79
C	5,74	6,99	7,69	7,17	6,8975
D	4,665	7,505	6,575	5,14	5,97125
Moyennes	5,36 ^a	7,1675 ^b	7,29 ^{bd}	7,13875 ^c	

L'urémie ([Urée]), varie de manière significative entre les rations ($p < 0,05$, [modèle 2 : effet du régime sur les moyennes journalières individuelles périodiques]) (annexe 6). En effet, plus le régime est azoté, plus les concentrations sont importantes. (Fig. 15).

Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

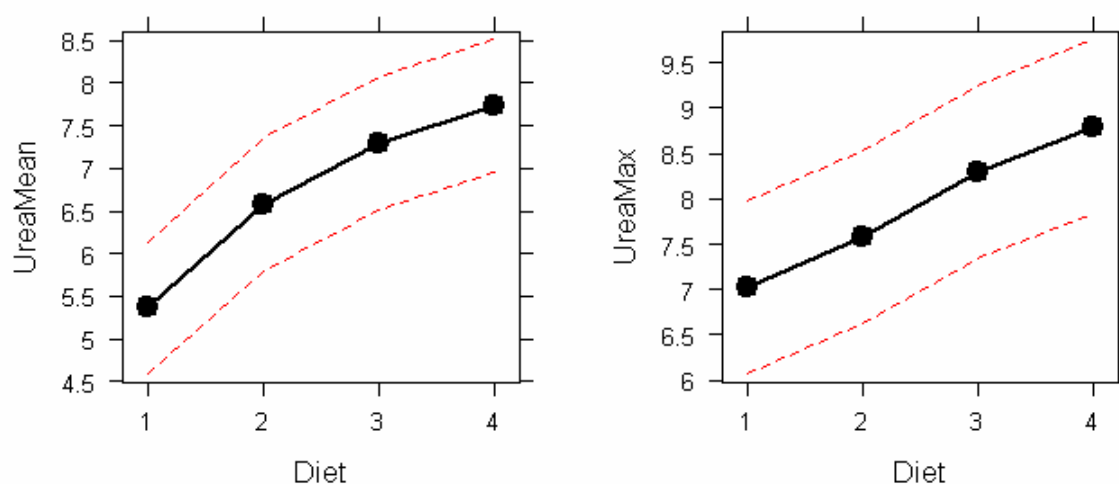


Figure 15 : effet de la ration sur l'urémie moyenne et maximale

3.2.3.Effet Temps x régime

Peu de valeurs de l'urémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 14, annexe 4)

3.2.4.Effet MAT, Soja et Urée

L'urémie ([Urée]), varie de manière significative selon la quantité d'urée, de soja et de MAT présente dans la ration ($p < 0,05$ [modèle 2bis et 2 ter]). (Annexe 6)

3.3. Glycémie

3.3.1.Effet temps

Les glycémies des régimes 16, 20S et 20U diminuent suite à la prise de ration. Elles restent ensuite stables pour les deux premiers régimes et augmentent pour le troisième. La glycémie du régime 24 augmente tout au long de la journée. Aucune variation significative n'est décrite (Fig. 16 et 17).

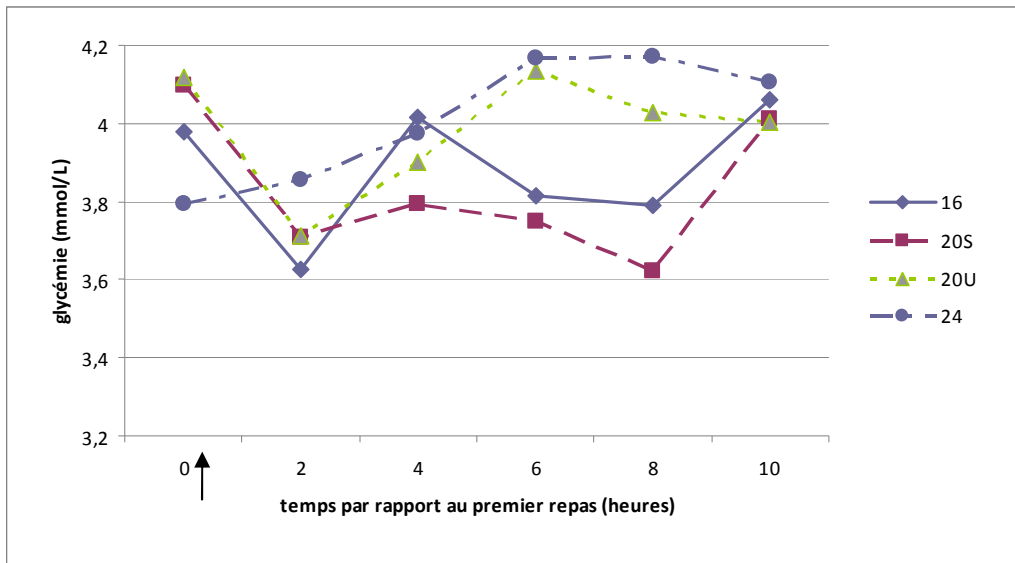


Figure 16 : Evolution de la glycémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

3.3.2. Effet Régime

Les deux régimes les plus azotés ont en moyenne des glycémies plus élevées que les deux autres, sans différence significative (Tab. 11).

Les régimes n'ont aucun effet sur la glycémie (Fig. 17, Tab. 11), quelle que soit l'analyse de variance réalisée.

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

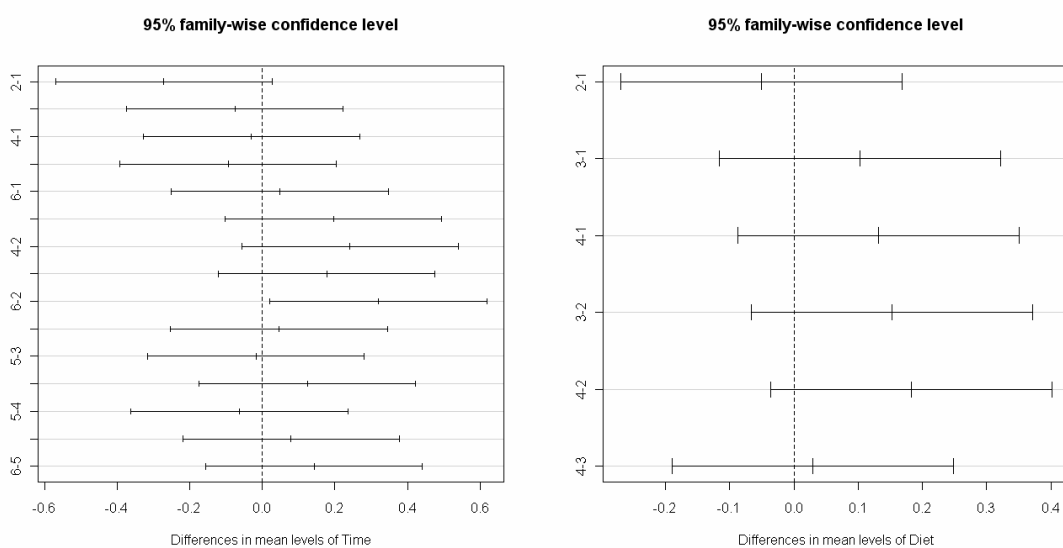


Figure 17 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la glycémie.

3.3.3.Effet temps x régime

Peu de valeurs de la glycémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 17, annexe 4)

Tableau 11 : moyennes pondérées des glycémies (mmol/l) en fonction des régimes

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	3,303	3,566	3,891	3,843	3,65
B	3,771	4,015	3,893	3,744	3,85
C	4,149	4,105	3,978	4,524	4,18
D	4,189	3,455	4,109	3,988	3,93
Moyennes	3,85	3,78	3,96	4,02	

3.3.4.Effet MAT, Soja et Urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.4. Bilan acido – basique

3.4.1. pH sanguin

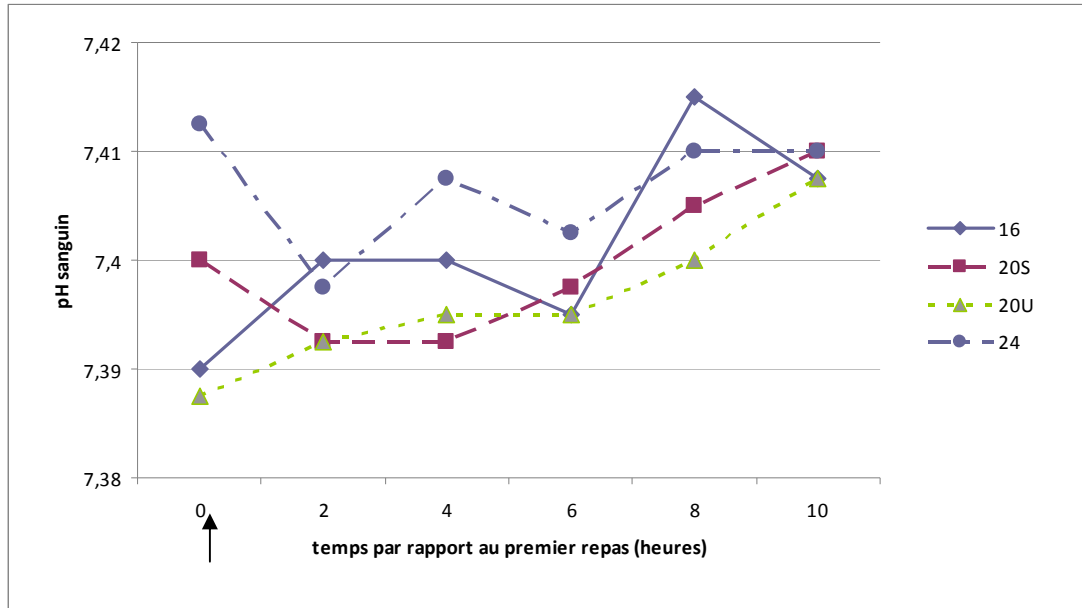


Figure 18 : Evolution du pH sanguin au cours de la journée

↑ Distribution des rations

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

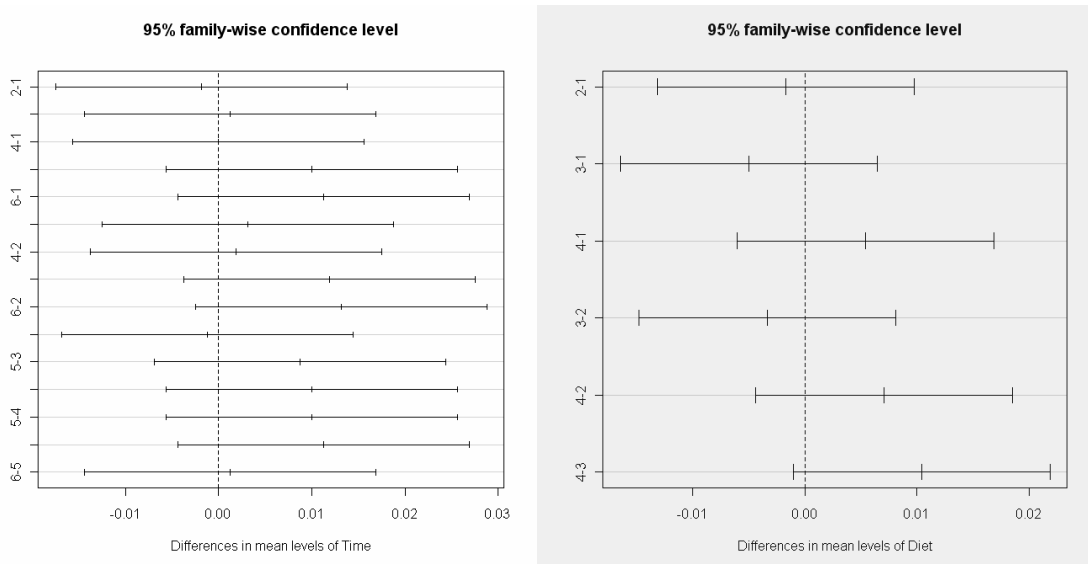


Figure 19 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour le pH sanguin.

3.4.1.1. Effet temps

Les pH sanguins ont tendance à augmenter au cours de la journée mais sans différence significative (Fig. 18 et 19). Les écarts-type associés à H_0 sont importants.

3.4.1.2. Effet régime

Le pH sanguin moyen quotidien du régime à 24% de MAT est supérieur aux trois autres régimes mais sans différence significative (Tab. 12). Les régimes n'ont aucun effet sur le pH sanguin (Fig. 19, Tab. 12), quelle que soit l'analyse de variance réalisée.

Tableau 12 : Moyennes pondérées quotidiennes du pH sanguin en fonction du régime

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	7,379	7,395	7,391	7,391	7,389
B	7,419	7,411	7,398	7,413	7,41025
C	7,413	7,399	7,396	7,434	7,4105
D	7,396	7,389	7,399	7,385	7,39225
Moyennes	7,40175	7,3985	7,396	7,40575	

3.4.1.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs des pH sanguins des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 19, annexe 4)

3.4.1.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.4.2. Bicarbonatémie

3.4.2.1. Effet temps

A la suite du repas, la bicarbonatémie augmente significativement ($p < 0.05$) et reste significativement élevée ($p < 0.05$ [modèle 3, avec effet animal et période]) d'environ 2 mmol/l de H₂ à H₁₀, par rapport à H₀ (Fig. 20 et 21)

3.4.2.2. Effet régime

La bicarbonatémie des régimes 24 et 20S est inférieure à celle du régime 16 ($p < 0.05$ [modèle 1, effet animal et période négligé]) (tableau 13).

En tenant compte des effets animal et période [modèle 3], le régime n'influe pas sur la bicarbonatémie. Cependant, la différence entre la ration 16 et les rations 24 et 20S est proche de la significativité statistique (Fig. 21)

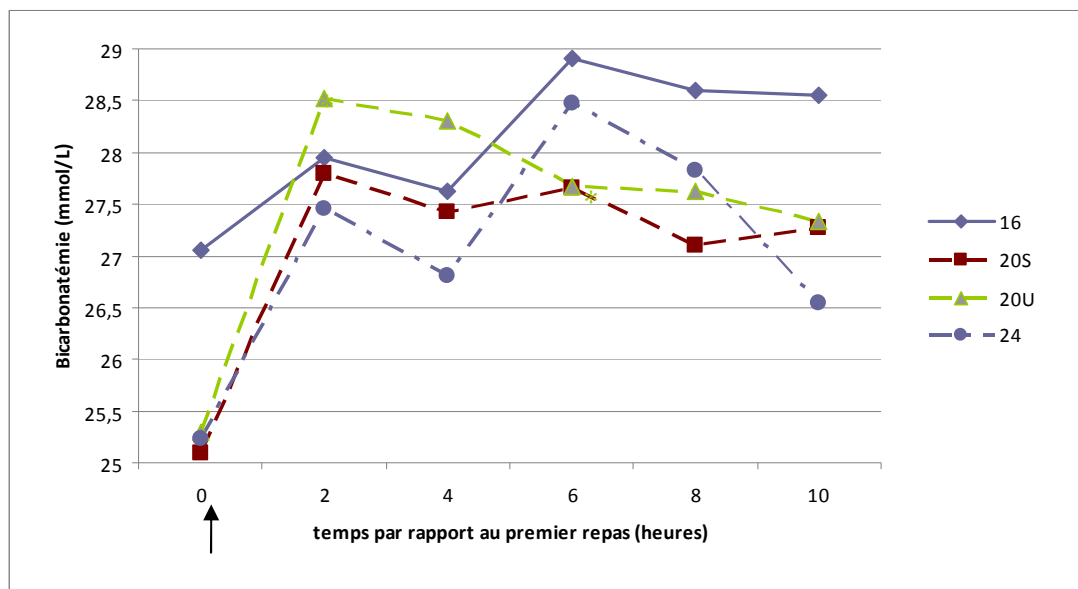


Figure 20 : Evolution de la bicarbonatémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

Heure : 1 : H₀ ; 2 : H₂ ; 3 : H₄ ; 4 : H₆ ; 5 : H₈ ; 6 : H₁₀ // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

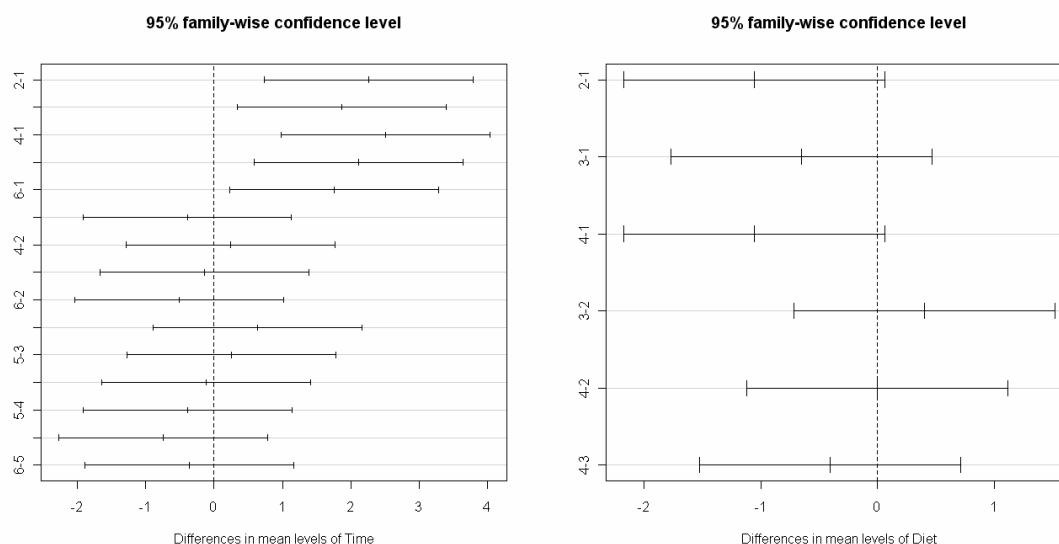


Figure 21 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la bicarbonatémie.

3.4.2.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de la bicarbonatémie des couples Temps x Régime différent entre elles (Fig. 21, annexe 4)

Tableau 13 : moyennes pondérées quotidiennes de la bicarbonatémie (mmol/l) en fonction du régime

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	29,22	27,06	27,97	26,34	27,6475
B	28,15	26,25	26,78	26,81	26,9975
C	28,94	28,17	28,02	28,53	28,415
D	26,39	27,45	27,98	27,47	27,3225
Moyennes	28,175 ^a	27,2325 ^b	27,6875 ^a	27,2875 ^b	

3.4.2.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.4.3.pCO₂

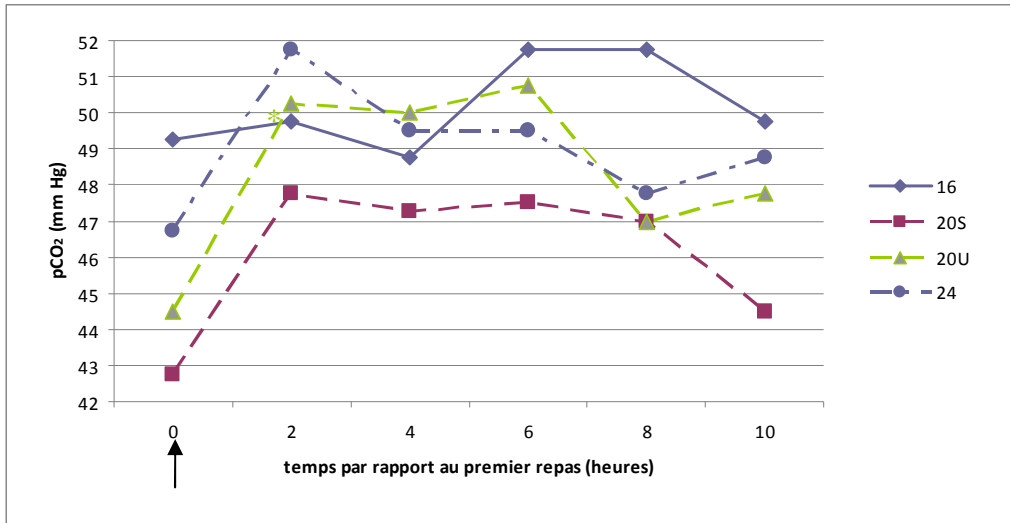


Figure 22 : Evolution de la pCO₂ au cours de la journée

↑ Distribution des rations

3.4.3.1. Effet temps

A la suite du repas, la pression partielle en CO₂ (pCO₂) augmente (p<0,05 [modèle 3, avec effet animal et période]) et reste significativement élevée (p<0.05) d'environ 3 à 4 mm Hg/l de H₂ à H₈, par rapport à H₀ (Fig. 22 et 23).

Heure : 1 : H₀ ; 2 : H₂ ; 3 : H₄ ; 4 : H₆ ; 5 : H₈ ; 6 : H₁₀ // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

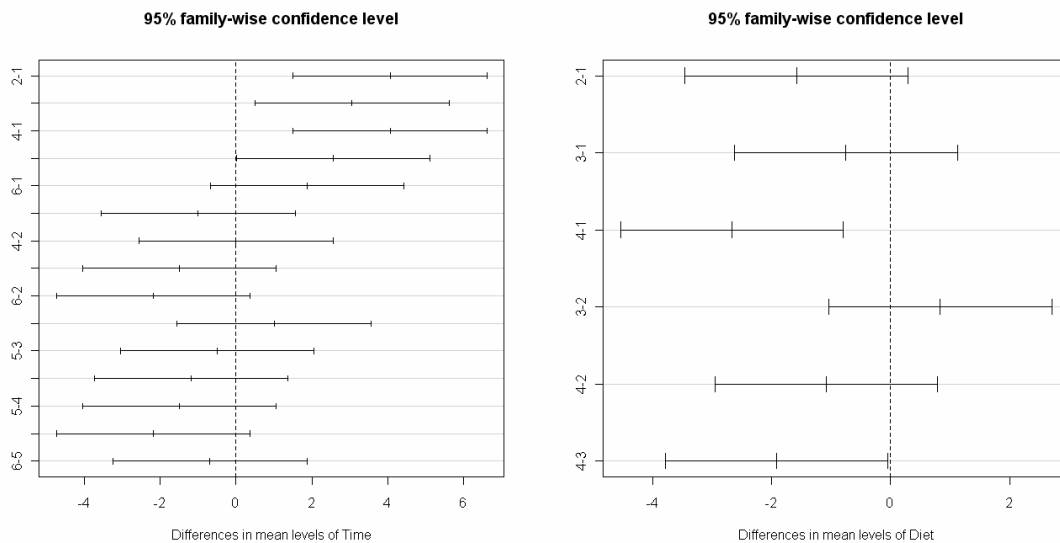


Figure 23 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la pCO₂.

3.4.3.2. Effet régime

La pCO₂ du régime 24 est inférieure à celle des régimes 16 et 20U (p<0.05 pour les 2 modèles). (Tableau 14 et Fig. 23)

Tableau 14 : Moyennes pondérées quotidiennes des pCO₂ en fonction du régime (mm Hg)

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	54,3	48,6	50,7	47,6	50,3
B	47,7	45,3	47,6	45,9	46,625
C	49,6	50,4	49,7	45,6	48,825
D	47,2	49,8	49,4	50,6	49,25
Moyennes	49,7 ^a	48,525	49,35 ^a	47,425 ^b	

3.4.3.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de la pCO₂ des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 23, annexe 4)

3.4.3.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.5. Ionogramme

3.5.1. Natrémie

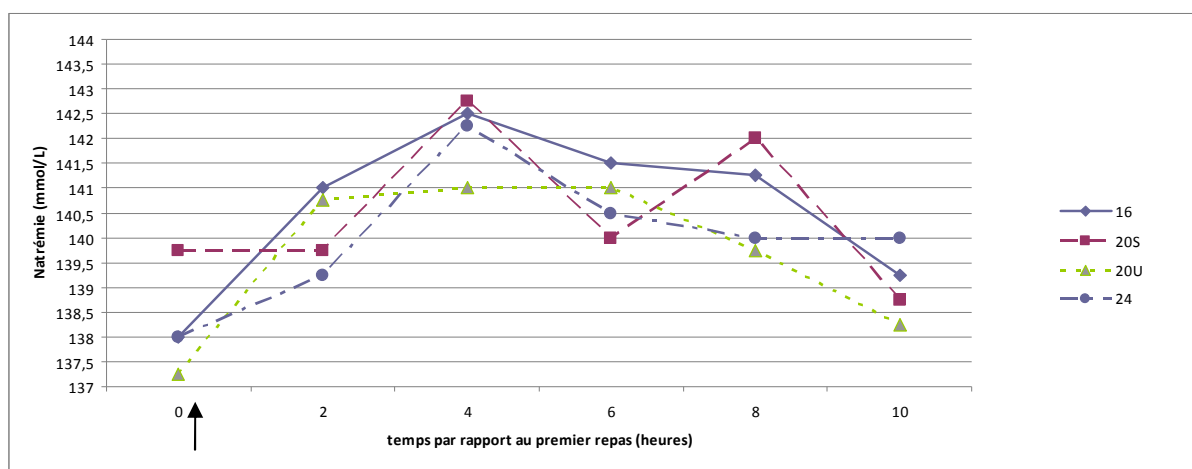


Figure 24 : Evolution de la natrémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

3.5.1.1. Effet temps

La natrémie semble décrire un pic centré sur H₄ (Fig. 24)

A la suite du repas, la natrémie augmente significativement de 4 puis de 3,8 mmol/l respectivement à H₃ et H₄ par rapport à H₀ ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Malgré sa baisse à partir de H₄, la natrémie reste significativement supérieure de 2 mmol/l à H₆ et H₈ par rapport à H₀ ($p < 0,05$).

A H₁₀, elle est de 3 mmol/l plus basse qu'à H₄ ($p < 0,05$) (Fig. 24 et 25).

3.5.1.2. Effet régime

Les régimes n'ont aucun effet significatif sur la natrémie (Fig. 25, Tab. 15), quelle que soit l'analyse de variance réalisée.

3.5.1.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de la natrémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 25, annexe 4)

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

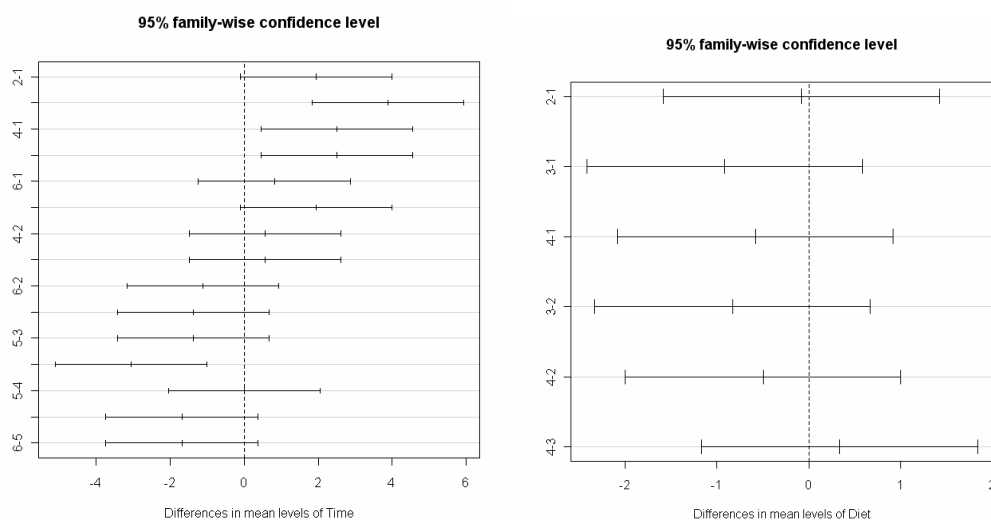


Figure 25 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la natrémie.

3.5.1.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.5.2. Kaliémie

3.5.2.1. Effet temps

L'ingestion de ration induit une diminution significative de la kaliémie de 0.2 mmol/l à H₄ et H₆ par rapport à H₀ ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). La kaliémie augmente non significativement à partir de H₄ pour les régimes 16 et 20S et à partir de H₆ pour les régimes 20U et 24. (Fig. 26 et 27)

3.5.2.2. Effet régime

La kaliémie des régimes 24, et 20U et 20S est inférieure à celle du régime 16 ($p < 0,05$ [modèle 1, effet animal et période négligé]) (tableau 15).

Les animaux soumis au régime 20U ont en moyenne des kaliémies significativement plus basses par rapport au régime 16 ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période])

(Tableau 15 et Fig. 27). Les kaliémies des régimes 20S et 24 tendent à être inférieures à celle du régime 16 (respectivement, $p=0.06$ et $p=0.07$)

La valeur la plus basse atteinte est 3.65 mmol/L. avec le régime 24 à H₆.

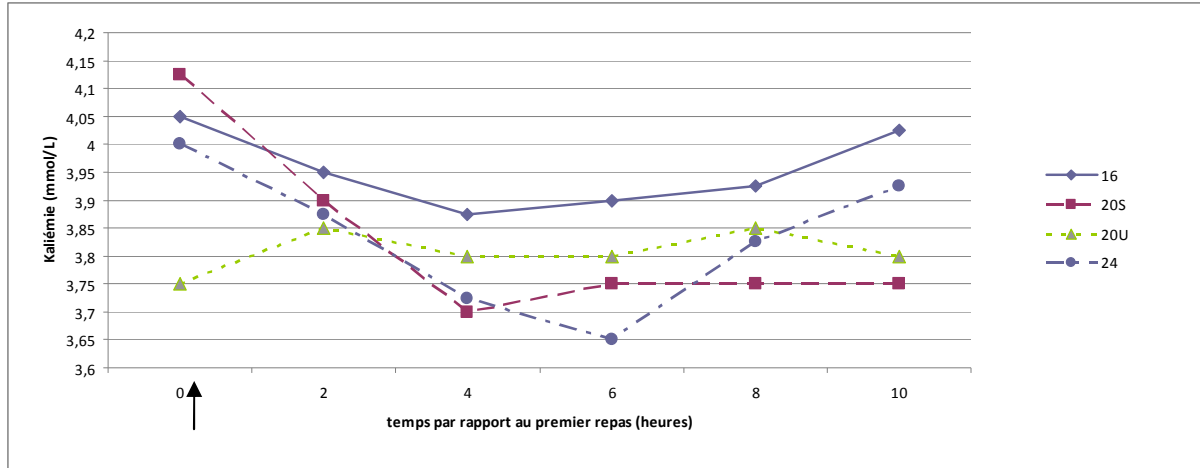


Figure 26 Evolution de la kaliémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

Heure : 1 : H₀ ; 2 : H₂ ; 3 : H₄ ; 4 : H₆ ; 5 : H₈ ; 6 : H₁₀ // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

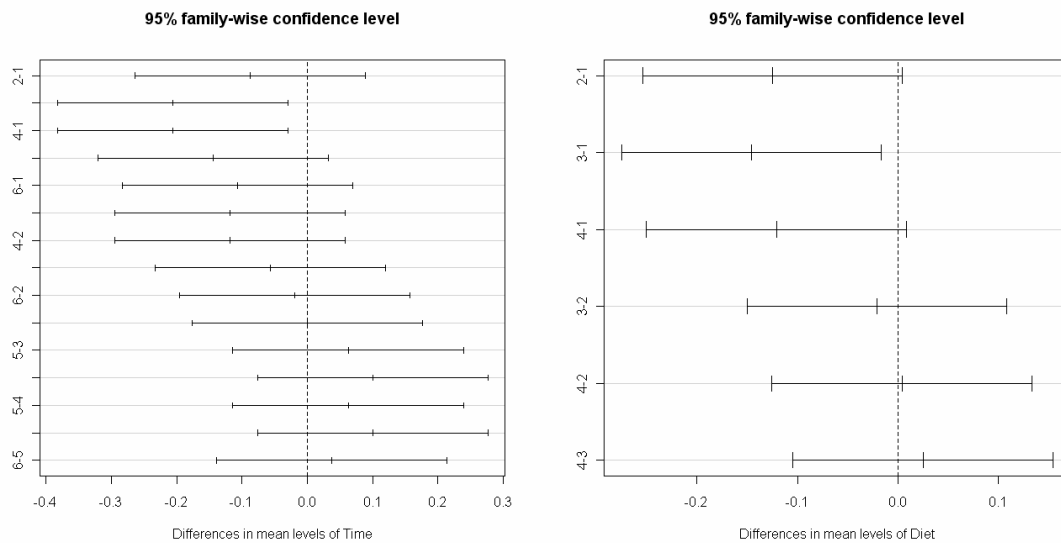


Figure 27 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la kaliémie.

3.5.2.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de la kaliémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 27, annexe 4).

3.5.2.4. Effet MAT, soja et urée

La kaliémie varie de manière significative selon la quantité d'urée, de soja, et de MAT présente dans la ration ($p < 0,05$ [modèle 2bis et 2 ter]). (Annexe 6)

3.5.3. Chlorémie

3.5.3.1. Effet temps

La chlorémie semble décrire un pic centré sur H₄ (Fig. 25). En effet, la chlorémie augmente significativement de 2 mmol/l à H₄ par rapport à H₀ ($p < 0,05$ [modèle 3, avec effet animal et période]). Elle baisse ensuite : à H₁₀, elle est de 2 mmol/l inférieure à H₄ ($p < 0,05$) (Fig. 28 et 29).

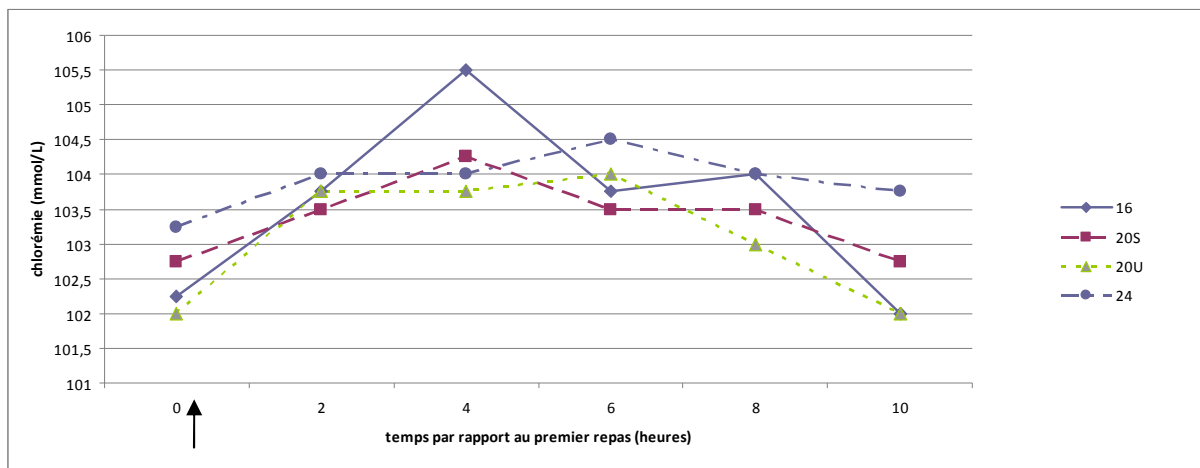


Figure 28 : Evolution de la chlorémie au cours de la journée

↑ Distribution des rations

Heure : 1 : H0 ; 2 : H2 ; 3 : H4 ; 4 : H6 ; 5 : H8 ; 6 : H10 // Ration : 1 : 16 ; 2 : 20S ; 3 : 20U ; 4 : 24

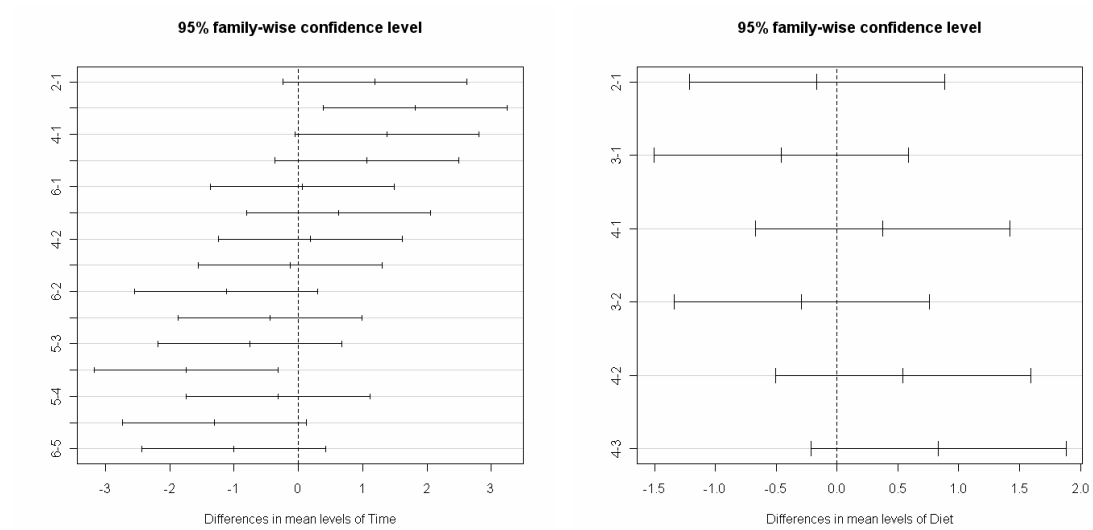


Figure 29 : Valeur moyenne de l'effet Heure (Time) et Ration(Diet) et intervalle de confiance à 95 % pour la chlorémie.

3.5.3.2. Effet régime

Les régimes n'ont aucun effet sur la chlorémie (Fig. 29, Tab. 15), quelle que soit l'analyse de variance réalisée.

3.5.3.3. Effet temps x régime

Peu de valeurs de la chlorémie des couples Temps x Régime diffèrent entre elles (Fig. 29, annexe 4).

Tableau 15 : moyennes pondérées des composants du ionogramme en fonction des régimes

Na		16	20S	20U	24	Moyennes
	A	141,6	139,1	140,7	140,4	140,45
	B	143,5	141,8	140,3	140,3	141,475
	C	139,4	142,6	140	139,8	140,45
	D	139,4	139,5	139,2	140,3	139,6
	Moyennes	140,975	140,75	140,05	140,2	
K		16	20S	20U	24	Moyennes
	A	4,01	3,8	3,81	3,87	3,8725
	B	3,83	3,81	3,69	3,78	3,7775
	C	3,95	3,84	3,89	3,81	3,8725
	D	3,96	3,78	3,87	3,77	3,845
	Moyennes	3,9375a	3,8075b	3,815b	3,8075b	
Cl		16	20S	20U	24	Moyennes
	A	103,1	103,5	102,8	105,4	103,7
	B	106,1	104,2	104,1	104,1	104,625
	C	102,5	102,1	103,9	102,2	102,675
	D	103,6	104,2	102,4	104,3	103,625
	Moyennes	103,825	103,5	103,3	104	

3.5.3.4. Effet MAT, soja et urée

Aucun effet de la MAT, du soja ou de l'urée n'est observé.

3.6. Enzymes hépatiques

Aucun effet du temps, du régime, et de l'interaction temps x régime sur les concentrations en ASAT, CK et GGT n'est observé.

4. Evolution des paramètres urinaires

4.1. pH

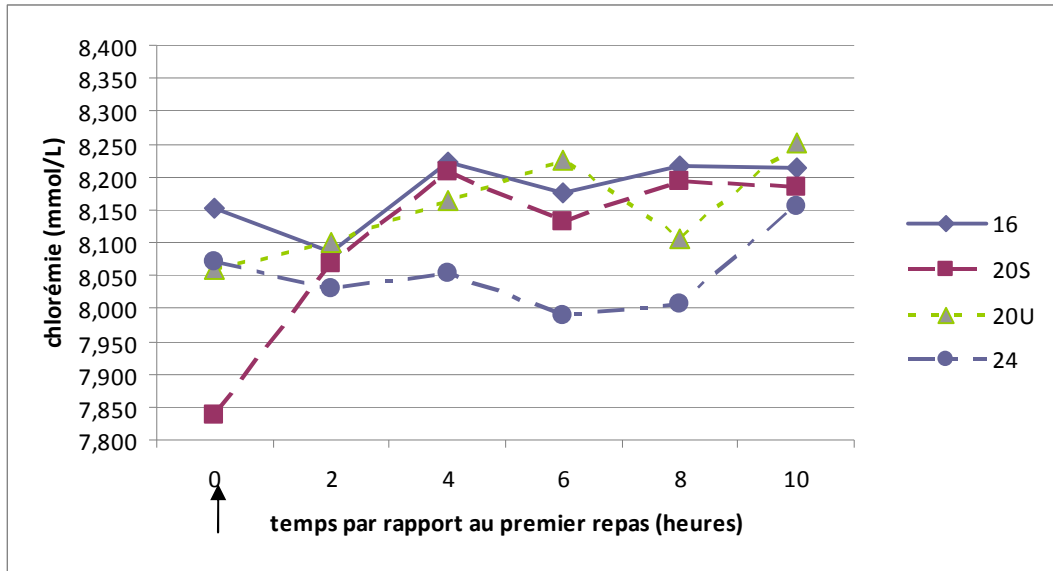


Figure 30 : Evolution du pH urinaire cours de la journée

↑ Distribution des rations

Les pH urinaires ont tendance à augmenter dans les heures suivant la prise alimentaire. Mais, aucune variation significative n'est observée (Fig. 30).

Cependant, en moyenne, les animaux ingérant la ration à 24% de MAT, ont un pH urinaire significativement plus bas que les régimes 16 et 20U (Tab. 16).

Tableau 16 : moyennes pondérées des pH urinaires

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	8,1575	8,21667	8,1265	8,0535	8,13
B	8,06	5,6195	7,90111	7,88111	7,36
C	8,32556	8,069	8,1955	8,205	8,19
D	8,21143	8,10071	8,26813	8,05714	8,15
Moyennes	8,18 ^a	7,50 ^a	8,12 ^{ac}	8,04 ^b	

4.2. Protéines urinaires

La présence de protéines dans les urines n'a jamais été mise en évidence sur les prélèvements (bandettes ou réaction de Heller).

5. Variations des paramètres biochimiques en fonction d'autres paramètres biochimiques.

Les effets des paramètres biochimiques entre eux sont reportés dans le tableau 17 (modèle 4).

Tableau 17 : analyse de variance sur les paramètres ruminal et sanguin

Y =	NH3	NH3 Max	Urée	Urée Max	Glu	bica	pCO2	tCO2	K
Effet NH3Sg		p<0,001	p<0,05	p<0,01					
Effet NH3Max	p<0,001		p<0,05	0,08					0,06
Effet UréeSg	p<0,001	p<0,05		p<0,01					
Effet UréeMax	p<0,01	0,08	p<0,01		0,07	p<0,05		0,06	
Effet Bica				p<0,05			p<0,05	p<0,001	
Effet NH3 RUMEN	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01	0,07				0,07
Effet PCO2					0,08	p<0,05		p<0,01	

5.1. Effets de l'ammoniaque ruminal

- L'ammoniémie (moyenne et maximale), et l'urémie (moyenne et maximale) augmentent significativement avec l'ammoniaque ruminal. (Tab.17) (fig. 31).

- La glycémie et la kaliémie tendent à respectivement augmenter et diminuer avec une augmentation des concentrations ruminales en ammoniacque mais sans atteindre la significativité statistique ($p=0.07$)

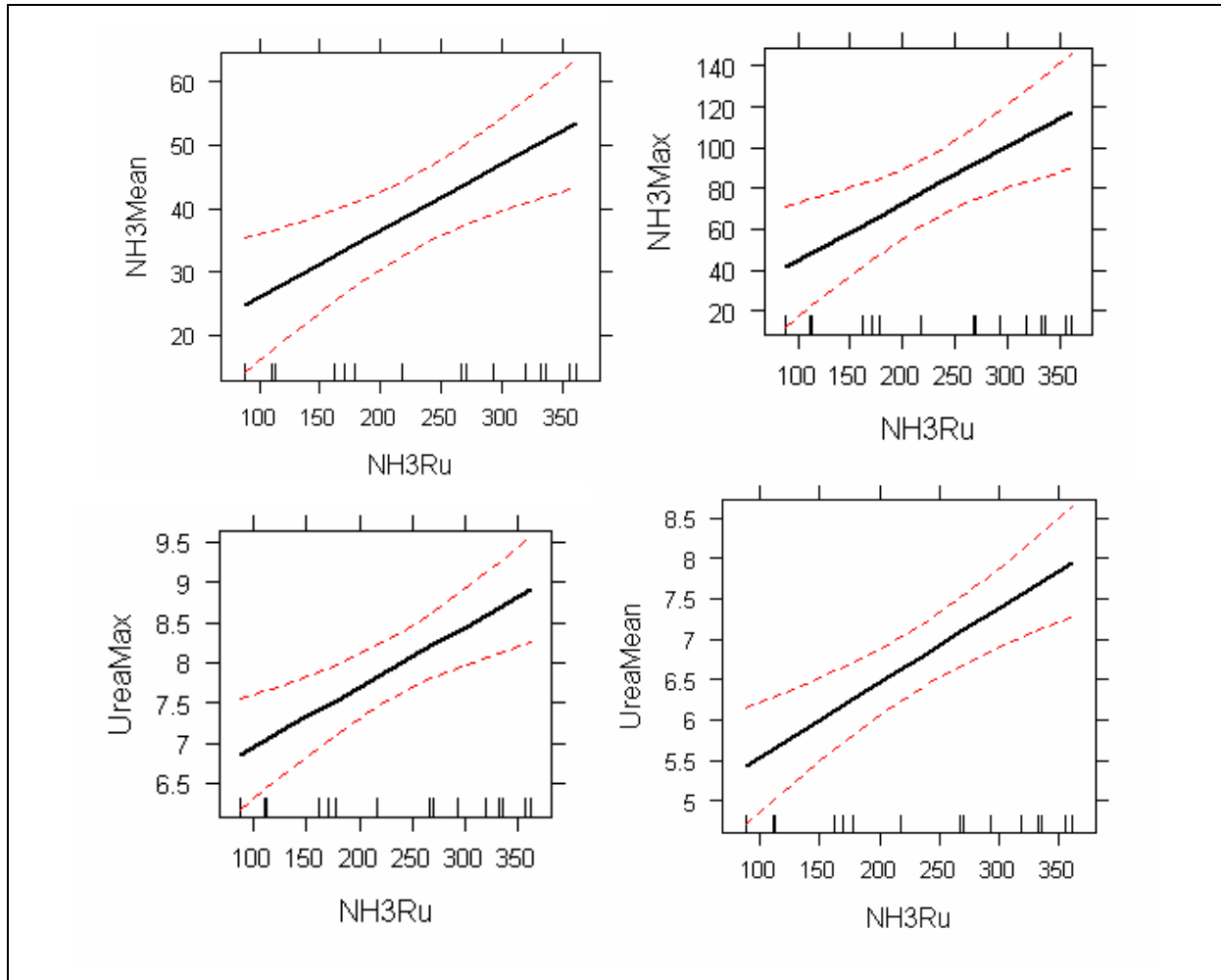


Figure 31 : Relations entre les cocentrations d' ammoniacque ruminal et l'ammoniémie ou l' urémie

5.2. Effets de l'ammoniémie

L'urémie (moyenne et maximale), et l'ammoniémie maximale augmentent significativement avec l'ammoniémie moyenne. (Tab.17 et fig. 32)

L'ammoniémie moyenne, l'urémie moyenne et maximale augmentent aussi significativement avec les concentrations maximales en ammoniacque sanguin (Tab.17).

Enfin, la kaliémie tend à diminuer avec l'augmentation des concentrations maximales en ammoniacque sanguin mais sans atteindre le seuil de significativité ($p=0,06$) (tab. 17).

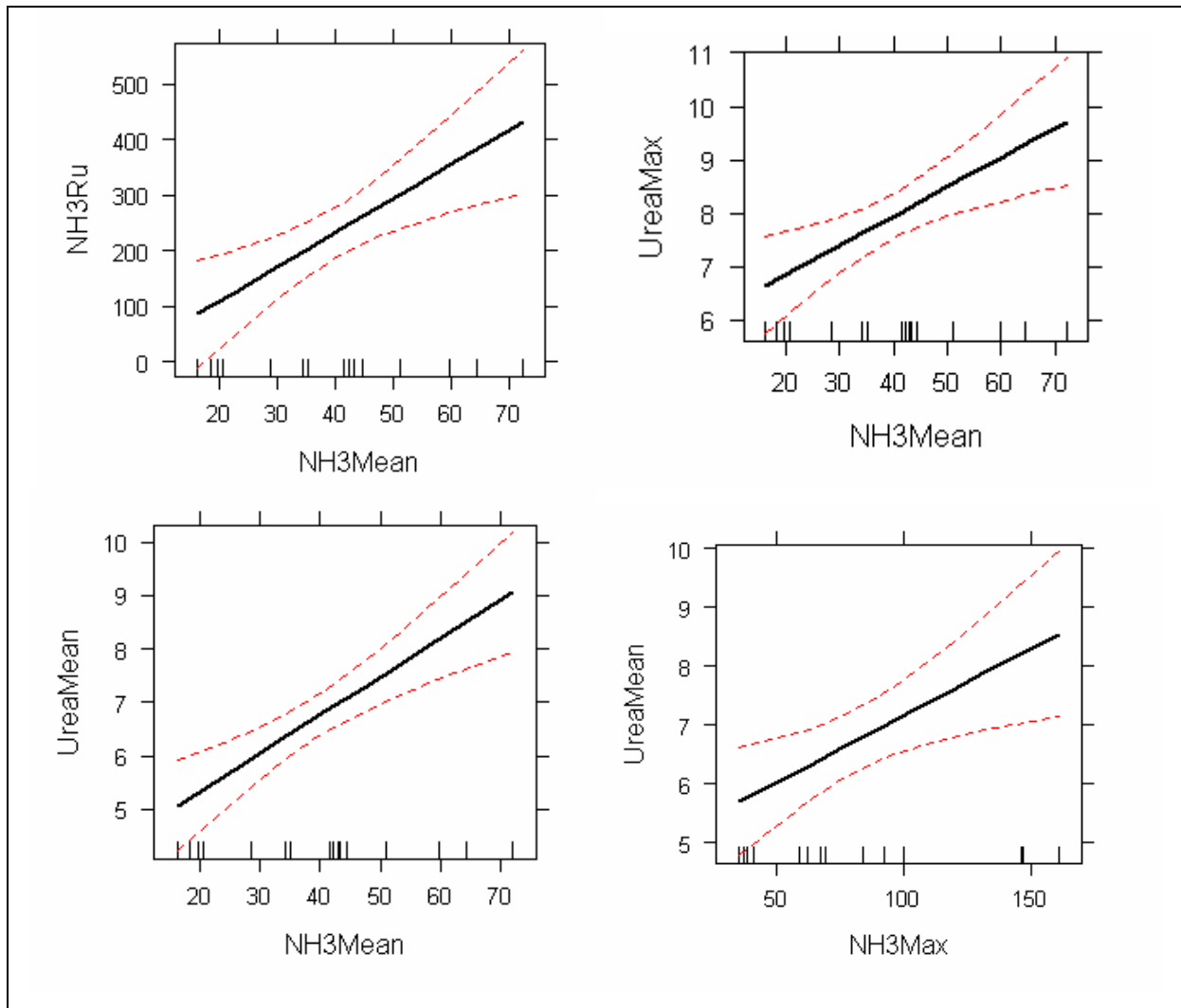


Figure 32 : Relations entre l'ammoniémie moyenne et maximale, l'urémie et la concentration en ammoniacque ruminal

5.3. Effets de l'urémie

- L'urémie moyenne est liée significativement et de manière positive à l'ammoniémie, la bicarbonatémie, et l'urémie maximale (Tab. 17) (fig. 33).
- L'urémie maximale est liée significativement et négativement à la bicarbonatémie. La tCO₂ tend aussi à être liée positivement à l'urémie maximale mais la significativité statistique n'est pas atteinte (p=0,06) (Tab. 17).
- Enfin, la glycémie tend à augmenter avec l'urémie maximale mais là encore la significativité statistique n'est pas atteinte (p=0,07) (Tab. 17).

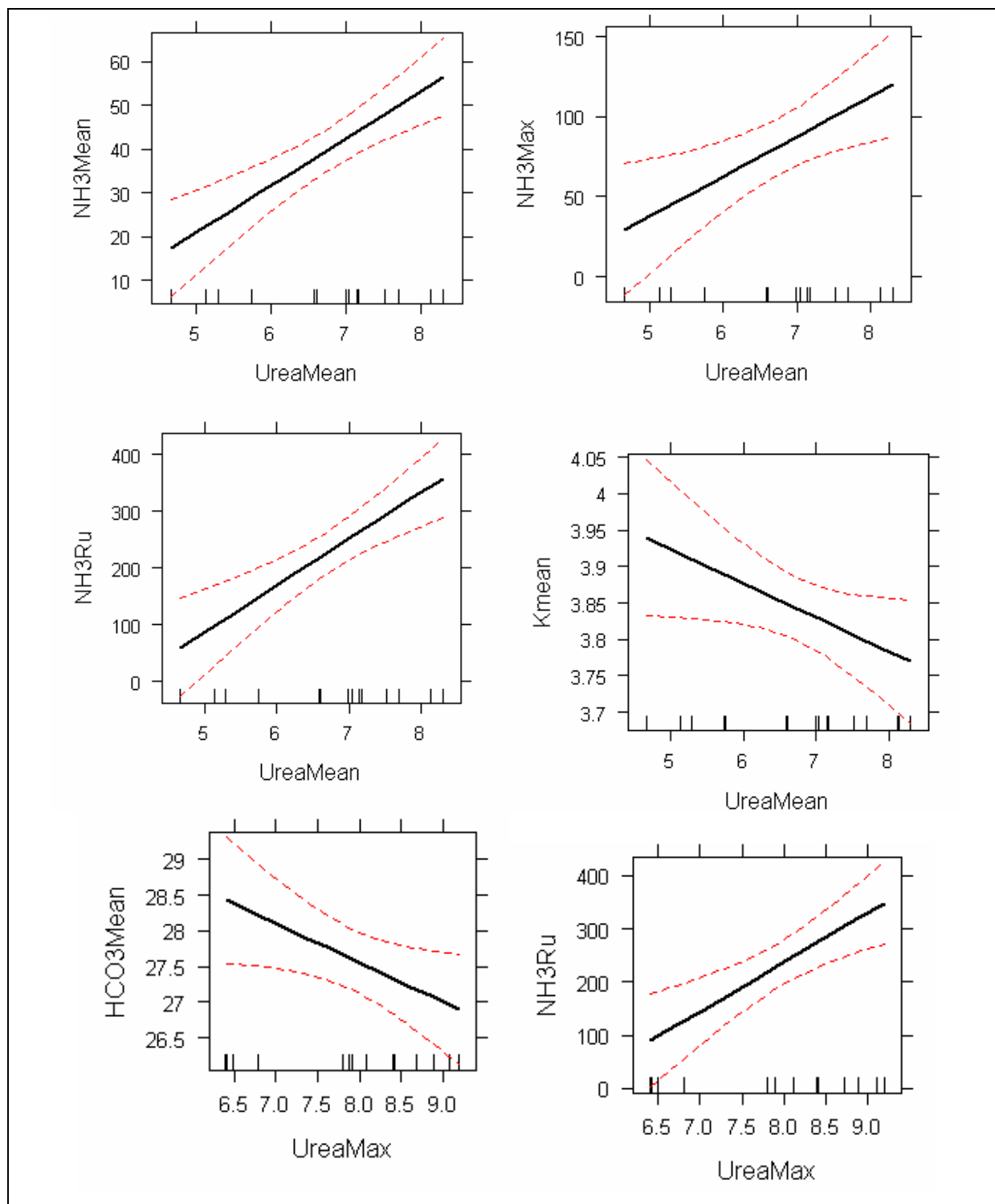


Figure 33 : Relations entre l'urémie moyenne et maximale, l'ammoniémie moyenne et maximale, l'ammoniaque ruminale, la kaliémie et la bicarbonatémie

5.4. Effets de la bicarbonatémie et de la PCO2

La bicarbonatémie est liée positivement et significativement à l'urémie maximale, la tCO2 et la pCO2. (Tab.17). Lorsque la bicarbonatémie s'élève, la pCO2 et la tCO2 font de même. (fig. 34).

Enfin, la bicarbonatémie et la tCO2 varient significativement selon la pCO2. (Tab.17)

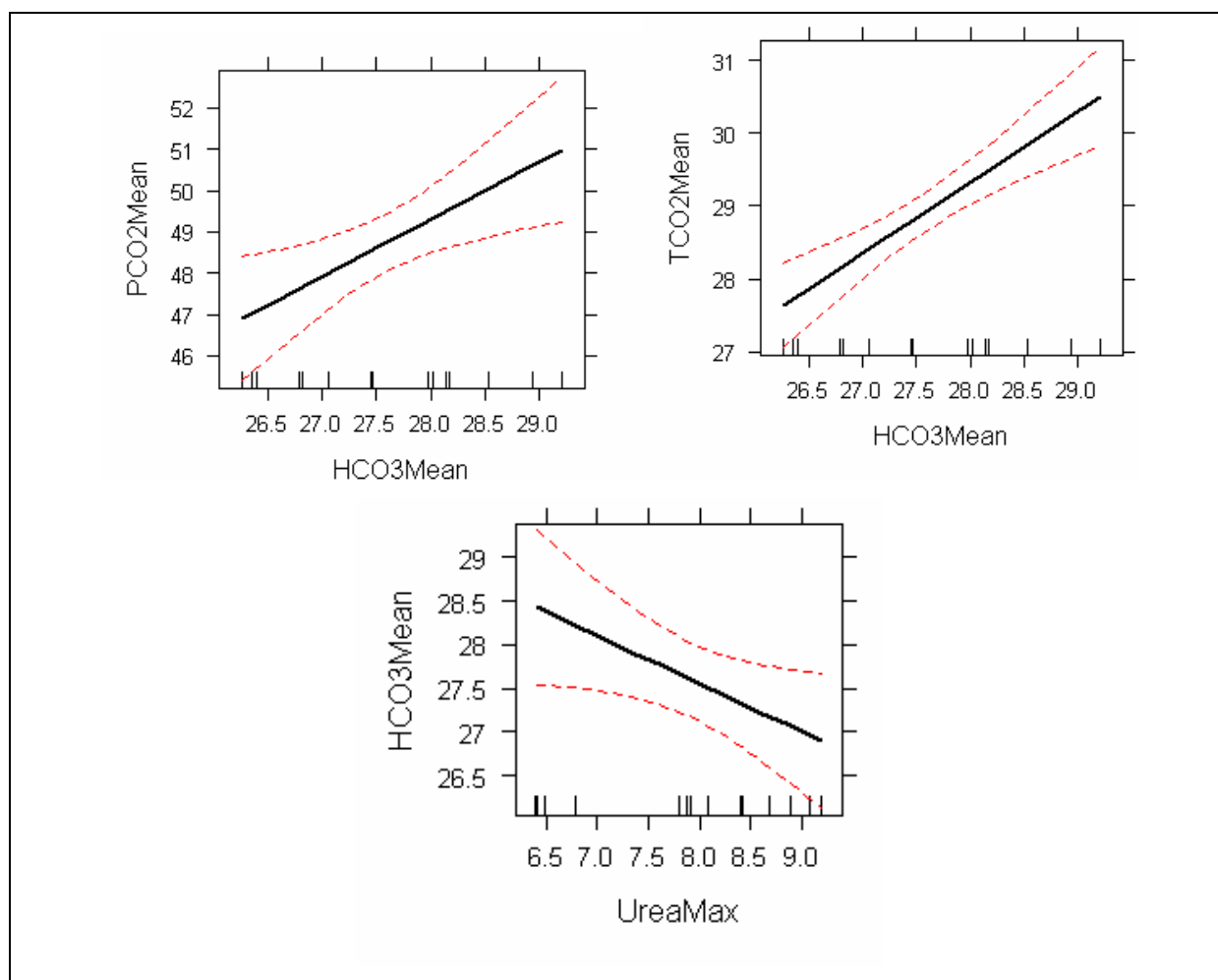


Figure 34 : Relations entre la bicarbonatémie , la pCO2, la tCO2 et l'urémie maximale

3^{EME} PARTIE : DISCUSSION

1. Méthodes de prélèvement et de mesure

1.1. Jus de rumen

1.1.1. pH ruminal

1.1.1.1. Variabilité en fonction des techniques de prélèvement

Dans les conditions de terrain, le prélèvement de jus de rumen est réalisé par ruminocentèse ou sondage oesophagien. En conditions expérimentales, la fistulisation du rumen et la mise en place de canules ruminales rigides permettent des prélèvements répétés.

Le sondage oesophagien conduit à des valeurs de pH surestimées de 12 à 14%, en lien avec une contamination par la salive, par rapport aux techniques de ruminocentèse et de prélèvement par une canule (*Dircksen, 1987 ; Nordlund, 1994*). Les 200 premiers ml prélevés par sondage oesophagien ont un pH et une concentration en bicarbonates significativement plus élevés que les 200 ml prélevés ensuite (*Duffield, 2004*).

En moyenne, le pH des échantillons récoltés par ruminocentèse est entre 0,44 et 0,35 unité de pH plus bas que par sondage (*Nordlund, 1994*).

La ruminocentèse ne permet qu'un prélèvement unique par animal. Les risques de contamination sanguine du prélèvement (d'où une possible surévaluation du pH de l'échantillon) voire de péritonite sont importants.

En conditions expérimentales, la méthode de choix, est le prélèvement via une canule ruminale.

1.1.1.2. Variabilité en fonction du site de prélèvement

Le prélèvement via la canule ruminale peut conduire à des résultats variables selon le site de prélèvement. Le prélèvement en partie crânio-ventrale, doit être favorisé. En effet, le mélange du contenu ruminal y est le meilleur et la valeur de pH reflète le mieux le pH du rumen (*Duffield, 2004*).

1.1.1.3. Evolution du pH après prélèvement

Le contact d'échantillons du jus de rumen avec l'air ambiant conduit à une alcalinisation du jus pouvant atteindre 0,6 unité de pH en 3 heures (*Brugère-Picoux, 1983*).

Cette augmentation peut être expliquée par l'équilibre entre les phases liquides et gazeuses. Le contact de l'air crée une diminution de la $p\text{CO}_2$ de l'échantillon et induit une consommation de H^+ et donc l'élévation du pH.



1.1.1.4. Techniques de mesure du pH

Les conditions d'éclairage et la coloration initiale du jus de rumen interfèrent dans la lecture des plages colorées, rendant peu fiable l'utilisation du papier pH.

1.1.2. Acides gras volatils

Avant le repas, les plus fortes concentrations en AGV se trouvent en parties dorsale et centrale du rumen. Les valeurs les plus basses se trouvent en zone ventrale au niveau du réseau (*Lane, 1982*).

Le rapport entre les différents AGV n'est pas modifié par la localisation et le moment du prélèvement par rapport au repas (*Lane, 1982*).

Les résultats obtenus dans notre essai (prélèvement en partie déclive) pourraient donc sous estimer la quantité réelle d'AGV, contenue dans le jus de rumen. Toutefois le ratio entre les différents AGV peut être considéré comme exact.

1.1.3. Ammoniaque

La mesure de la concentration en ammoniaque du jus de rumen doit être réalisée dans les 9 heures après prélèvement si la conservation a lieu à température ambiante et jusqu'à 24 heures après réfrigération (*House, 1992*).

La congélation immédiate des prélèvements, avec arrêt de l'activité fermentaire (HgCl_2), semble une technique appropriée.

Les méthodes de Nessler et de Berthelot sont les plus utilisées.

- Dans la méthode de Nessler, le réactif forme un précipité avec l'ammoniaque qui modifie ainsi l'absorbance.
- Dans la méthode de Berthelot, l'ammoniaque réagit en milieu basique avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec 2 molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol. L'intensité de coloration est mesurée à 610 nm.

La sensibilité et la reproductibilité de la méthode de Berthelot sont meilleures qu'avec celle de Nessler (*Luo, 1995*).

1.2. Sang

1.2.1. Evaluation du statut acido-basique

Lors de prélèvement de sang le contact avec l'air doit être minimal, les échanges gazeux conduisant à une modification du pH et de la pCO_2 (*Carlson, 1997*).

Idéalement, l'analyse des gaz du sang doit être réalisée dans les 5 minutes suivant le prélèvement. Toutefois, les résultats sont peu affectés si le prélèvement est conservé jusqu'à 20 minutes à 5°C et jusqu'à 2h, voire 4h, dans de la glace pilée (*Carlson, 1997*).

Dans cet essai, les analyses ont été réalisées dans les dix minutes suivant le prélèvement. Les tubes étaient conservés sous froid positif durant cette période.

1.2.2. Ammoniémie et urémie

La concentration en ammoniaque est très instable dans les échantillons de sang et de plasma.

Cette instabilité provient de la dégradation de l'urée en ammoniaque dans l'échantillon prélevé. La dégradation de 0,1 mmol d'urée produit 200 μmol d'ammoniaque : il n'y a donc aucune influence significative sur les concentrations en urée dans le plasma (faible quantité d'urée dégradée). En revanche la concentration d'ammoniaque dans le plasma augmente sensiblement en fonction du temps écoulé depuis le prélèvement, et conduit à modifier significativement les valeurs de l'ammoniémie (*Morag, 2002*).

La réfrigération immédiate (échantillons placés immédiatement dans de la glace pilée) et la centrifugation (plasma séparé dans les 30 minutes et réfrigéré à 4°C) autorisent un délai

d'analyse de 3 heures. La congélation du plasma permet de réaliser le dosage jusqu'à 3 jours après le prélèvement.

Dans cet essai, les échantillons ont été immédiatement centrifugés et analysés (prélèvements pendant la journée), ou immédiatement centrifugés après prélèvement et le plasma congelé (prélèvements hors horaires d'ouverture du laboratoire). Le délai d'analyse maximal est alors de 14 heures.

Les valeurs d'ammoniaque sanguin obtenues dans cet essai peuvent donc vraisemblablement être considérées comme représentatives de l'ammoniémie réelle.

1.2.3. Glycémie

La concentration en glucose du sang total évolue très rapidement après le prélèvement. En effet, la glycolyse par les globules rouges est très rapide (10 % par heure) à température ambiante. Par ailleurs la glycolyse augmente lorsque le prélèvement est contaminé par des micro-organismes. Afin de pallier ces problèmes, il est possible de recourir à une réfrigération après une centrifugation immédiate du prélèvement (30 minutes maximum) ou à l'utilisation de fluorure (inhibition de la glycolyse) (*Kaneko, 1995*).

La centrifugation des tubes dans les 10 minutes après le prélèvement sur héparinate de lithium et leur conservation dans la glace pilée, suggèrent une absence de glycolyse susceptible de modifier les résultats obtenus.

1.3. Urine

L'urine a été recueillie par miction spontanée, compte tenu de l'impossibilité de réaliser un cathétérisme uréthro – vésical sur les mâles vigiles, à cause des particularités anatomiques (S pénien). La fréquence des prélèvements est assez hétérogène. Les prélèvements réalisés ont été affectés aux valeurs du point de mesure le plus proche.

De plus, la contamination du prélèvement peut avoir une influence sur le résultat des différents paramètres mesurés (protéines...), même si des précautions d'hygiène particulières ont été prises.

2. Modifications biochimiques ruminales

2.1. Les concentrations en ammoniacque

2.1.1. Valeur moyenne en ammoniacque en fonction de la nature et de l'excès azoté.

Dans cet essai, la concentration ruminale en ammoniacque augmente à H₂, puis diminue ensuite (Fig. 2). Les valeurs maximales atteintes à H₂ varient entre 517 mg/l (20U) et 482mg/l (24) et les concentrations moyennes entre 118 (16) et 386 mg/l (24).

Tableau 18 : Valeurs moyennes et maximales des concentrations en ammoniacque ruminal (mg/l)

	Régimes (% MAT)			
	16	20S	20U	24
valeurs maximales atteintes	269,63	331,99	517,09	482,69
moyennes pondérées quotidiennes	118,88	169,09	287,35	346,26

Les moyennes pondérées quotidiennes sont d'autant plus importantes que le régime est riche en matière azotée (Tab. 18). De plus, les tests de variance démontrent un important effet régime sur les concentrations ruminales en ammoniacque ($p < 0.001$).

Les concentrations ruminales en ammoniacque varient fortement selon le niveau de MAT des rations.

Pour un régime à 30% de MAT, les concentrations moyennes après 14 jours d'expérimentation atteignaient 699 mg/l contre 399 pour un régime à 20% et 119 à 10% de MAT (Fenderson, 1976). Dans notre essai, les valeurs observées avec le régime à 20% de MAT sont du même ordre de grandeur que celles atteintes l'expérience citée.

Après 8 jours de pâturage, en période de mise à l'herbe, les concentrations ruminales moyennes en ammoniacque étaient de 413 mg/l sur 8 heures de pâturage, alors qu'avec une ration à base de foin et de concentrés cette concentration n'atteignait que 132 mg/l sur la même durée d'ingestion (Head, 1957). Ainsi, l'ingestion d'herbe de printemps s'est traduite par des concentrations ruminales en ammoniacque légèrement supérieures à celles observées dans notre essai.

En 2006, dans un précédent essai à l'ENVT, destiné à évaluer un apport massif et brutal de tourteau de soja non tanné à hauteur de 1 et 2% du poids vif, la concentration en ammoniacque atteignait respectivement 250 mg/l dans le premier cas et 700 mg/L dans le second (Ferrières, 2009).

L'augmentation des concentrations en ammoniacque et la variation en fonction des rations a pour origine une dégradabilité variable des matières azotées dans le rumen. En effet, les protéines alimentaires ingérées et dégradées dans le rumen conduisent à la production d'ammoniacque (Enjalbert, 2004 ; Nolan, 1972).

La dégradabilité est la proportion de l'azote alimentaire qui est dégradable par la population microbienne du rumen. Les matières azotées non dégradables transitent directement vers les intestins et ne sont pas dégradées dans le rumen. Ces matières azotées peuvent être des protéines associées aux parois cellulaires et donc protégées par celles-ci, ou bien des protéines insolubles ne diffusant quasiment pas dans le rumen. Ces protéines intestinales d'origine alimentaire (PIA) sont, pour 65 à 90% dégradées dans les intestins ; cette fraction est nommée PDIA (protéine digérée dans l'intestin d'origine alimentaire). Les matières azotées dégradables représentent la quasi-totalité des protéines solubles et les matières azotées non protéiques (urée, nitrate par exemple).

Les deux principales populations microbiennes du rumen responsables de la dégradation sont les bactéries et les protozoaires.

- **Les bactéries** amylolytiques semblent plus efficaces dans la protéolyse que les bactéries cellulolytiques (Bach, 2005). Les protéases sont liées aux bactéries. Ces dernières doivent donc entrer en contact avec le substrat pour pouvoir exercer leur action protéolytique (Bach, 2005 ; Wallace, 1991). La principale enzyme de dégradation est une aminopeptidase dipeptidique primaire attaquant les polypeptides sur leurs extrémités aminées. Elles dégradent les polypeptides en oligopeptides. La principale espèce est : *Bacteroides rumenicola* (Wallace, 1991).
- **Les protozoaires**, qui représentent 40% de la biomasse du rumen (Bach, 2005), phagocytent les oligopeptides et des bactéries puis les digèrent dans leur cytoplasme et rejettent de l'ammoniacque par désamination. Ils ne sont pas capables d'utiliser directement l'azote non protéique, ni l'ammoniacque. Leur contribution au passage de protéines microbiennes dans l'intestin est

faible car ils sont sélectivement retenus dans le rumen (*Bach, 2005*). Sans protéines naturelles alimentaires, ils sont absents ou en concentration très faible. La principale espèce est *Entodinium* spp. (*Bach, 2005 ; Wallace, 1991 ; Huber, 1981*).

Les protozoaires ont une activité bactériophage non négligeable (jusqu'à 40% des bactéries) qui permet une production d'ammoniaque à partir de composés azotés non d'origine alimentaire. Cette production non directement alimentaire peut représenter 30% de l'ammoniaque produit (*Nolan, 1972*).

2.1.2. Facteurs influençant la dégradabilité.

2.1.2.1. La source azotée

Dans notre essai, pour les deux régimes à 20% de MAT, les concentrations moyennes quotidiennes en ammoniaque dans le rumen sont beaucoup plus importantes et le pic beaucoup plus prononcé pour le régime à base d'urée. Selon la source azotée, la vitesse de dégradation change.

La ration 20S est basée sur du tourteau de soja avec 3 niveaux différents de dégradation de la composante azotée (*Ferrieres, 2009*) :

- une fraction des protéines (26%) soluble est immédiatement disponible
- une fraction soluble (71%) plus lentement dégradable (8 % / h pour le TS 46)
- une fraction (3 %) non dégradable

Ainsi, 26 % des protéines sont-elles immédiatement disponibles pour la microflore ruminale.

Des techniques, comme l'extrusion, limitent les dégradations ruminales. Cette dernière consiste à soumettre aux aliments une pression (jusqu'à 200 bars) et une température (90 à 250°C), durant un temps très court, inférieur à 30 secondes (*Poncet, 2003*). La cuisson diminue la solubilité sans diminuer la disponibilité des protéines. La chaleur provoque la création de groupements carbonyle (C=O) de sucre qui se combinent avec les groupements

aminés libres des protéines au cours de la réaction de Maillard. Cette réaction est réversible grâce à l'action du pH faible de la caillette et du début des intestins (*Huber, 1981*).

Les rations 20U et 24 contiennent 210 g d'urée.

L'urée est une petite molécule facilement dégradable par les microorganismes ruminiaux. D'un point de vue législatif, l'Europe considère l'urée comme additif alimentaire depuis 2003.

Sa dégradabilité théorique est de 100% et quatre fois plus rapide que la capacité d'incorporation des bactéries (*Emmanuel, 1981*).

Cette vitesse de dégradation peut expliquer les concentrations ruminales en ammoniacque supérieures observées dans la ration 20U par rapport à la ration 20S.

2.1.2.2. *La vitesse d'ingestion*

Un pourcentage d'urée de 1 à 1.8% de la ration diminue significativement le niveau d'ingestion (*Clark, 1980*).

D'autres expérimentations montrent que sur 30 minutes, une vache n'ingère que 50% d'une ration avec 2.5% d'urée par rapport à une ration sans urée (*Kertz, 1979*).

Dans le cas d'une ration riche en matière azotée totale, la prise alimentaire est lente, par petites fractions successives (*Fenderson, 1976*).

L'urée est très peu appétente. Cependant, lorsque l'odeur de l'urée est masquée, la quantité ingérée reste quand même inférieure à la quantité ingérée d'une ration sans urée.

Ainsi, deux hypothèses s'affrontent :

- les vaches compensent la perte d'appétence de la ration à base d'urée, en augmentant leur ingestion de fourrage diminuant ainsi la place disponible pour cette ration (*Kertz, 1979*).
- la quantité de matière sèche ingérée est diminuée lorsque l'urée est introduite dans le rumen via une canule (*Kertz, 1979*). Cette observation va à l'encontre de l'hypothèse précédente. Un rétrocontrôle négatif pourrait diminuer la quantité ingérée. Chez le rat, des concentrations sanguines croissantes d'acides aminés diminuent la prise alimentaire (*Fenderson, 1976*).

La vitesse d'ingestion semble dépendre directement de la quantité ou du pourcentage d'urée. Le pourcentage d'urée atteint dans cet essai pour les rations 24 et 20U est de 1,35%. Leur vitesse d'ingestion est plus lente que pour les rations 16 et 20S : 60 minutes en moyenne contre 20 minutes.

2.2. Le pH

Chaque repas a été suivi d'une baisse significative du pH ruminal jusqu'au repas suivant. Les valeurs minimales restent toutefois dans les valeurs usuelles (5.8 - 6.9) et largement supérieures au seuil habituellement admis pour une acidose subclinique (pH < 5,5). De plus, les valeurs initiales semblent élevées.

Le niveau de MAT de la ration limite la baisse du pH ruminal mais sans effet significatif.

Lors d'un apport massif et brutal d'azote, la valeur minimale est atteinte 4 heures après, avec un pH de 5,96 (*Ferrieres, 2009*)

Le pH a un rôle sur la solubilité des protéines. Les protéines sont moins solubles à leur pH isoélectrique (pHi), c'est-à-dire lorsqu'elles ont un potentiel électrique neutre. En effet, l'absence de charge diminue les répulsions et compacte les protéines. La caséine, dont le pH isoélectrique est de 4,6 est totalement soluble à pH=7 mais précipite si l'on se rapproche de son pHi. Malheureusement, la mesure du pH isoélectrique de toutes les protéines n'est pas réalisable (*Loerch, 1983*).

Les conditions optimales de fermentations dans le rumen se situent entre 5,5 et 7 (*Bach, 2005*).

La variation du pH ruminale dépend principalement de 2 éléments :

- la production par les microorganismes ruminiaux d'acides gras volatils (AGV).
- le pouvoir tampon du milieu, résultant lui-même des concentrations en bicarbonate et ammoniacque principalement.

Les bicarbonates proviennent de la salive ; leur apport est directement lié au temps de rumination.

L'ammoniacque provient de la dégradation protéique.

L'équilibre entre la production des AGV et de l'ammoniaque par les microorganismes du rumen est fragile. Pour qu'il soit maintenu, la synchronisation des apports azotés et énergétiques est certainement importante (Enjalbert, 2004).

En effet, pour pouvoir dégrader la matière azotée puis synthétiser leurs protéines, les microorganismes ont besoin en parallèle de matière azotée dégradable ET de Matière Organique Fermentescible (MOF).

L'optimum est de 160 grammes de matière azotée dégradable pour 1 kilogramme de Matière Organique Fermentescible (Huber, 1981).

2.2.1. L'augmentation de la production d'AGV.

Dans cet essai, les concentrations moyennes des différents AGV augmentent significativement ($p < 0.05$) suite à la prise alimentaire, quel que soit le régime (Fig. 35). La fermentation de la matière organique conduit à la production d'acides gras volatils, de chaleur, de gaz et d'ATP.

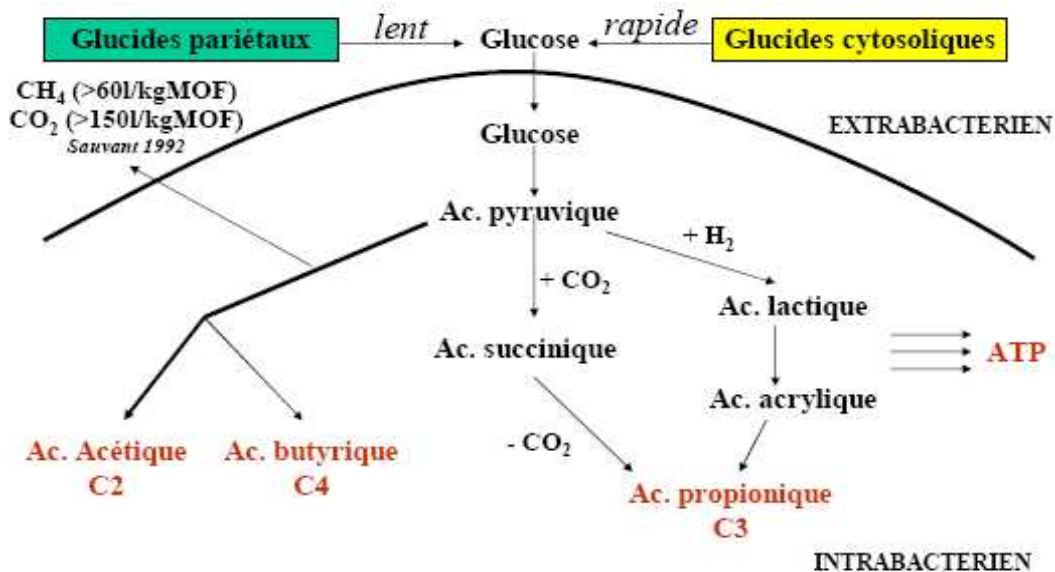


Figure 35 : Production des 3 principaux AGV (Enjalbert, 2004)

L'augmentation de l'acidité du milieu ruminal lors d'une acidose latente serait essentiellement liée à celle de la concentration ruminale totale en AGV (Martin, 2006). Or dans cet essai, chaque repas est suivi d'une augmentation significative des concentrations en acide acétique et propionique. Cette augmentation contribue donc à la diminution du pH ruminal.

Par la suite, les AGV sont majoritairement absorbés, de manière passive, au travers de la paroi ruminale ce qui permet une régulation du pH. (*Merchen, 1988*)

Pour une baisse de pH modérée, les protozoaires se développent et les fermentations s'orientent vers le butyrate. Pour des pH plus faibles, les protozoaires disparaissent au profit des bactéries amylolytiques, avec une orientation fermentaire vers le propionate. (*Martin, 2006*).

2.2.2.L'augmentation de la concentration en bicarbonate ou en ammoniacque

Dans cet essai, les concentrations moyennes en ammoniacque ruminal augmentent, avec un pic à H₂ pour tous les régimes (Fig. 4).

L'ammoniacque, dans les conditions normales, (0.5 à 5 mmol/L soit de 7 à 70 mg/l) ne joue pas un rôle très important dans la régulation du pH ruminal. Cependant, lors d'apports excessifs d'azote dégradable, l'ammoniacque devient un partenaire non négligeable de la régulation acido-basique du rumen (*Remond 1995*).

A H₂, les concentrations en ammoniacque ruminal pour les régimes 20U et 24 étaient respectivement de 517 et 482 mg/L. La diminution plus lente des pH ruminaux ces deux régimes peut s'expliquer par les concentrations plus importantes en ammoniacque du rumen.

Si une ration est trop riche en azote, c'est-à-dire au dessus des 160 grammes de MA dégradables, au bout d'un certain temps toute l'énergie sera consommée sans pour autant que l'ammoniacque produit soit utilisé en totalité. La synthèse microbienne est donc limitée par l'énergie.

3. Modifications biochimiques et acido-basiques sanguines

3.1. L'ammoniémie

L'ammoniémie décrit un pic parallèle à l'ammoniaque ruminal. Les valeurs maximales atteintes sont de 99 $\mu\text{mol/l}$ pour le régime à 24% et 95,7 $\mu\text{mol/l}$ pour le régime 20U.

Après 8 jours de pâturage, l'ammoniémie des vaches passe en moyenne de 33.2 $\mu\text{mol/l}$ à 88.6 $\mu\text{mol/l}$ (*Head, 1957*).

Lors d'apport massif et brutal de tourteau de soja à 1 % et 2% de poids vi , l' ammoniémie atteint respectivement 115 $\mu\text{mol/l}$ et environ 400 $\mu\text{mol/l}$ (*Ferrieres, 2009*). Pour des doses de 2% du poids vif, des signes cliniques étaient associés : plaintes, état d'anxiété, décubitus prolongé avec auto-auscultation, trémulations musculaires légères à modérées, dyspnée, augmentation de la fréquence respiratoire, arrêt de la motricité ruminale, ramollissement des bouses et augmentation de l'abreuvement.

Les valeurs maximales d'ammoniémie obtenues avec les régimes 20U et 24 restent proches de celles obtenues lors d'apport de 1% du poids vif en tourteau de soja 48.

Ces observations sont compatibles avec l'effet de l'ammoniaque ruminal sur l'ammoniémie. Plus le pH ruminal est élevé plus l'absorption est facilitée oniaque lui même (*Huntington, 1986*) (*Merchen, 1988*).

Dans notre essai, la diffusion d'ammoniaque est donc facilitée par les valeurs initiales élevées du pH ruminal à H_0 .

Ainsi, la concentration en ammoniaque ruminal diminue-t-elle rapidement après le pic alors que celle du sang augmente.

3.1.1. Toxicité aiguë de l'ammoniaque

Dans notre essai, aucun symptôme attribuable à une hyperammoniémie n'a été observé.

Dans le sang, les concentrations normales en ammoniacque se situent entre 23 et 35 $\mu\text{mol/l}$ (*Ferguson, 1989*). Quand les capacités de détoxification de l'ammoniacque par le foie sont dépassées, l'ammoniémie augmente. Le seuil de mortalité a été associé à des valeurs d'ammoniémie comprises entre 1100 et 2216 $\mu\text{mol/l}$. Les premiers symptômes apparaissaient autour de 440 $\mu\text{mol/l}$ (*Edjtehadi, 1978*).

Les premiers signes cliniques apparaissent très rapidement, entre 20 et 30 minutes, après l'ingestion d'une ration trop riche en azote.

Des mesures de concentration en ammoniacque sanguin entre l'artère carotide et la veine jugulaire suggèrent une absorption rapide d'ammoniacque par l'encéphale, tissu extrêmement sensible à l'ammoniacque (*Merchen, 1988*) et expliquent l'apparition de symptômes nerveux.

La mort survient en général en moins de 4 heures par un arrêt respiratoire. Une acidose terminale est parfois décrite lors d'intoxication à l'urée et semble être due à une hyperlactatémie terminale suite aux contractions musculaires intenses en fin d'évolution (*Buchs, 1976*).

Les lésions observées sont :

- un œdème du poumon dû à des facteurs neurogéniques et adrénérgiques augmentant la perméabilité des capillaires
- de nombreuses pétéchies sur les muqueuses stomacale et intestinale ainsi que sur l'ensemble de la carcasse
- un œdème et une ulcération de la muqueuse intestinale
- une hépatomégalie associée à un parenchyme mou et pâle
- une légère décoloration du sang.

Afin d'éviter la toxicité aiguë, les recommandations d'apport maximal en urée étaient de 30 g pour 100 kg PV, sans tenir compte de les aspects de simultanéité et d'apport énergétique

Dans notre essai, les apports ont été au maximum (régimes 24 et 20U) de 210g pour 750 kg PV soit 28 g/100 kg de poids vif.

3.1.2. Le cycle de l'urée.

Suite au pic d'ammoniaque dans le sang (centré sur H₂), les valeurs de l'ammoniémie pour les régimes 20U et 24 diminuent ensuite rapidement de moitié (dès H₄).

A l'inverse, de H₀ à H₄ l'ammoniémie des deux autres régimes diminuent.

Lors d'un précédent essai (*Ferrières 2009*), la concentration sanguine en ammoniaque a également diminué de manière rapide.

L'ammoniaque, composé très toxique, est détoxifié dans le foie en urée (Fig. 36).

Ce cycle de l'urée ou cycle de l'ornithine, prend aussi en charge l'ammoniaque issu de la dégradation des groupements azotés des acides aminés circulants, prélevés dans le flux sanguin. L'ammoniaque est donc la principale source azotée du cycle de l'urée. Enfin, l'aspartate représente aussi une source d'azote pour ce cycle. Cette molécule est issue de la transamination de l'oxaloacétate à partir du glutamate (*Merchen, 1988*).

Deux des cinq réactions ont lieu dans la mitochondrie, les trois autres se déroulent dans le cytosol des hépatocytes (*Visek, 1984*).

En présence d'acide propionique (C3), l'utilisation de l'ammoniaque diminue sensiblement. Ceci peut être expliqué par une action dépressive de l'acide propionique (C3) sur le glutamate. D'autre part, chez le mouton, des expériences montrent que le C3 inhiberait le cycle de l'urée en bloquant la synthèse de citrulline. Il agirait comme un compétiteur. Aucun changement n'apparaît avec les autres acides gras volatils (C2 ou C4) (*Orzechowski, 1988 ; Rattenbury, 1983*).

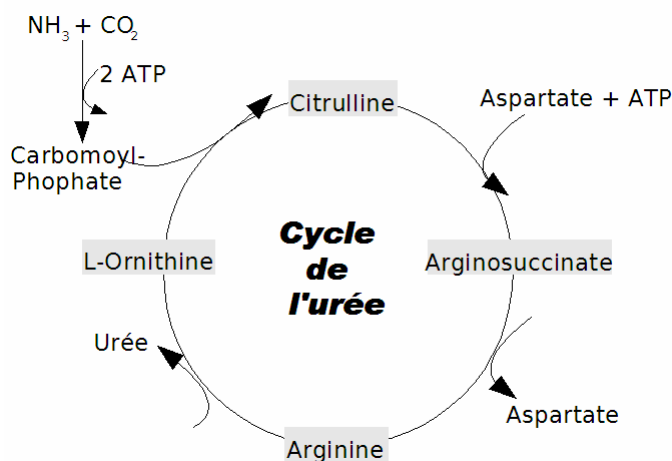


Figure 36 : Cycle de l'urée

3.1.3. Capacité de détoxification hépatique

Les risques d'intoxication ammoniacale varient selon les concentrations en ammoniacque dans le rumen (*Enjalbert, 2004*) :

- quand les concentrations ne dépassent pas les 500 mg/L, l'ammoniacque est correctement utilisée par les microorganismes ruminants. C'est le cas pour notre essai.
- entre 500 et 800 mg/L, il y a gaspillage. L'excédent est absorbé par la muqueuse ruminale et transformé en urée au niveau du foie.
- au dessus de 800 mg/L, les capacités du foie à détoxifier l'ammoniacque sont dépassées. On est dans la zone toxique. Cette zone sera d'autant plus dangereuse que le pH du rumen sera haut. En effet l'ammoniacque est mieux absorbée à des pH élevés. Plus le pH du rumen augmente plus le seuil de toxicité descend.

Des études ont montré que le foie des ovins peut détoxifier l'ammoniacque à un débit de 1.45 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$, sans signes cliniques. Chez les bovins, dans cette même étude, le taux de détoxification de l'ammoniacque serait de 2.6 $\text{mmol}/\text{min}/\text{kg}$ mais des signes cliniques d'intoxication ont été observés (*Orzechowski, 1987*).

Toutefois des mécanismes adaptatifs sont possibles. Des animaux habitués peuvent ingérer 400 g d'urée par jour alors que 50 g sur un animal non habitué peuvent le tuer. Les animaux sont capables de développer une tolérance qui peut rapidement disparaître si l'urée est ôtée de la ration seulement pendant 3 jours (*Radostits, 2007*).

3.2. Urémie

3.2.1. Evolution de l'urémie

Dans des conditions normales de détoxification, l'urée produite par le foie est relarguée dans le flux sanguin sus-hépatique. Chaque repas est donc suivi d'une augmentation de l'urémie pour les 4 régimes à H2.

La diminution de l'urémie au cours de la première heure pour les 4 régimes est due à la faible quantité initiale de glutamate. Cet acide aminé sert d'échangeur avec l'aspartate entre le compartiment mitochondrial et le compartiment cytoplasmique (*Orzechowski, 1988*).

La courbe décrit par la suite une phase de plateau pour les régimes 24 et 20U de H₂ à H₆ qui s'infléchit par la suite. Les concentrations des régimes 16 et 20S commencent à diminuer dès H₄.

De plus, la quasi-totalité des valeurs d'urémie des 2 régimes les moins azotés est comprise dans l'intervalle des valeurs usuelles (2,1 – 7,9 mmol/L). A l'inverse, les animaux recevant les deux rations les plus azotées sont en majorité au dessus des valeurs usuelles surtout aux heures 4 et 6 :

- Respectivement 7.9 et 7.1 mmol/L pour le régime 20U
- 8.1 et 7.6 pour le régime 24.

Plus l'ammoniémie est importante, plus les concentrations en urée sanguine sont élevées.

En outre, il existe aussi un système de relargage « retard » d'ammoniaque dans le rumen. Les protozoaires ont une activité bactériophage non négligeable. Ils phagocytent des bactéries ainsi que leur matériel protéique et libèrent de l'ammoniaque grâce à leur métabolisme. Trente pour cent de l'ammoniaque peut venir de cette activité bactériophage. Les protozoaires peuvent phagocyter jusqu'à 40% des bactéries ruminales (*Bach, 2005*).

3.2.2. *Elimination de l'urée*

Dans notre essai, à partir de H4, les concentrations sanguines en urée commencent à chuter quel que soit le régime.

Dans le flux sanguin, l'urée est :

- soit éliminée dans l'urine. Les pertes urinaires en urée varient grandement selon la saison : faibles en hiver et importantes pendant les périodes de pâturage (*Mulvaney, 2008*). L'augmentation des teneurs en azote de la ration se traduit par une augmentation significative de l'excrétion d'azote urinaire, mais n'affecte pas l'excrétion fécale (*Marigny, 2003*).

- soit excrétée dans le lait chez les femelles laitières. L'urée peut être alors utilisée comme marqueur biochimique des excès azotés. Les valeurs d'urée dans le lait sont comprises entre 0.25 et 0.32 g/L de lait.

- soit excrétée chez les ruminants dans le tube digestif, par la salive ou au travers de la paroi ruminale. Cette urée sera redégradée ensuite en ammoniacque et à nouveau disponible pour les microorganismes ruminiaux et leur synthèse de matière protéique. C'est le recyclage de l'urée. Le phénomène de recyclage de l'urée permet aux ruminants de limiter dans un premier temps le gaspillage de l'excès d'ammoniacque au niveau du rumen. C'est un moyen d'apport constant de sources azotées pour les microorganismes du rumen. Sur 100g d'urée sécrétée dans la salive seulement 30 g se retrouvent une deuxième fois dans le sang (*Huber, 1981*). Cette sécrétion salivaire d'urée est modulable (*Huntington, 1986*) :

- elle est diminuée par une prise alimentaire d'urée, des intervalles entre repas réduits, ou encore une importante concentration ruminale en ammoniacque.
- de plus, des concentrations ruminales importantes en Acides Gras Volatils, en dioxyde de carbone, et en Glucides Rapidement Dégradables et Fermentescibles (GRDF) augmentent la sécrétion de l'urée dans les intestins. Les pertes en urée endogène via les intestins peuvent représenter 23% de cette urée. Elle se retrouve dans le caecum où elle peut subir une digestion comparable à celle qui se déroule dans le rumen. Une injection en intra veineuse d'isotope d'urée montre que seulement 2% de cette urée se retrouve dans les fèces.

L'assimilation en ammoniacque et les sécrétions d'urée sont donc directement liées.

3.3. Glycémie

3.3.1. Evolution de la glycémie

Quel que soit le régime, les valeurs de glycémie sont toujours dans les valeurs usuelles (2.4 – 4.3 mmol/l).

Cependant, pour le régime à 24% de MAT, les valeurs augmentent dans les heures suivant la prise alimentaire. De plus, bien qu'il n'existe pas de différence significative entre les régimes, la glycémie moyenne est légèrement supérieure pour les deux régimes les plus azotés (Tab. 19).

Tableau 19 : Moyenne et écart-type de la glycémie en fonction du régime

Régime	16	20S	20U	24
Moyenne (mmol/l)	3,85	3,76	3,97	3,96
Ecart type	0,17	0,25	0,15	0,20

La perfusion d'une solution de chlorure d'ammonium afin d'obtenir une hyperammoniémie (inférieure aux doses toxiques) induit une augmentation de la glycémie (Clark, 1980).

3.3.2. Liens entre ammoniacque et glycémie

L'ammoniacque sanguin provoquerait une sécrétion de catécholamines et donc une augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, une augmentation de la glycémie, et un effet diurétique chez les ovins (la sécrétion d'urée dans l'urine peut être ainsi augmentée) (Awski, 1984).

La synthèse d'urée et la néoglucogenèse pourraient être en compétition pour les mêmes substrats dans le foie (aspartate – glutamate – cétoglutarate). L'hyperammoniémie ne conduirait à une sous-utilisation tissulaire du glucose (Emmanuel, 1981). Diverses hypothèses explicatives sont proposées, comme la diminution de synthèse d'insuline ou encore la formation de lésions sur les membranes cellulaires affectant le transport du glucose. De plus, il semblerait que l'ammoniacque sanguin ait un rôle direct sur le relargage du glucagon, hormone de la glycogénolyse (Emmanuel, 1982).

Chez les Mammifères le cycle de l'urée se déroule uniquement dans le foie. Cette voie est consommatrice d'ATP : l'organisme doit dépenser de l'énergie pour ce processus de détoxification.

Enfin, l'ammoniaque sanguin inhibe (Emmanuel, 1981):

- l'isocitrate déshydrogénase et réduit l'alpha cétooglutarate, 2 enzymes intervenant dans le cycle de Krebs et inhibant ainsi ce dernier
- la glutamate déshydrogénase qui désamine l'acide glutamique en acide α -cétooglutarique. Cette enzyme joue un rôle important dans le catabolisme des acides aminés utilisés pour le métabolisme énergétique.
- la décarboxylation du pyruvate empêchant ainsi la synthèse d'acétyl Co-A
- la phosphorylation oxydative encore appelée chaîne respiratoire.

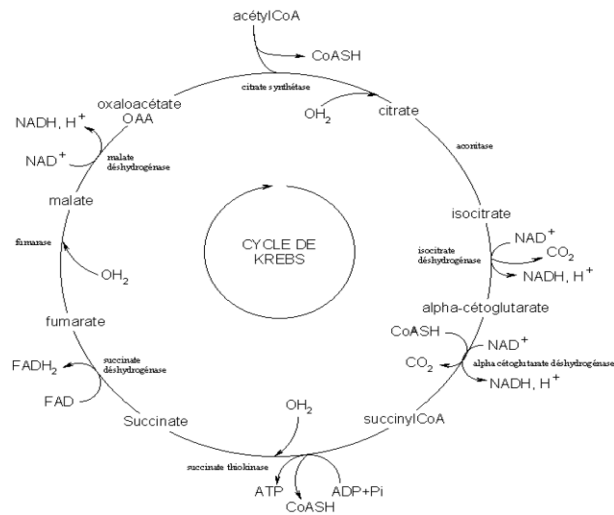


Figure 37 : cycle de Krebs

3.4. L'équilibre acido – basique

- Le pH sanguin augmente au cours de la journée mais les valeurs restent dans les intervalles usuels ($7,35 < \text{pH sanguin normal} < 7,45$).
- Le repas provoque une augmentation de la bicarbonatémie sans pour autant dépasser les valeurs usuelles supérieures (17 – 29 mmol/L).
- Quel que soit le régime, la pression partielle en CO_2 augmente avec le repas. La plupart des valeurs sont supérieures aux valeurs usuelles ($35 \text{ mmHg} < \text{pCO}_2 < 45 \text{ mmHg}$).

Une obstruction expérimentale des uretères de ruminant induit une alcalose métabolique progressive. Le pH sanguin augmente significativement. Cette alcalose peut provenir des fortes concentrations sanguines en ammoniacque ($\text{pKa} = 9,26$) qui capte les ions hydrogènes du sang (*Sharma, 1981*)

On a ainsi une augmentation de la consommation de protons qui proviennent pour la plupart du système tampon acide carbonique – bicarbonates.



L'équilibre se déplace donc vers la droite avec pour conséquence une augmentation des ions bicarbonates et par compensation, une augmentation de la pression partielle en CO_2 .

Ainsi :

- Le pH augmente
- La concentration en bicarbonate augmente
- La pCO_2 augmente

Au moment de la mort, les animaux présentent une acidose due au blocage du cycle de Krebs et le relais pris par le métabolisme anaérobie.

Lorsque le cycle de l'urée est perturbé on observe une forte augmentation de la concentration en ammoniacque et une nette diminution de celle en urée (*Morag, 2002*). Dans un premier temps, cette augmentation de concentration en ammoniacque est compensée par la synthèse de glutamine à partir de glutamate et d'ammoniacque (*Houpt, 1993*).



Ensuite, cette glutamine aide à la synthèse de pyrimidine, constituant des brins d'ADN et d'ARN. L'acide orotique est un intermédiaire normal de la biosynthèse des bases pyrimidiques. Cet acide orotique est excrété dans les urines et pourrait servir à la détection précoce des intoxications (Merchen, 1988 ; Motyl, 1988).

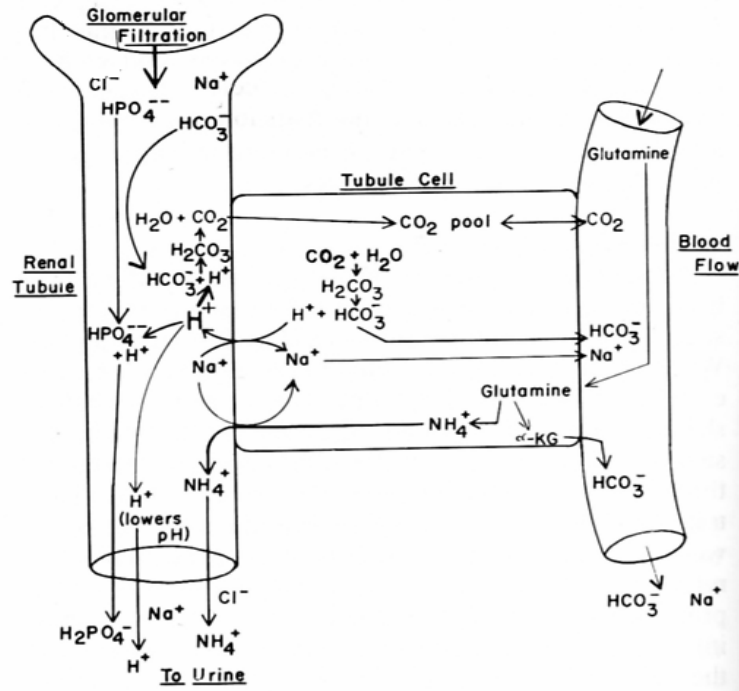


Figure 38 : Voie d'élimination rénale de la glutamine (d'après Houpt, 1993)

L'élimination rénale de la glutamine (Fig. 38) induit une réabsorption sanguine d'ions bicarbonates et augmente l'effet alcalinisant.

3.5. Evolution de la kaliémie

Par rapport au régime 16, le potassium diminue significativement pour le régime 20U et de manière non significative pour les régimes 20S et 24.

De plus, l'ammoniémie maximale et l'ammoniaque ruminal sont associées à un effet hypokaliémiant (respectivement $p=0,06$ et $p=0,07$; modèle 4, tab. 20)

La première hypothèse vient du pH sanguin qui influence beaucoup les échanges du K^+ entre les compartiments extra-cellulaire et intra-cellulaire. Lors d'une acidose, le K^+ sort des cellules en échange d'ions H^+ et l'inverse se produit lors d'alcalose (Roy, 2006).

Bien que le repas induise une élévation du pH sanguin, cet essai ne démontre pas d'effet ration sur le pH sanguin, ni un effet de ce dernier sur la kaliémie.

La deuxième vient de l'ammoniaque lui-même et de son élimination. L'ammoniogenèse rénale conduit à excrétion directe d'ions ammonium par les cellules tubulaires. Le NH_4^+ est ensuite réabsorbé par co-transporteur au niveau de l'anse de Henlé où il s'accumule dans la médulla interstitielle (Fig. 39 et 40).

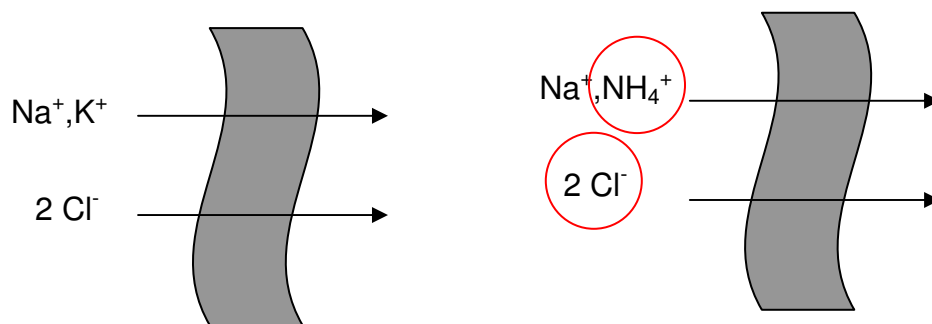


Figure 39 : Co-transport de l'ion ammoniacal (d'après Houpt, 1993)

Ce processus évite ainsi la réabsorption au niveau du segment cortical distal : l'ion ammonium passerait alors directement dans le sang et pourrait intoxiquer l'animal. Au lieu de cela, le NH_3 va diffuser jusque dans le fluide luminal où il captera un ion hydrogène pour redevenir un ion ammonium. Par trappage ionique, l'ion ammonium ne pourra plus diffuser dans le sang. La captation de l'ion hydrogène permet le maintien d'un gradient de concentration suffisant pour la bonne diffusion du NH_3 (Houpt, 1993).

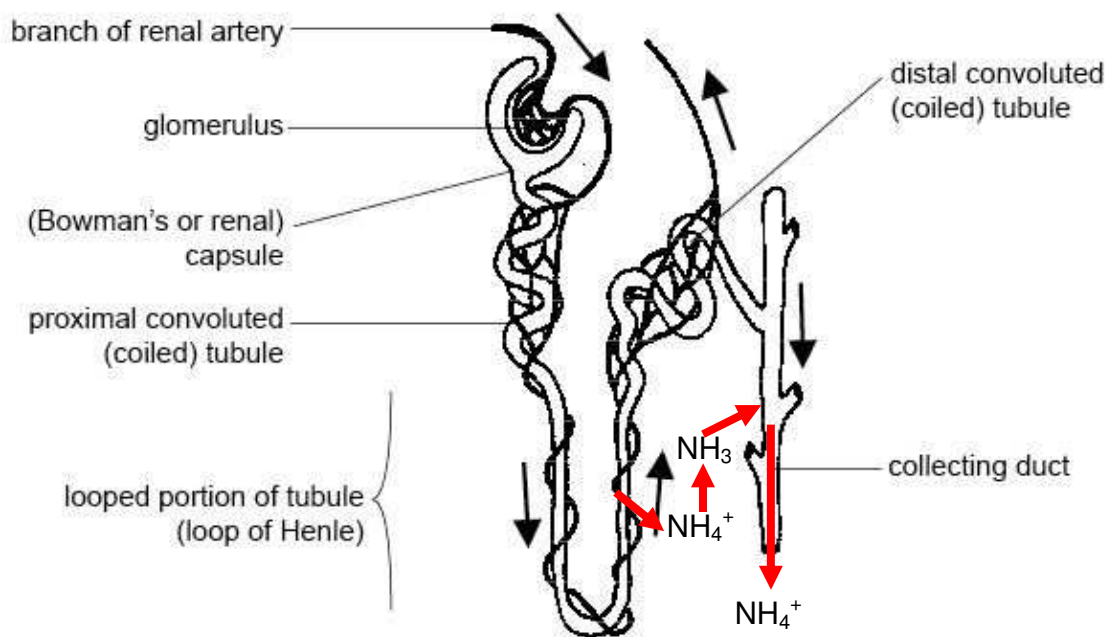


Figure 40 : Elimination rénale du NH_4^{\pm}

3.6. Le pH urinaire : réponse rénale à l'alcalose métabolique

En moyenne, dans notre essai, les animaux ingérant la ration à 24% de MAT ont des urines significativement plus acides que les trois autres régimes.

L'acidurie a été décrite lors d'intoxication aiguë au tourteau de soja (Ferrières, 2009)

Tableau 20 : moyennes pondérées des pH urinaires

	16	20S	20U	24	Moyennes
A	8,1575	8,21667	8,1265	8,0535	8,13
B	8,06	5,6195	7,90111	7,88111	7,36
C	8,32556	8,069	8,1955	8,205	8,19
D	8,21143	8,10071	8,26813	8,05714	8,15
Moyennes	8,18 ^a	7,50 ^a	8,12 ^{ac}	8,04 ^b	

Dans un premier temps les reins répondent au surplus d'ions bicarbonates par une augmentation de leur sécrétion dans l'urine. Celles-ci deviennent donc alcalines. Au début de l'essai des prélèvements ont été réalisés les trois premiers jours. En moyenne les pH sont plus élevés que ceux du tableau 16 (Tab. 21).

Tableau 21 : Moyennes des pH urinaires des 3 premiers jour de l'essai

Régime	16	20S	20U	24
Moyenne	8,13	8,26	8,27	8,24

Cependant, une excrétion rénale de bicarbonates s'accompagne obligatoirement d'une perte équimolaire de sodium et de potassium pour maintenir l'électro neutralité pouvant ainsi conduire à une hypovolémie / hyponatrémie, (l'eau et le sodium sont couplés au niveau du rein) et une hypokaliémie sévère. De plus, l'hypovolémie entraîne une hypochlorémie. (Lunn, 1990 ; Brobst, 1978).

Il est donc nécessaire que le rein réabsorbe l'ion Na^+ , ce qui entraîne une sécrétion d'ions hydrogènes et dans un deuxième temps une réabsorption d'ions bicarbonates. Les urines deviennent acides : on parle « d'acidurie paradoxale », et le phénomène d'alcalose s'entretient : le rein priorise la volémie aux dépens de l'équilibre acido – basique. (Lunn, 1990).

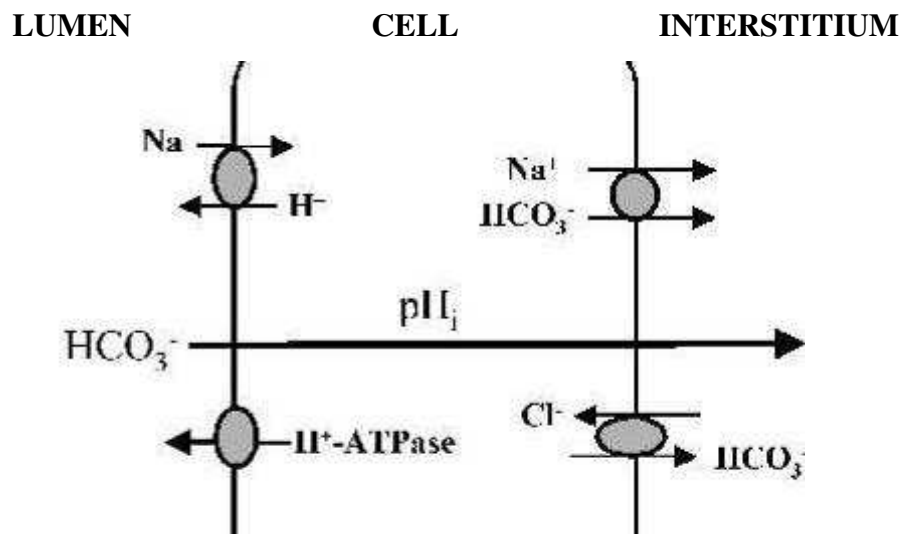


Figure 41 : Echanges rénaux entre les ions sodium, hydrogène et bicarbonate

4. Pertinence des niveaux d'azote testés

4.1. Niveaux d'azote atteints lors de la mise à l'herbe

*Tableau 22 : Contraintes calculées pour une race rustique à la mise à l'herbe sur 3 types de pâturages
(Logiciel La Relev, 2009)*

RACES RUSTIQUES pâturage - Objectif reprise d'état progressive				
Prairie permanente de plaine cycle 1				
	Valeur	Apport recommandé		
		Opt.	Mini	Maxi
MS totale (kg)	18.10			
UEB réajusté pâturage	15.60	15.60	15.60	15.60
UFL	18.30	9.61*	9.61*	10.60*
PDIE (g)	1920	1720	1720	
PDIN (g)	2580			2130
(PDIE - PDIN) / UFL (g)	- 36.60	0.00		17.00
MAT (% MS)	21.50			
Cellulose Brute (% MS)	21.50		18.00	
Demi-montagne cycle 1				
MS totale (kg)	17.50			
UEB réajusté pâturage	15.60	15.60	15.60	15.60
UFL	18.20	9.61*	9.61*	10.60*
PDIE (g)	1880	1710	1710	
PDIN (g)	2430			2110
(PDIE - PDIN) / UFL (g)	- 29.80	0.00		17.00
MAT (% MS)	21.00			
Cellulose Brute (% MS)	18.00		18.00	
montagne cycle 1				
MS totale (kg)	13.70			
UEB réajusté pâturage	15.60	15.60	15.60	15.60
UFL	10.50	9.61*	9.61*	10.60*
PDIE (g)	1140	990	990	
PDIN (g)	1070			1370
(PDIE - PDIN) / UFL (g)	6.49	0.00		17.00
MAT (% MS)	11.80			
Cellulose Brute (% MS)	30.70		18.00	

Le tableau 22 résume les contraintes calculées pour une race rustique à la mise à l'herbe sur 3 types de pâturages. Les pâturages de plaine et de demi-montagne représentent des rations hyper azotées (excès en PDIN) et très énergétiques (excès en UF) pour ces races là.

Tableau 23 : Contraintes calculées pour une ration complète en faisant varier l'apport en ensilage de maïs

VACHES LACT. ration complète par vache - Lot hétérogène / bonne expr. potentiel							
Prairie perm. demi-montagne		2.86			Prairie perm. demi-montagne		6.02
Ens. maïs conditions normales		40.00			Ens. maïs conditions normales		30.00
Orge (kg)		3.00			Orge (kg)		3.00
Tourteau de soja 48 (kg)		2.50			Tourteau de soja 48 (kg)		2.50
Foin prairie perm.		2.00			Foin prairie perm.		2.00
A.M.V. 2/28/4 (kg)		0.328			A.M.V. 2/28/4 (kg)		0.328
				Opti	Mini	Maxi	
MS totale (kg)	21.40				MS totale (kg)	21.50	
UEL	18.60	18.60	18.60	18.60	UEL	18.60	18.60 18.60 18.60
UFL	20.60	20.50*	20.50*	22.50*	UFL	21.20	20.50* 20.50* 22.60*
UFL (/ kg MS)	0.966				UFL (/ kg MS)	0.986	
PDIE (g)	2080	1920*	1920*		PDIE (g)	2230	1920* 1920*
PDIN (g)	2080				PDIN (g)	2390	2390
(PDIE - PDIN) / UFL (g)	0.007	0.00	2.00		(PDIE - PDIN) / UFL (g)	-7.87	0.00 2.14
Matières azotées totales (% MS)	14.40				Matières azotées totales (% MS)	16.40	
Prairie perm. demi-montagne		7.60					
Ens. maïs conditions normales		25.00					
Orge (kg)		3.00					
Tourteau de soja 48 (kg)		2.50					
Foin prairie perm.		2.00					
A.M.V. 2/28/4 (kg)		0.328					
		Valeur	Apport	Recommandé			
			Opti	Mini	Maxi		
MS totale (kg)	21.60						
UEL	18.60	18.60	18.60	18.60			
UFL	21.50	20.50*	20.50*	22.60*			
UFL (/ kg MS)	0.996						
PDIE (g)	2300	1920*	1920*				
PDIN (g)	2550				2440		
(PDIE - PDIN) / UFL (g)	-11.60	0.00	3.46				
Matières azotées totales (% MS)	17.40						

Si on calcule une ration complète pour des vaches laitières en production en ne faisant varier que les quantités d'ensilage de maïs (Tableau 23), la mise à l'herbe représente un excès azoté lorsque les quantités quotidiennes d'ensilage de maïs passent au dessous des 30 kg de matière brute.

L'herbe jeune est une source importante d'azote **dégradable** : en moyenne la dégradabilité théorique de l'azote sur les fourrages verts est aux environs de 80% (Tab. 24) (Le Goffe, 1993). Les protéines végétales ingérées sont très solubles et donc rapidement dégradées en ammoniacque dans le rumen (Wallace, 1991).

Tableau 24 : Dégradabilité théorique moyenne de l'azote (DTN) en pourcentage sur 72 fourrages verts dans le rumen (d'après Le Goffe, 1993)

	DTN
Moyenne	81,7
écart type	5,3
Mini	65,5
maxi	89,8

Les microorganismes ruminiaux ne sont pas capables de réutiliser tout l'ammoniacque produit. Il y a alors diffusion de l'ammoniacque dans le rumen puis dans un second temps dans le sang périphérique. Les concentrations ruminales en ammoniacque sont alors bien supérieures comparées à une ration classique (Fig. 42).

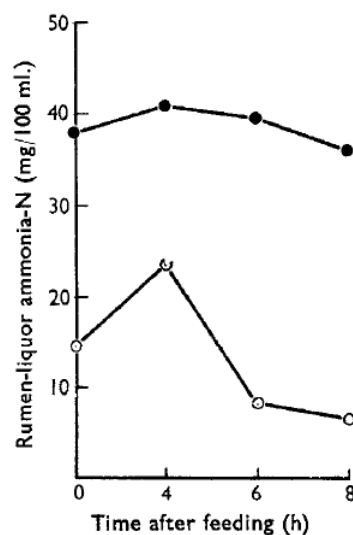


Figure 42 : différences de concentrations ruminales en ammoniacque entre 2 régimes (Head, 1957)

- — ● Pâturage (moyenne = 413 mg/l sur 8 heures)
- — ○ Foin avec concentrés (moyenne = 132 mg/l)

Les repas sont beaucoup plus fréquents et plus petits au pâturage, lorsque l'herbe est accessible à volonté. La dégradation protéique ruminale est donc plus étalée dans le temps ce qui peut expliquer l'absence d'un réel pic par rapport à une ration avec concentrés distribués à heure fixe (*Head, 1957*).

Dans notre essai, la ration à 24% de MAT atteint des concentrations moyennes en ammoniacale au niveau du rumen comparables à celles atteintes lors de la mise à l'herbe.

4.2. Excès azotés et quantité de matière sèche ingérée (MSI)

Dans cet essai, la MSI est de 14 kg. Cependant, les capacités du foie pourraient être d'autant plus vite dépassées que la quantité de MSI augmente, avec l'augmentation des apports de NH₃ au foie.

La MSI lors de pâture serait limitée par des contraintes de temps de pâture et d'efficacité de préhension. En effet, si l'on se base sur une durée moyenne de 510 minutes (8h30) de pâture par jour et 55 coups de mâchoire par minute ingérant chacune 0.68 g de matière sèche, 19 kg de matière sèche sont ingérés par jour (*Kolver, 2003*).

En apportant des concentrés à base d'azote non dégradable, la production laitière et le taux protéique augmentent, alors que la concentration en ammoniacale diminue significativement dans le rumen. Le pH ruminal reste constant (*Schor, 2001*). La complémentation azotée est plus efficace que la complémentation énergétique (*Le Goffe, 1993*).

De plus, en augmentant de 10 jours le délai entre la fin d'une pâture et sa remise en service, c'est-à-dire en favorisant l'épiaison, la quantité de matière sèche ingérée et les concentrations en acides gras volatils, n'évoluent pas, au contraire des concentrations en ammoniacale ruminal qui diminuent significativement (*Owens, 2007*)

CONCLUSION

Des corrélations positives entre les apports azotés et la production laitière ont été à de nombreuses reprises démontrées. Ces résultats conduisent à des apports importants d'azote dans la ration. Or les effets néfastes de ces alimentations hyper azotées sont encore mal documentés.

Dans notre étude expérimentale de régime hyper azoté, distribué de manière prolongée, les principales modifications biochimiques observées ont été :

- des concentrations moyennes en ammoniacque ruminal significativement plus importantes et comparables à celles observées lors de mise à l'herbe de printemps
- des pics de concentrations en ammoniacque ruminal importants après chaque repas
- des ammoniémies et urémies plus importantes (et significativement supérieures pour la ration à 20% de MAT à base d'urée).

Cette étude montre que l'organisme des ruminants est capable sur le plan biochimique de s'adapter à de forts taux d'azote dans la ration. Même si les valeurs de différents paramètres du métabolisme azoté, comme l'urémie par exemple, atteignent des valeurs élevées et parfois même les dépassent, aucune conséquence clinique n' a été observée sur le court terme.

D'autres modifications biologiques (hypokaliémie, hyperglycémie), sans relation directe avec le métabolisme azoté, semblent exister. Après une phase de confirmation à plus grande échelle, ces troubles mériteraient d'être évalués sur le plan des mécanismes explicatifs et des conséquences potentielles sur le long terme.

Par ailleurs les conséquences subcliniques et/ou de long terme, comme par exemple sur la réactivité du système immunitaire, devraient être explorées.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Mr Jean-Marie FERRATON
a été admis(e) sur concours en : 2004
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 10 Juillet 2008
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, François SCHELCHER, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
Mr Jean-Marie FERRATON

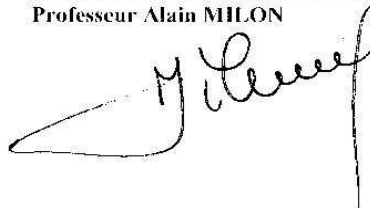
intitulée :

« Excès chronique d'azote chez les bovins biochimie sanguine et ruminale chez quatre bœufs »

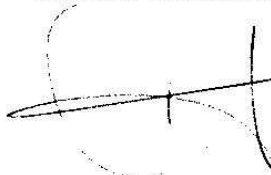
Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur François SCHELCHER



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



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Henri DABERNAT



Vu le : 10 DEC. 2008
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER



BIBLIOGRAPHIE

ALVES de OLIVEIRA (L.) : ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON (Page consulté le 25 juin 2008). Site de la chair de bromatologie de l'ENVL. Adresse URL : www2.vet-lyon.fr/ens/nut/webBromato/cours/cmtourte/introtou.html

APPER-BOSSARD (E); PEYRAUD (J. L) ; MESCHY (F); FAVERDIN (P) : Effets du Bilan Alimentaire en Cations et en Anions sur les performances zootechniques des vaches laitières selon les teneurs en énergie rapidement dégradable et en protéines des rations. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, 2004, ISSN 1279-6530

AWSKI (Z), BAREJ (W), WIECHETEK (M): The participation of adrenal medullary hormones in the metabolic effects of hyperammonaemia. *Zbl. Vet. Med. A*, 1984, **31**: 481-488

BACH (A.), CALSAMIGLIA (S.) AND STERN (M. D.): Nitrogen Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.* 2005, **88**:E9-E21

BARGO (F.), MULLER (L.D.), KOLVER (E.S.), DELAHOY (J.E.): Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. 1: *J Dairy Sci.*, 2003 Jan; 86(1):1-42

BARGO (F), VARGA (GA), MULLER (LD), KOLVER (ES): Pasture intake and substitution rate effects on nutrient digestion and nitrogen metabolism during continuous culture fermentation. *J Dairy Sci.*, 2003 Apr; 86 (4): 1330-40

BARTLEY (E.E.), DAVIDOVICH (A.D.), BARR (G.W.): Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. *J.Anim.Sci.*, 1976, **43**: 835-841.

BOIVIN (R.), BOST (J.) : Apport digestif d'urée chez la brebis soumise à un régime riche en protéines : effet sur la sécrétion urinaire. *Ann. Rech. Vet.*, 1986, **17** (1): p. 51 – 56

BRAUN (U.), RIHS (T.), SCHEFER (U.): Ruminal lactic acidosis in sheep and goats. *Veterinary Record*, 1992, **130**: 343-349.

BROBST (DF), PARISH (SM), TORBECK (RL), FROST (OL), BRACKEN (FK): Azotemia in cattle. *J Am. Vet Med Assoc*, 1978, **173**(5): 481-485

BRUGERE-PICOUX (J.): Biochimie du rumen. Aspects pathologiques. *Bulletin des GTV*, 1983, **3**: 27-50.

BUCH (XX), OSWEILER (XX.), VAN GELDEN (XX.): Urea and non protein nitrogen. *Clinical and diagnostics*. 2e edition, 1976, 77-82.

CARLSON (G.P.): Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: Kaneko (J.J.), Harvey (J.W.), Bruss (M.L.) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5^e edition. Academic Press, San Diego, USA, 1997, 485-516.

CAMPBELL (N.A.) : Biologie 3^{ème} éd., St-Laurent : Ed. du Renouveau Pédagogique, 1995. 1190 p.

CHALUPA (W.): Discussion of protein symposium. *J.Dairy Sci.*, 1984, **67**: 1134 – 1146.

CLARK (JH), DAVIS (CL): Some aspects of feeding high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1980, **63**: 873-885

COULON (J-B.), AGABRIEL (G.), BLANC (F.) : Alimentation des bovins, ovins et caprins. Tables INRA 2007. Quae Editions, Paris, 2007, 307 p.

DAVIDOVICH (A.), BARTLEY (E.E.), CHAPMAN (T.E.): Ammonia toxicity in cattle. II. Changes in carotid and jugular blood components associated with toxicity. *J.Anim.Sci.*, 1977, **44**: 702-709.

DAWUDA (P. M.), SCARAMUZZI (R. J.), DREW (S. B.), BIGGADIKE (H. J.), LAVEN (R. A.), ALLISON (R.), COLLINS (C. F.), WATHES (D. C.) : The effect of a diet containing excess quickly degradable nitrogen (QDN) on reproductive and metabolic hormonal profiles of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2004, 81 (3-4): 195-208

DIRKSEN (G.), SMITH (M.C.): Acquisition and analysis of bovine rumen fluid. *The bovine practitioner*, nov. 1987, **22** : 108-116.

DOULOU (V.), BUENO (L.) : Physiopathologie de l'intoxication par excès d'urée dans l'alimentation chez les ruminants. Essais de prévention par l'acide orotique. *Les dossiers de l'élevage*, 1979, **3** : 45 : 51.

DROGOUL (C.), GADOUD (R.), JOSEPH (M.M.) : Les aliments. In : *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage*. 2nd édition, Educagri Editions, Dijon (France), 2004, 26-49.

DUFFIELD (T.), PLAISIER (J.C.), FAIRFIELD (A.) *et al.*: Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 2004, 87: 59-66.

EDJTEHADI (M.), SZABUNIEWICZ (M.), EMMANUEL (B.): Acute urea toxicosis in sheep. *Can.J.comp.med.*, 1978, **42**: 63-68.

EMMANUEL (B.), EDJTEHADI (M.): Glucose biokinetics in normal and urea-treated sheep. *Comp.Biochem.Physiol.*, 1981, **68B**: 550-560.

EMMANUEL (B.), THOMPSON (J.R.), CHRISTOPHERSON (R.J.), MILLIGAN (L.P.): Interrelationships between urea, ammonia, glucose, insulin and adrenaline during ammonia-urea toxicosis in sheep. *Comp.Biochem.Physiol.*, 1982, **72A**: 697-702.

ENJALBERT (F.) : Physiopathologie des relations alimentation – reproduction et conséquences sur la gestion de l'alimentation en peri partum.

In : Journées nationales des GTV : La reproduction, porte d'entrée du conseil en élevage, Nantes, France, du 28 au 30 mai 2008 : p. 195 – 199

FENDERSON (CL), BERGEN (WG): Effect of excess dietary protein on feed intake and nitrogen metabolism in steers. *J Anim Sci.*, 1976 May, **42**(5): 1323-30

FERNANDEZ (J.M.), CROOM (W.J.), JOHNSON (A.D.): Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on blood metabolite and regulatory hormone concentrations. *J.Anim.Sci.*, 1988, **66**: 3259-3266.

FERRIERES (A.) : Effets ruminiaux et sanguins d'un apport massif de tourteau de soja non tanné à des bovins, *Th Med. Vet. : Bovine*, Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, (2009)

GRAF (C.), KREUZER (M.), DOHME (F.): Effect of grazing systems on chewing activity, ruminal pH fluctuations and pH of milk, blood and urine of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2003, **86** sup 1: 57-58.

HALIBURTON (J.C.), MORGAN (S.E.): Non protein-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. *Vet. Clinics of North Am.: Food animal practice*, 1989, **5**: 237-249.

HAMMON (D.S.), HOLYOAK (G.R.), DHIMAN (T.R.): Association between blood plasma urea nitrogen levels and reproductive fluid urea nitrogen and ammonia concentrations in early lactation dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2005, **86** (3-4) :195-204

HAMMON (D. S.), WANG (S.), HOLYOAK (G. R.): Effects of ammonia during different stages of culture on development of in vitro produced bovine embryos. *Animal Reproduction Science*, 2000, **59** (1-2), 28 : 23-30

HEAD (M.J.) , ROOK (A.): Some effects of spring grass on rumen digestion and the metabolism of the dairy cow. SYMPOSIUM proceedings, 1957. Vol. 16, p: 25 -31

HOUP (T.R.): Acid-base balance. *In*: Swenson (M.J) ET Reece (W.O.): *Duke's physiology of domestic animals*. 11^{ème} edition. Cornell University press, Ithaca (USA), 1993, 604-615

HOUSE et al.: Ancillary tests for assesment of the ruminant digestive system. *The bovine practionner*, 1981, **16**: 44-53.

HU (W), MURPHY (MR), CONSTABLE (PD), BLOCK (E.): Dietary cation-anion difference and dietary protein effects on performance and acid-base status of dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci.*, 2007 Jul; 90 (7):3355-66

HUBER (J.T.), LIMIN KUNG (J.R.): Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. *J.Dairy.Sci*, 1981, **64**: 1170 – 1195

HUNTINGTON (GB): Uptake and transport of nonprotein nitrogen by the ruminant gut. *Fed Proc.* 1986 Jul; 45(8): 272-6

JARRIGE (R.) : Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA, R. JARRIGE Ed. , Paris, 1988, 476 p. : p.467.

JOUANY (J-P), BROUDISCOU (L.), PRINS (R.A) : Métabolisme et nutrition de la population microbienne du rumen. In: Jouany (J.P.), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA Editions, Paris, 1995, 350-381.

JOURNET (M.), HUNTINGTON (G.), PEYRAUD (J.L.) : Le bilan des produits terminaux de la digestion. In : Jarrige (R.), Ruckebusch (Y.), Demarquilly (C.), Farce (M.H.), Journet (M.). *Nutrition des ruminants domestiques ingestion et digestion*. INRA Editions, Paris, 1995, 669-720.

KANIA (B.F.), MOTYL (T.), KULASEK (G.): Inhibitory action of intravenously administered ammonium acetate on the motility of the rumen in sheep. *The veterinary quaterly*, 1981, **3**: 105-110.

KERTZ (A.F.), KOEPKE (M.K.), HOPKINS (D.T.) *et al.*: Factors influencing intake of a high-urea containing rations by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1979, **49**, 1161-1167.

KOLVER (E. S.): Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2003, **62**: 291 – 300

LAVEN (R. A.), DAWUDA (P. M.), SCARAMUZZI (R. J.), WATHES (D. C.), BIGGADIKE (H. J.), PETERS (A. R.): The effect of feeding diets high in quickly degradable nitrogen on follicular development and embryo growth in lactating Holstein dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 2004, **84** (1-2) : 41-52

LE GOFFE (P.), VERITE (R.), FAVERDIN (P.) : Facteurs de variations et prédictions de la dégradabilité de l'azote des fourrages verts dans le rumen. *Ann Zootech*, 1993, **42**: 17-29

LOERCH (SC), BERGER (LL), GIANOLA (D), FAHEY (GC) : Effects of dietary protein source and energy level on in situ nitrogen disappearance of various protein sources *J Anim Sci*. 1983;56(1):206-216

LUNN (D.P.), MCGUIRK (S.M.): Renal regulation and acid-base balance in ruminants. *Vet.Clinics of North Am.: Food animals practice*, 1990, **6**: 1-13.

LUNN (D.P.), MCGUIRK (S.M.): Renal response to derangements of electrolyte and acid-base balance. *Vet.Clinics of North Am.: Food animals practice*, 1990, **6**: 13-15.

LUO (Y.), AL-OTHMAN (R.), CHRISTIAN (G.D), RUZICKA (J.): Flow/sequential injection determination of gaseous ammonia with a glass diffusion denuder. *Talanta*, 1995, **42**: 1545-1551.

MAHADEVAN (S), SAUER (F.), ERFLE (J.D.) Studies on Bovine Rumen Bacterial Urease *J. Anim Sci.*, 1976, **42** :745-753.

MANSON (F.J.), LEAVER (J.D.): The influence of dietary protein intake and of hoof trimming on lameness in dairy cattle. *Anim Prod*. 1988 **47**; 191-199.

MARINI (JC), VAN AMBURGH (ME): Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J Anim Sci*. 2003 Feb; 81 (2):545-52

MARTIN (C.), BROSSARD (L.), DOREAU (M.) : Mécanismes d'apparition de l'acidose ruminale latente et conséquences physiopathologiques et zootechniques. *INRA Prod. Anim.*, 2006, **19**: 93 - 108

MERCHEN (N.R.): Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: Church (D.C.): *The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs (USA), Prentice hall, 1988, 172–201.

MORAG (G.K.): The nitrogenous substances. In: *Veterinary laboratory medicine*. 2nd edition, Blackwell Science Ltd, 2002, 101-110

MOTYL (T), ORZECZOWSKI (A), KUKULSKA (W): Urinary orotic acid excretion in hyperammonaemic sheep. II. Renal clearance of orotic acid. *J. Vet. Med. A*, 1988, **35**: 232-235

MOTYL (T): Ammonia detoxication in sheep during constant or limited access to feed with varied quantity and quality of nitrogen compounds. *Zentralbl Veterinarmed A*. 1980 Jul; 27(5):349-57.

MULVANEY (MJ), CUMMINS (KA), WOOD (CW), WOOD (BH), TYLER (PJ) : Ammonia emissions from field-simulated cattle defecation and urination. *J Environ Qual*. 2008 Oct; 37(6):2022-7.

NAGARAJA (T.G.), TITGEMEYERT (E.C.): Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci*, 2007, **90E**: 17 – 38.

NAVETAT (H.), RIZET (C.), MARCILLAUD (S.), SCHELCHER (F.) : Perturbations acido-basiques et hydroélectrolytiques chez le veau atteint de troubles digestifs : évaluation et stratégies thérapeutiques. Journées européennes de la Société Française de Buiatrie, Paris – La Défense, 1999.

NOLAN (JV), LENG (RA): Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.*, 1972 Jan, **27**(1): 177-94

ORZECZOWSKI (A.), MOTYL (T.), PIERZYNOWSKI (G.), BAREJ (W.): Hepatic capacity for ammonia removal in sheep. *J.Vet.Med.*, 1987, **34**: 108-112.

ORZECZOWSKI (A.), MOTYL (T.), PIERZYNOWSKI (G.), BAREJ (W.): Net hepatic metabolism of ammonia, propionate and lactate in sheep in relation to gluconeogenesis and ureagenesis. *J.Anim.Physiol.a.Anim.nutr.* 1988, **59**: 113-122.

OWENS (F.N), BERGEN (W.G.): Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *J.Dairy Sci.*, 1983, **57**: 498 – 518.

PERDOCK (H.B.), LENG (R.A.): Hyperexcitability in cattle fed ammoniated roughages. *Anim. Feed Sci. Technology*, 1987, **17** : 121-143.

PEYRAUD (J.L.). *Production Lait Moderne*, N°371, Septembre 2006

PONCET(C.) ET AL.: Comment mieux valoriser les protéagineux et oléagineux en alimentation des ruminants. *Fourrages* (2003) **174**: 205-229

RADOSTITS (O.M.), GAY (C.C), HINCHCLIFF (K.W.), CONSTABLE (P.D.): Veterinary medicine. 10e edition, Saunders Elsevier, Philadelphie (USA), 2007, 2156 p.

RANDHAWA (S.S.), DHALIWAL (P.S.), GUPTA (P.P.): Studies on clinico-biochemical and pathological changes in the urea-induced acute rumen alkalosis in buffalo calves. *Acta Vet.Brno*, 1989, **58**: 225-243.

RATTENBURY (J.M.), KENWRIGHT (A.M.), WITHERS (C.J.), SHEPHERD (D.A.L.): Effect of propionic acid on urea synthesis by sheep liver. *Res.Vet.Sci.*, 1983, **35** : 61-63.

REMOND (B.), BRUGERE (H.), PONCET (C.), BAUMONT (R.) : Le contenu du réticulo-rumen. In: Jarrige (R.), Ruckebusch (Y.), Demarquilly (C.), Farce (M.H.), Journet (M.). *Nutrition des ruminants domestiques ingestion et digestion*. INRA Editions, Paris, 1995, 253-298.

REYNOLDS (CK), KRISTENSEN (NB): Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *J Anim Sci.* 2008 Apr; **86** (14 Suppl): 293-305

ROLLIN (F) : Tests de terrain pour la mise en évidence des pathologies subcliniques de la vache laitière: examens cliniques et analyses complémentaires. *Congresso de Ciências Veterinárias [Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002], SPCV, Oeiras, 10-12 Out., pp. 63-78*

SCHAEFER (DM), DAVIS (CL), BRYANT (MP): Ammonia saturation constants for predominant species of rumen bacteria, *J. Dairy Sci.*, 1980 Aug, **63**(8): 1248-63

SHARMA (S.N.), PRASAD (B.), KOHLI (R.N.): Acid-base status and blood gas alterations following experimental uremia in cattle. *Am.J.Vet.Res.*, 1981, **42**: 333-335.

SCHOR (A.), GAGLIOSTROT (G.A.) : Undegradable Protein Supplementation to Early – Lactation Dairy Cows in Grazing Conditions, *J Dairy Sci.*, 2001 july, **84** : 1597 - 1606

SYMONDS (H.W.), MATHER (D.L.), COLLIS (K.A.): The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolise ammonia. *Br.J.Nutr.*, 1981, **46**: 481-486.

UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE. (Page consultée le 12 septembre 2008). Site de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc. Adresse URL: www.iav.ac.ma/.../figure/fig2_pompeNaK.gif

WISEK (W.J.): Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones and reproduction. *J. Dairy Sci.*, 1984, **67**: 481-498.

VERITE (R), DURAND (M), JOUANY (JP) : Influence des facteurs alimentaires sur la protéosynthèse microbienne dans le rumen. *Reprod. Nutr. Develop.* 1986, **26**(1 B): 181-201

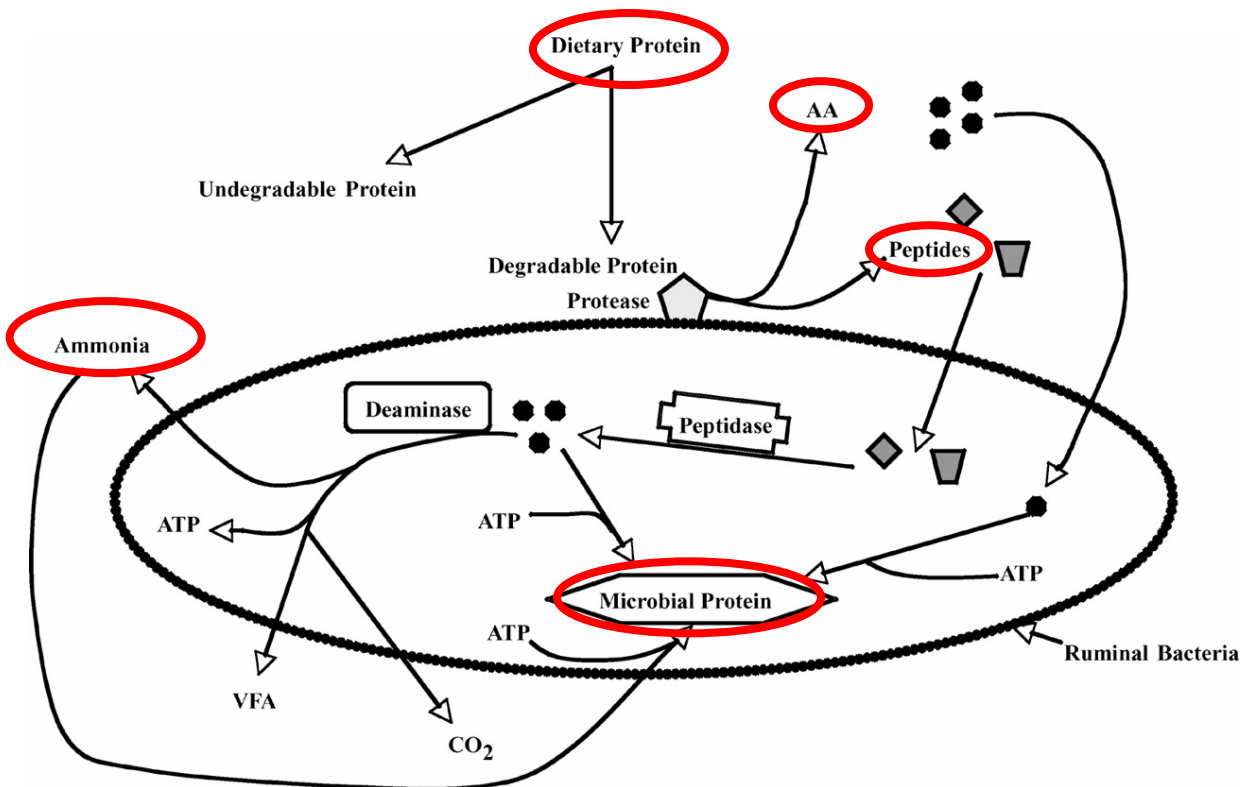
WALLACE (R.J.): Rumen proteolysis and its control. In: Jouany (J.P.), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA Editions, Paris, 1991, 131-150.

WHITEHAIR (C.K.): Urea (ammonia) toxicosis in cattle. *The bovine practitioner*, 1989, **24**: 67-73.

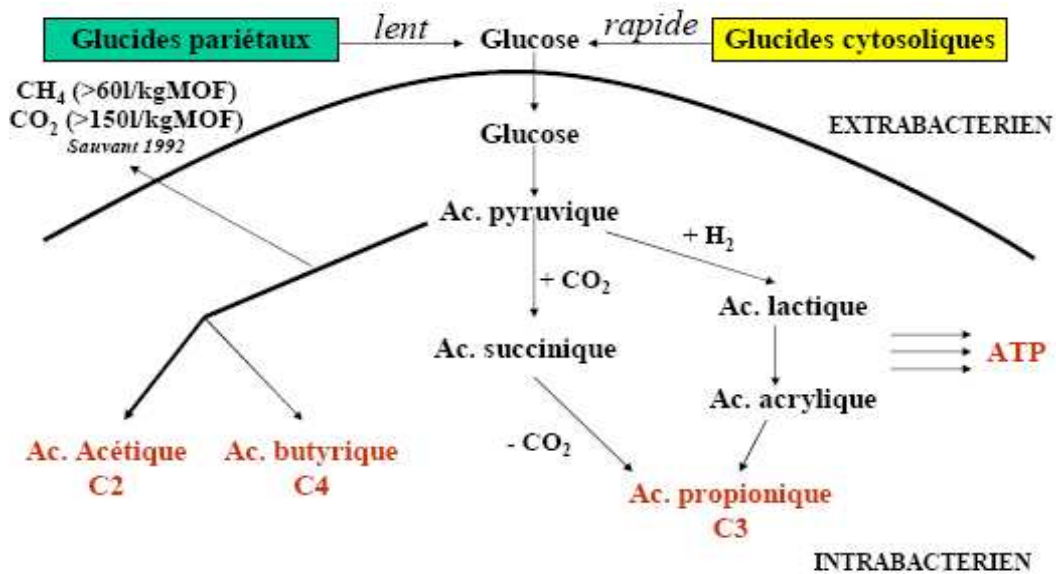
WILDMAN (CD), WEST (JW), BERNARD (JK): Effects of dietary cation-anion difference and potassium to sodium ratio on lactating dairy cows in hot weather. *J Dairy Sci.*, 2007 Feb; **90** (2): 970-7

WOLTER (R) : Alimentation azotée en début de lactation chez la vache laitière à haute production. Conséquences zootechniques et pathologiques. *Rec. Med. Vet.*, 1981, **157**(11) : 775-783

ANNEXE 1 : Schéma général du métabolisme azoté et énergétique au niveau du rumen



(D'après Bach, 2005)



(D'après Enjalbert, 2004)

ANNEXE 2 : Récapitulatif des besoins protéiques selon les principaux stades physiologiques (D'après les tables de l'INRA, 2002)

Stade physiologique			Besoin PDI (en g/jour)
Vaches laitières adultes de 600 kg	En lactation	15 kg de lait / jour 40 g de TB /kg de lait	1 115
		30 kg de lait / jour 40 g de TB /kg de lait	1 835
	Tarie	7e mois de gestation	470
		9e mois de gestation	600
Vaches allaitantes adultes de 650 kg race Salers, Aubrac bon état corporel (>3)	Vêlage d'hiver	fin de gestation	505
		début d'allaitement	840
	Vêlage de printemps	fin de gestation	460
		début d'allaitement	715
Taurillons à l'engrais race Salers, Aubrac	de 250 kg	gain de 1 kg par jour	465
	de 300 kg		505
	de 400kg		575
Bœuf Pie Noir	de 700 kg	gain de 800 g par jour	900

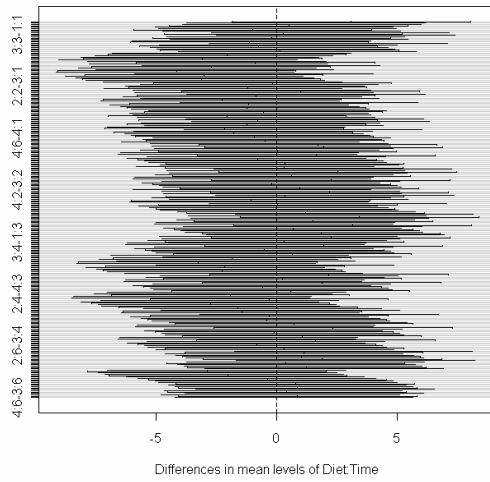
ANNEXE 3 : Valeurs azotées des principaux types d'aliments

(D'après les tables de l'INRA, 2002)

			Valeurs azotées (g/kg MS)		
			PDIA	PDIN	PDIE
Fourrages verts	Prairies permanentes	Auvergne (1er cycle - début épiaison)	33	94	89
	Graminées	RGA (1er cycle - début épiaison)	32	89	91
	Céréales	Maïs (pâteux)	18	52	77
	Légumineuses	Luzerne (végétatif - 60 cm de haut)	51	141	101
	Autres légumineuses	trèfle blanc (végétatif)	56	156	115
Fourrages ensilés	Prairies permanentes	Auvergne (1er cycle - début épiaison - brins courts - sans conservateur)	21	85	65
	Graminées	RGA (1er cycle - début épiaison - brins courts - sans conservateur)	21	82	66
	Céréales	Maïs (pâteux vitreux 30% de MS conditions de végétation normale)	18	52	66
	Légumineuses	Luzerne (début bourgeonnement brins courts - avec conservateur)	38	111	79
Fourrages secs	Prairies permanentes	Auvergne (1er cycle - début épiaison fané au sol par beau temps)	38	88	90
	Graminées	RGA (1er cycle - épiaison fané au sol par beau temps)	30	72	85
	Légumineuses	Luzerne (début bourgeonnement fané au sol par beau temps)	49	112	94
	Déshydratés et agglomérés	Luzerne (16% MAT)	50	101	87
	Pailles	Blé seul	11	22	44
Céréales		Blé	34	86	110
		Maïs	61	82	120
Graines		Soja	38	244	86
		Tourteau de soja 48	198	371	254

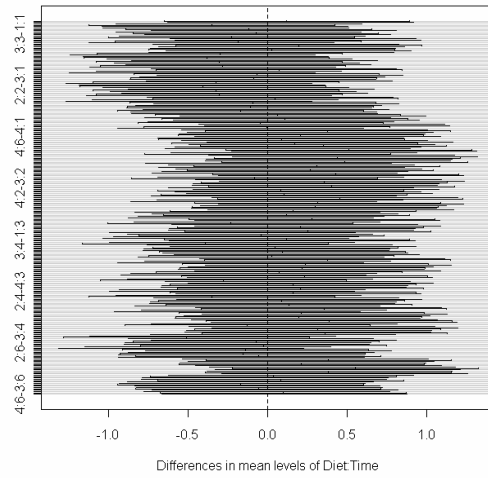
ANNEXE 4 : Effet temps x régime

95% family-wise confidence level



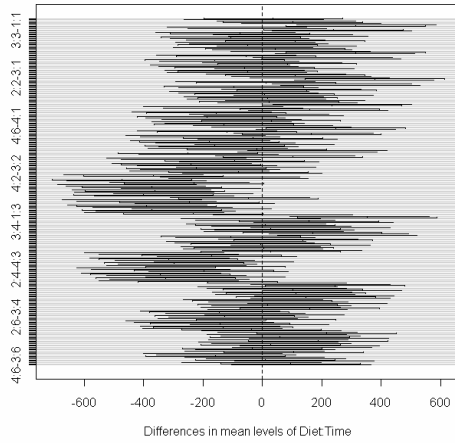
Acides Gras volatils

95% family-wise confidence level



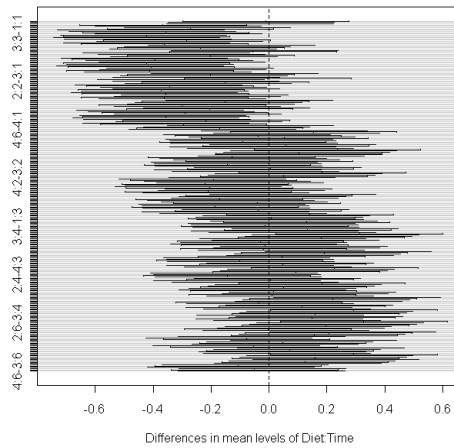
Glycémie

95% family-wise confidence level



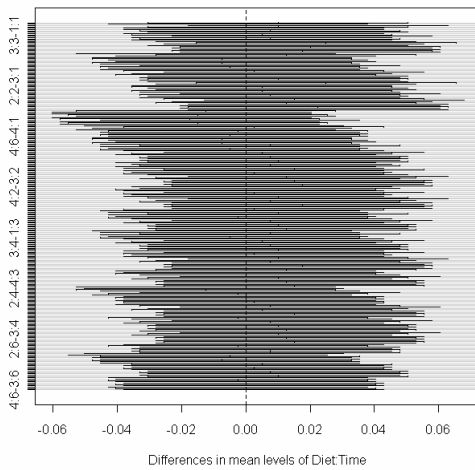
R- [Nh3]

95% family-wise confidence level



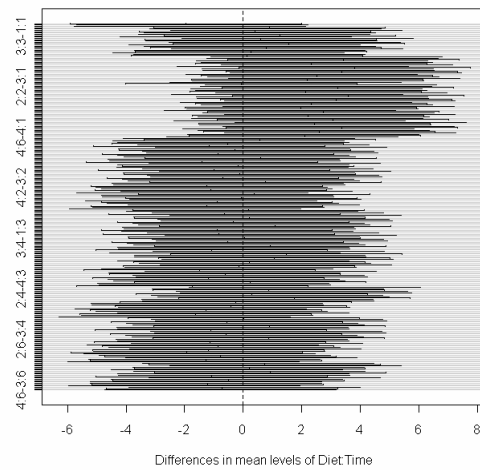
pH ruminal

95% family-wise confidence level



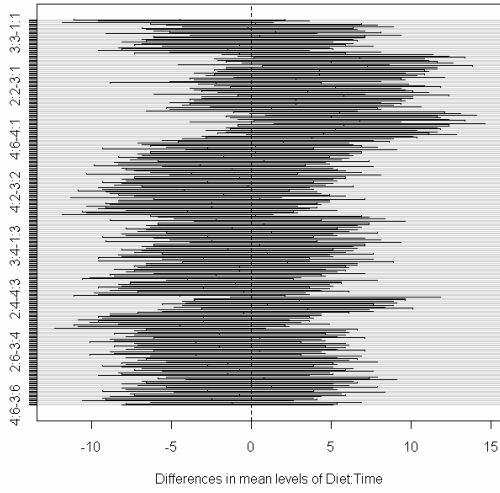
pH sang

95% family-wise confidence level



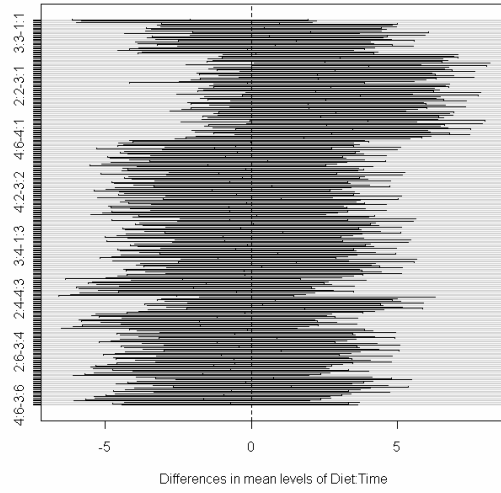
Bicarbonatémie

95% family-wise confidence level



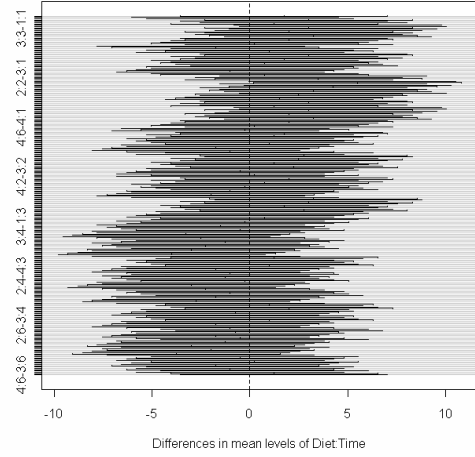
PCO₂

95% family-wise confidence level



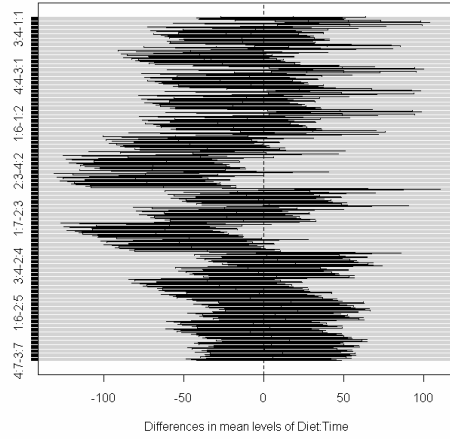
Ammonémie

95% family-wise confidence level



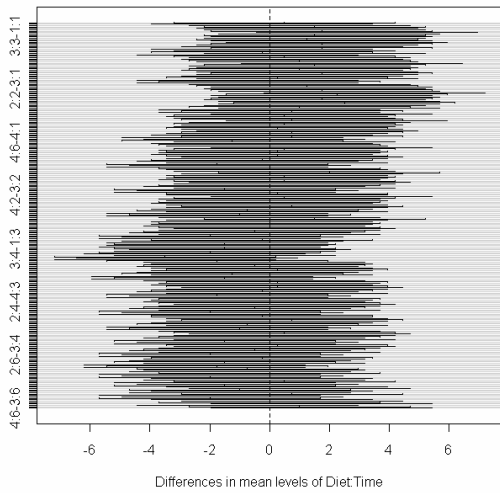
Natrémie

95% family-wise confidence level



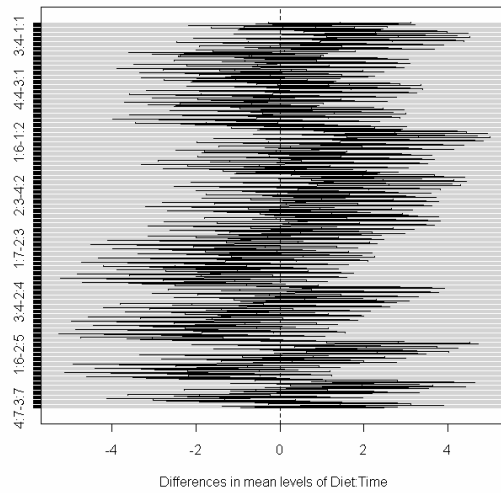
Kaliémie

95% family-wise confidence level



Chlorémie

95% family-wise confidence level



Urémie

ANNEXE 5 : Tableau permettant le suivi clinique des animaux

Date et heure prévue		111	111	111	111	111	111	111	112	112	112	112	112	112	112
		H8	H10	H12	H14	H16	H18	H20	H8	H10	H12	H14	H16	H18	H20
Date et heure réelle		9h45		14h25		17h30		20h45	10:00		13:30		19:00		21:30
Initiales Opérateur	(Nom, Prénom)	LDM		AM		AM		AM	AM		AM		JMF		AM
Température rectale	(° C)	37,6		38,1		38,3		38,3	37,8		37,9		38		38,3
Fréquence cardiaque	(bpm)	66		78		64		56	56		68		60		64
Fréquence respi.	(mpm)	24		16		12		12	16		16		20		20
État général	Normal (N), Altéré (A) Comateux (C)	N		N		N		N	N		N		N		N
Déshydratation	absente (0); <5% (+); [6%-8%] (++) ; >8% (+++)	0		0		0		0	0		0		0		0
Enophtalmie	Absente (A) / Présente (P)	A		A		A		A	A		A		A		A
Muqueuses oculaire	rosées (R) ; blanches (B) ictériques (I)	R		R		R		R	R		R		R		R
Jugulaires	normales (N) / déplétion (D) réplétion (R)	N		N		N		N	N		N		N		N
Bruits ruminiaux	nombre / 5 min / A	5		4		5		6	3		5		5		4
Bruit de flot droit	Présent (P) / Absent (A)	A		A		A		A	A		A		A		A
Bruit de flot gauche	Présent (P) / Absent (A)	A		A		A		A	A		A		A		A
Aspect des bouses	normal (N), Ramollies (Ra) diarrhée (Dia), sèches (S)	N		N		N		N	N		N		N		N
Odeur des bouses															
Couleur des bouses		Noir		Noir		Noir		Noir	Noir		Noir		Noir		Noir
Soif	N; Aug; Dim	N		N		N		N	N		N		N		N
Appétit	N; Aug; Dim	D		D		D		D	D		D		D		D
Divers															

ANNEXE 6 :

Effets du régime sur les moyennes journalières individuelles périodiques.

		S-[NH4+]	Urée	NH3Max	R-[NH3]
Effet ration		p<0,01	p<0,01	p<0,05	P<0.01
16 T / 20S testé	p		p<0,05		p<0,05
16 T / 20U testé	p	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01
16 T / 24 testé	p	p<0,01	p<0,01	p<0,05	P<0.01
20S T / 20U testé	p	p<0,05		p<0,05	P<0.01
20S T / 24 testé	p		p<0,05		P<0.01
20U T / 24 testé	p				p<0,05

Analyse de variance entre les paramètres biochimiques et les régimes

Effet des quantités d'urée et de soja sur les moyennes journalières individuelles périodiques et sur les valeurs maximales atteintes

		S-[NH4+]	Urée	NH3Max	R-[NH3]	K
Effet Soja			p<0,05		p<0,05	p<0,05
Effet Urée		p<0,01	p<0,01	p<0,01	P<0,01	p<0,05
Effet Urée x Soja						

Analyse de variance entre les paramètres biochimiques et le soja et l'urée

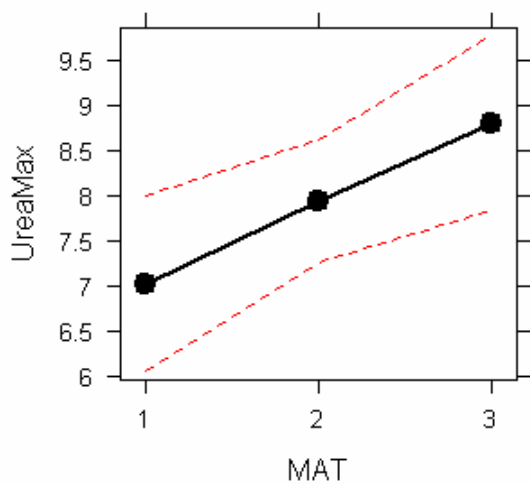
Effet de la MAT sur les moyennes journalières individuelles périodiques et sur les valeurs maximales atteintes

		S-[NH4+]	Urée	NH3Max	Urée Max	R-[NH3]	K
Effet MAT		p=0,053	p<0,01		p=0,052	p<0,01	p<0,05
16 Témoin / 20 testé	p	p<0,05	p<0,01			p<0,05	p<0,05
16 T / 24 testé	p	p<0,05	p<0,01		p<0,05	p<0,01	p<0,05
20 T / 24 testé	p					p<0,05	

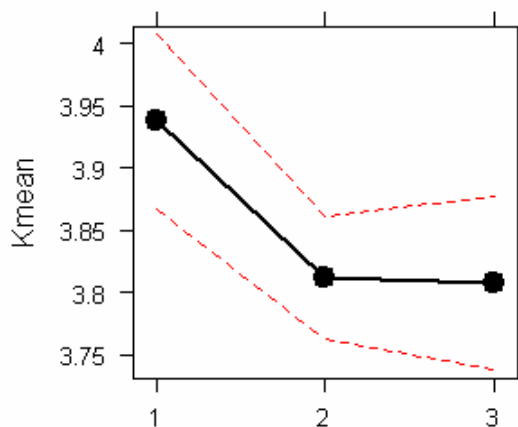
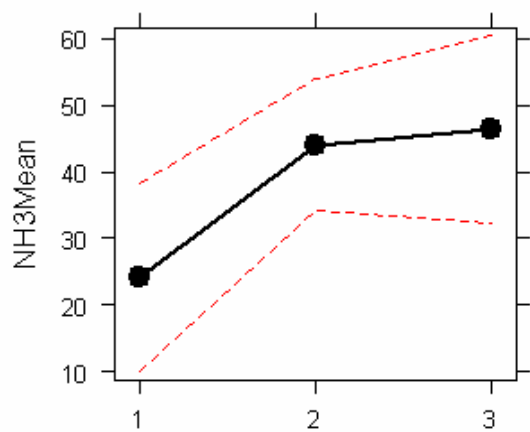
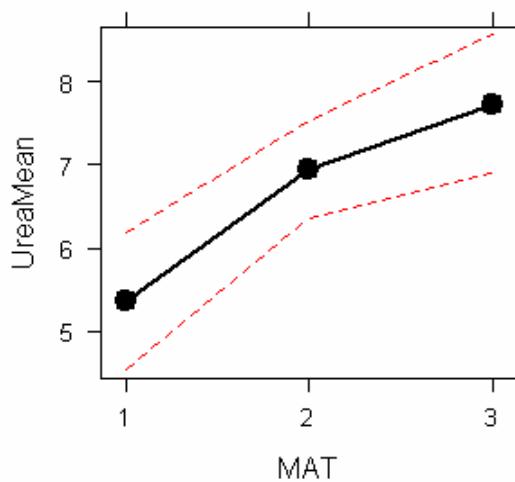
Analyse de variance entre les paramètres biochimiques et la MAT

Le pH ruminal, urinaire et sanguin, le trou anionique, la natrémie et la chlorémie, les paramètres hépatiques (ASAT, CK, GGT), la glycémie, la bicarbonatémie, les gaz du sang, les oligoéléments (Cu, Zn, Se, T4), Les corps cétoniques et les Acides gras non estérifiés, ont été testés et ne varient pas en fonction du régime, de l'urée, du soja ou de la MAT

MAT effect plot



MAT effect plot



Evolution des paramètres biochimiques en fonction de la MAT

1 : 20S ; 2 : 20U ; 3 : 24

Toulouse, 2009

NOM : FERRATON

Prénom : Jean-Marie

TITRE : Excès d'azote chronique chez les bovins : biochimie sanguine et ruminale chez quatre bœufs

RESUME :

Dans l'espèce bovine, les effets biologiques et cliniques des rations comportant un excès d'azote par rapport aux besoins restent mal connus. Cette thèse expérimentale a pour objectifs d'évaluer les modifications ruminales et sanguines, lors de régimes hyper azotés. Pour cela 4 bœufs de 2 ans canulés ont été soumis tour à tour selon le principe du cross over à quatre régimes différents : 16% de MAT, 20% à base d'urée, 20% à base de soja et 24%. Chaque régime a été distribué sur une période de 1 mois : 3 semaines d'adaptation et 1 semaine de prélèvements. Les paramètres de fermentations ruminales (pH, Acides Gras Volatils, ammoniacque) ainsi que les paramètres sanguins (ammoniacque, urée, glucose, ionogramme et équilibre acido-basique) ont été évalués.

Les perturbations ruminales majeures concernent une augmentation de production de l'ammoniacque selon la ration. Sur le plan biochimique sanguin, les concentrations en urée et NH₃ augmentent significativement, la kaliémie diminue significativement. D'autres paramètres évoluent mais sans atteindre la signification statistique.

MOTS-CLES : EXCES CHRONIQUE / AZOTE / BIOCHIMIE / SANG / RUMEN

ENGLISH TITLE: Chronic excess of nitrogen in the cattle: blood and ruminal biochemistry in four beefs.

ABSTRACT:

In cattle, the biological and clinical effects of the diets containing an excess of nitrogen are not clearly understood. This experimental thesis tries to estimate the modifications of ruminal and blood parameters during hyper nitrogenous diets. Four two-years-old beefs are alternately fed with to four different diets: 16 % MAT, 20 % based on urea, 20 % based on soya and 24 %. Each regime is distributed during 1 month: 3 weeks of adaptation and 1 week of sampling. The ruminal parameters (pH, volatil fat acid, ammonia) and the blood parameters (ammonia, urea, glucose, ionogram, acid-base balance) are measured.

The major ruminal disturbances concern an increase of ammonia production. Uremia and ammoniemia increase significantly, whereas kaliemia decreases significantly. Other parameters are modified but without reaching the statistical meaning.

KEYWORDS: CHRONIC EXCESS / NITROGEN / BIOCHEMISTRY / BLOOD / RUMEN