



HAL
open science

Évaluation péri-partum d'indicateurs du déficit énergétique comme marqueurs prédictifs de troubles de la reproduction chez la vache laitière

Léa Lenogue, Sarah Lescure

► To cite this version:

Léa Lenogue, Sarah Lescure. Évaluation péri-partum d'indicateurs du déficit énergétique comme marqueurs prédictifs de troubles de la reproduction chez la vache laitière. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03828185

HAL Id: dumas-03828185

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03828185v1>

Submitted on 13 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

EVALUATION PERIPARTUM D'INDICATEURS DU DEFICIT ENERGETIQUE COMME MARQUEURS PREDICTIFS DE TROUBLES DE LA REPRODUCTION CHEZ LA VACHE LAITIERE

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

**LENOGUE Léa, Marie
et**

LESCURE Sarah

Directrice de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :

M. Francis ENJALBERT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

**Mme Nicole HAGEN
M. Fabien CORBIERE**

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

MEMBRES INVITES :

M. Jocelyn DUBUC

Professeur à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Saint-Hyacinthe
(Québec)

Mme Chloé SAADA

Praticien Hospitalier à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1^{ère}
CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

**PROFESSEURS 2^{ème}
CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*

- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

M. MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*

Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Francis ENJALBERT

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Alimentation animale

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

Hommages respectueux.

A Madame la Professeure Nicole HAGEN-PICARD

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour votre encadrement, aide précieuse, et votre bienveillance, nous tenons à vous remercier chaleureusement et à vous exprimer notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Fabien CORBIERE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des Ruminants

UMR INRAE-ENVIT 1225 IHAP

UMT Pilotage de la Santé des Ruminants

Qui nous a fait l'honneur de prendre part au jury de cette thèse,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Laurent-Xavier NOUVEL

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour toute l'aide apportée, et les conseils précieux pendant la réalisation de ce travail,

Remerciements les plus sincères.

A Monsieur le Professeur Jocelyn DUBUC

Professeur à la Faculté de Médecine vétérinaire de Saint-Hyacinthe (Québec)

Département de sciences cliniques

Pour nous avoir accueillies en stage et nous avoir donné l'opportunité de travailler sur votre projet,

Sincère reconnaissance.

A Madame la Docteure Chloé SAADA

Assistante Hospitalière à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Médecine des populations

Pour toute l'aide et la disponibilité apportée pendant la réalisation de ce travail,

Remerciements les plus sincères.

Table des matières

Table des matières.....	6
Tables des figures.....	8
Table des tableaux.....	10
Liste des abréviations.....	11
Introduction.....	13
PARTIE 1 : Étude bibliographique : Le péri-partum et ses conséquences sur les pathologies post-partum.....	15
I. Physiologie du péri-partum.....	16
A. Evolution des besoins nutritionnels.....	16
B. Rupture d'immunité post-partum.....	20
1. Mécanismes de l'immunité utérine.....	20
2. Facteurs de risques.....	22
C. Variation de la calcémie.....	25
II. Physiopathologie des métrites et endométrites.....	26
III. Marqueurs métaboliques et troubles de la reproduction post-partum.....	27
A. Marqueurs métaboliques et affections utérines.....	30
B. Marqueurs métaboliques et dégradation des performances de reproduction.....	31
PARTIE 2 : Étude expérimentale : Évaluation d'indicateurs péri-partum du déficit énergétique comme marqueurs prédictifs de troubles de la reproduction chez la vache laitière.....	34
I. Description des élevages.....	35
II. Protocole expérimental.....	41
A. Procédures expérimentales.....	42
1. Examens gynécologiques.....	42
2. Evaluation de l'état corporel.....	42
3. Prélèvements sanguins.....	43
B. Collecte des données.....	43
C. Dosage du β -hydroxybutyrate (BOH).....	45
D. Dosage des acides gras non estérifiés (AGNE).....	45
III. Analyse des données.....	46
IV. Résultats et discussion.....	47
A. Description de la population.....	47
B. Analyse des marqueurs métaboliques.....	49
1. Evolution temporelle des marqueurs métaboliques.....	49
2. Relation entre les différents paramètres métaboliques.....	54

3. Relation entre les marqueurs métaboliques et les performances de reproduction ..	59
4. Relations entre les marqueurs métaboliques et les affections utérines.....	66
V. Discussion générale et perspectives.....	67
A. Choix et limites des conditions expérimentales.....	68
1. Périodes d'évaluation du statut métabolique	68
2. Influence de la distribution de la ration sur les paramètres métaboliques	69
3. Notation d'état corporel	69
B. Influence des marqueurs métaboliques sur les performances de reproduction	70
C. Intérêts des marqueurs métaboliques dans le suivi de reproduction	71
Conclusion	74
Références bibliographiques	77
Annexe : Mise au point du dosage des AGNE adapté en microplaque	81

Tables des figures

Figure 1 : Évolution des quantités ingérées et des besoins énergétiques autour du vêlage et jusqu'au tarissement chez la vache laitière.....	17
Figure 2 : Schéma simplifié de la formation des corps cétoniques et de l'utilisation des acides gras non estérifiés	18
Figure 3 : Représentation schématique des relations du métabolisme lipidique entre le tissu adipeux, la glande mammaire et le foie	19
Figure 4 : Représentation schématique des mécanismes de l'immunité innée au niveau de l'utérus	22
Figure 5 : Facteurs influençant la capacité fonctionnelle des neutrophiles de la vache laitière	25
Figure 6 : Evolution temporelle des AGNE et des BOH en période péri-partum chez la vache laitière	27
Figure 7 : Mécanismes des effets de la balance énergétique négative sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire	29
Figure 8 : Relations entre les troubles du post-partum et leurs associations avec les marqueurs métaboliques	33
Figure 9 : Répartition du cheptel bovin laitier en Occitanie et localisation des deux élevages inclus dans l'étude.....	35
Figure 10 : Plan du bâtiment des vaches laitières (en haut à gauche) et des vaches tarées (en bas à droite) de l'élevage 1	37
Figure 11 : Plan du bâtiment de l'élevage 2.....	39
Figure 12 : Séquence chronologique des examens et prélèvements réalisés lors du suivi de reproduction	41
Figure 13 : Grille d'évaluation de la Note d'Etat Corporel (NEC).....	42
Figure 14 : Répartition des 291 femelles (116 vaches, 82 primipares et 93 génisses) en fonction de leur NEC pré-partum	50
Figure 15 : Répartition des 247 vaches en fonction de leur variation de NEC en péri-partum	50
Figure 16 : Distribution des concentrations sériques d'AGNE en fonction du jour pré-partum pour 281 vaches.....	51
Figure 17 : Évolution temporelle des concentrations d'AGNE entre les deux périodes pré-partum pour 52 vaches.....	52
Figure 18 : Répartition des concentrations sanguines de BOH en fonction du délai pré-partum chez 147 vaches	53

Figure 19 : Répartition des concentrations sanguines de BOH en fonction du délai post-partum pour 267 femelles.....	53
Figure 20 : Relation entre les AGNE mesurés sur la période “préparation au vêlage” ([14 ; 1] jours avant la mise bas) et ceux mesurés sur la période “tarissement” ([34 ; -21]; AGNE 2) pour 52 femelles.....	54
Figure 21 : Relation entre les concentrations sanguines de BOH pré-partum ([14-1] jours pré-partum) et les concentrations sériques d’AGNE pré-partum ([14-1] jours pré-partum) pour 114 vaches ($R^2=0,0568$).....	55
Figure 22 : Relation entre les concentrations sanguines de BOH post-partum ([5 ; 35] jours après la mise bas) et celles mesurées en pré-partum ([14 ; 1] jours avant la mise bas) pour 129 vaches.....	56
Figure 23 : Relation entre les concentrations de BOH post-partum ([21 ; 36] jours après la mise bas) et d’AGNE pré-partum ([14 ; 1] jours avant la mise bas) pour 103 femelles	57
Figure 24 : Relation entre les NEC pré-partum et la réussite à l’IA1 (Khi2 $p=0,36$).....	61
Figure 25 : Pourcentage cumulé de femelles mises à la reproduction en fonction du délai post-partum et pour deux groupes de femelles, selon le seuil de BOH post-partum.....	63
Figure 26 : Pourcentage cumulé de femelles fécondées en fonction du délai post-partum et pour deux groupes de femelles, selon le seuil de BOH post-partum.....	65

Table des tableaux

Tableau 1 : Associations entre les marqueurs métaboliques et les affections utérines chez les vaches laitières	30
Tableau 2 : Associations entre les paramètres métaboliques, les performances de reproduction et la réforme précoce	32
Tableau 3 : Caractéristiques des deux élevages laitiers inclus dans l'étude	39
Tableau 4 : Protocoles de prévention sanitaire mis en place dans les deux élevages durant la période de l'étude	40
Tableau 5 : Description des paramètres métaboliques évalués sur la population de 332 vaches laitières	47
Tableau 6 : Description des paramètres de fécondité pour les 290 vaches laitières incluses dans l'étude, par rapport aux objectifs classiquement utilisés pour les élevages à production laitière élevée	48
Tableau 7 : Description des paramètres de reproduction dans la population d'étude par rapport aux objectifs classiquement utilisés en élevage laitier performant	49
Tableau 8 : Description des marqueurs métaboliques (BOH pré- et post partum et AGNE pré-partum) en fonction de la perte d'état corporel.....	58
Tableau 9 : Relation entre la réussite en première IA et les différents paramètres métaboliques	59
Tableau 10 : Relation entre le taux de gestation à 120 jours et les marqueurs métaboliques	62
Tableau 11 : Relation entre l'intervalle vêlage-première IA et les différents marqueurs métaboliques	64
Tableau 12 : Prévalence des affections utérines post-partum en relation avec les marqueurs métaboliques	66
Tableau 13 : Intérêts et limites d'utilisation des indicateurs métaboliques pour évaluer le déficit énergétique et relation avec les paramètres de reproduction	73

Liste des abréviations

AGNE : Acide Gras Non Estérifié (ou NEFA)

AGV : Acide Gras Volatile

ANOVA : Analyse de variance

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

BDNI : Base de Données Nationale d'Identification animale

BEN : Balance Energétique Négative (NEB)

BOH : β -hydroxybutyrate (ou BHB)

BVD: Bovine Viral Diarrhea

CPT : Carnitine-palmytoyl-transférase-1

DG : Diagnostic de Gestation

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

EXV : Examen Vaginal

GnRH: Gonadotrophin Releasing Hormon

HR: Hazard Ratio

IA1 : Insémination Artificielle première

IAF : Insémination Artificielle Fécondante

IDELE : Institut de l'élevage

IGF-1: Insulin-like Growth Factor 1

IL : Interleukine

IM : Intra-musculaire

INRA : Institut National de Recherche Agronomique (devenu INRAE environnement)

IV-IA1 : Intervalle Vêlage – IA1

IV-IAF : Intervalle Vêlage – IAF

LH: Luteinizing Hormon (hormone lutéinisante)

LPS : Lipo-poly-saccharide

LR : Rapport de vraisemblance

MSI : Matière Sèche Ingérée (ou DMI)

NEC : Note d'état corporel

ND : Nom Déposé

NS : Non Significatif

OR: Odd Ratio

PAM : Peptide Anti-Microbien

PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern

PCR: Polymerase Chain Reaction

PNN : Polynucléaire neutrophile

PRR: Pattern Recognition Receptors

SID : *Semel in die*

TB : Taux Butyreux

TG : Triglycéride

TLR: Toll-like Receptor

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha

TP : Taux Protéique

UFL : Unité Fourragère Lait

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

Introduction

Dans les élevages bovins laitiers à haut potentiel, la période entourant le vêlage (ou période de transition) est associée à un pic d'incidence de maladies métaboliques ou infectieuses, telles que des affections utérines (métrite, endométrite, rétention placentaire), mammaires ou métaboliques (fièvre vitulaire, déplacement de caillette, acétonémie etc.). Dans une étude portant sur 7500 vaches laitières nord-américaines, Carvalho *et al.* (2019) ont montré que 2 vaches sur 3 présentaient au moins une affection clinique pendant leur lactation, dont 30 % dans les 21 premiers jours. Des taux similaires ont par ailleurs été décrits dans d'autres études épidémiologiques [1–3]. Ces affections ont un impact important sur la lactation (diminution de 4 % la production laitière), sur les performances de reproduction ultérieures (réduction de 19 % du taux de gestation) et constituent une cause majeure de réforme (taux de réforme de 95 % pour les animaux présentant au moins une affection post-partum) [4].

La période péri-partum est aussi caractérisée par un déficit énergétique important, associé à une capacité d'ingestion limitée et à des besoins énergétiques accrus liés à la lactation. Pour faire face à ce déficit énergétique, les vaches laitières mobilisent leurs réserves lipidiques, ce qui conduit à la formation d'acides gras non estérifiés (AGNE). Ces derniers sont transportés dans le foie, où ils peuvent être stockés, utilisés pour la production d'énergie ou transformés en corps cétoniques, parmi lesquels le β -hydroxybutyrate (BOH). L'augmentation de ces marqueurs, au-delà d'un certain seuil, est associée à une altération des fonctions immunitaires et à un risque élevé de survenue de maladies métaboliques ou infectieuses et à une dégradation des performances de reproduction [5].

Pour le vétérinaire praticien, dans le cadre de suivis de troupeaux, il est nécessaire d'évaluer très précocement ces dysfonctionnements métaboliques, afin de les corriger et de prévenir leurs répercussions sur la santé ou les performances de reproduction des vaches. Notre hypothèse est que les marqueurs métaboliques péri-partum pourraient être des indicateurs prédictifs de la santé utérine ou des performances de reproduction. Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude

terrain sur une période d'environ trois ans, dans deux troupeaux laitiers, pour évaluer si les paramètres métaboliques (AGNE, BOH et variation de la Note d'état corporel (NEC)) pourraient être des indicateurs précoces de la santé utérine et des performances de reproduction (survenues de métrites et/ou endométrites cliniques, réussites IA1 (première IA), intervalles vêlage-IA1 et vêlage-IAF (IA fécondante), pourcentage de femelles gravides à 120 jours post-partum).

Avant de développer cette étude expérimentale, une synthèse bibliographique sur la physiopathologie du post-partum chez la vache laitière sera présentée.

PARTIE 1 : Étude bibliographique : Le péri-partum et ses conséquences sur les pathologies post-partum

I. Physiologie du péri-partum

Le péri-partum est généralement défini comme les trois semaines précédant et suivant le vêlage [6]. Cette période de transition est caractérisée par des changements métaboliques majeurs entre la fin de la gestation et le début de la lactation. Ces six semaines sont marquées par une évolution des besoins nutritionnels, un état d'immunosuppression et une variation de la calcémie.

A. Evolution des besoins nutritionnels

La fin de gestation est marquée par une augmentation des besoins nutritionnels en énergie (glucose et acides gras) et en protéines (acides aminés). En effet, l'utérus et le placenta concentrent, en pré-partum, la plupart des besoins qui devront être très rapidement redirigés vers la mamelle au moment du vêlage, d'autant plus que les vaches laitières hautes productrices ont des besoins de production très importants dans les semaines qui suivent le vêlage. Drackley *et al.* (1999) [6] ont montré que 4 jours après la mise bas, 97 % de l'énergie nette et 83 % des protéines métabolisables sont exportées vers la mamelle. Par ailleurs, à cette période, les besoins énergétiques et protéiques sont supérieurs aux apports, respectivement de 26% et 25% [6]. En effet, pendant la période de transition, la capacité d'ingestion est réduite et augmente lentement dans les semaines qui suivent la mise-bas (Figure 1). L'encombrement de l'abdomen par le veau en fin de gestation limite également le remplissage du rumen. Cette diminution d'ingestion dépend également de l'état corporel de l'animal. Ainsi, une vache présentant un certain embonpoint ($NEC > 3-3,5$) a un appétit diminué et la quantité de matière sèche ingérée (MSI) est limitée.

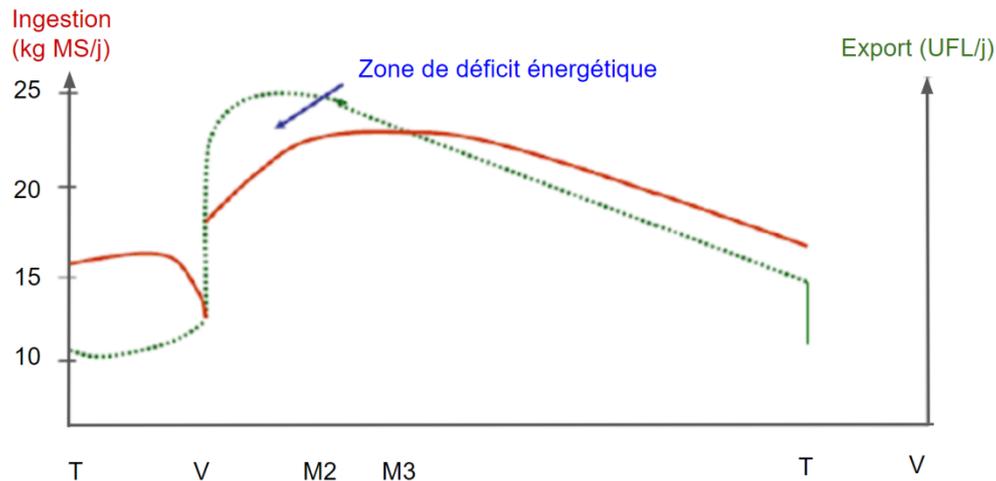


Figure 1 : Évolution des quantités ingérées et des besoins énergétiques autour du vêlage et jusqu'au tarissement chez la vache laitière

Légendes : T = Tarissement, V= Vêlage, M2 et M3 = 2ème et 3ème mois de lactation, courbe rouge = ingestion et courbe verte = export d'énergie. L'augmentation lente de la capacité d'ingestion après le vêlage ne permet pas de couvrir les besoins énergétiques. Il en résulte un déficit énergétique.

Source : d'après Aubadie-Ladrix, 2011

Ainsi, la période de transition est marquée par un état de déficit énergétique. Les dernières semaines de tarissement se caractérisent par une chute de la MSI, associée à une augmentation très rapide des besoins jusqu'au pic de lactation passant d'environ 12 UFL/j à plus de 25 UFL/j. Le métabolisme est donc adapté pour permettre l'utilisation des réserves : 30 à 60 kg de tissu adipeux peuvent ainsi être mobilisés en début de lactation [7].

Le stock hépatique de glycogène étant limité chez les ruminants, la voie métabolique principale lors de déficit énergétique est la néoglucogenèse. Cette voie permet la production de glucose à partir de précurseurs non glucidiques, en particulier, les acides gras et les acides aminés.

L'utilisation des réserves lipidiques se fait en deux temps : mobilisation des acides gras stockés et transport (lipomobilisation) puis dégradation pour permettre la production d'énergie (lipolyse) [8]. La réduction des triglycérides en acides gras et en glycérol a lieu dans le cytoplasme. Les acides gras sont activés en Acyl-S-coA et transportés par une lipoprotéine (la carnitine CPT-1) jusqu'au compartiment mitochondrial où ont lieu les réactions de β -oxydation conduisant à la formation d'Acétyl-coA. Ce dernier, intégrant le cycle de Krebs, permet la formation

Cette lipomobilisation est régulée par différentes hormones, notamment le glucagon qui inhibe la lipogenèse et la protéolyse. L'adrénaline et l'insuline stimulent la conversion des triglycérides en AGNE (Figure 3). Enfin, l'hormone de croissance, sécrétée massivement en péri-partum, favorise la mobilisation des réserves et accroît la capacité de prélèvement des nutriments par le tissu mammaire.

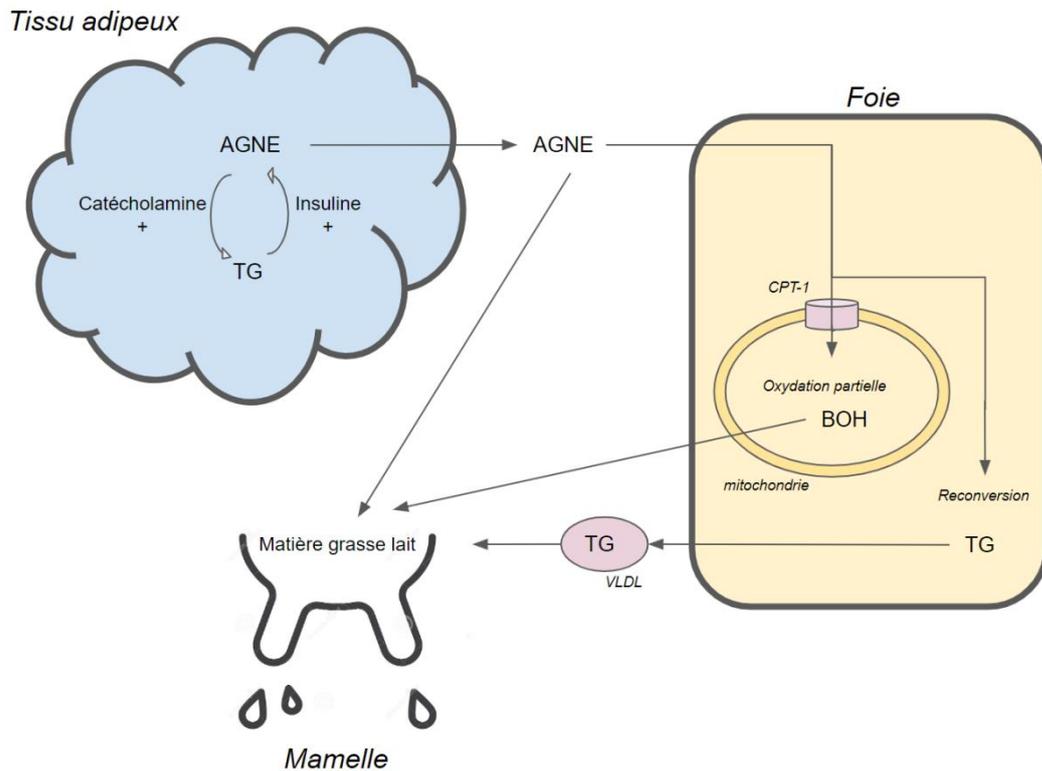


Figure 3 : Représentation schématique des relations du métabolisme lipidique entre le tissu adipeux, la glande mammaire et le foie

Légende : + = stimulation ; - = inhibition ; NEFA = Acides gras non estérifiés ; Epi = adrénaline ; TG = triglycérides ; VLDL = very low density lipoprotein ; CPT-1 = carnitine-palmytoyl-transferase-1

Dans le tissu adipeux, l'insuline et l'adrénaline stimulent à la fois la conversion des AGNE et des triglycérides. Les AGNE transférés dans le foie sont convertis en corps cétoniques et acheminés dans le compartiment mitochondrial grâce à la CPT-1 pour servir de précurseurs énergétiques dans la mamelle.

Source : d'après Drackley, 1999

Lorsque le déficit énergétique est trop important, la protéolyse peut intervenir pour participer à la synthèse énergétique. Des acides aminés glucoformateurs (tryptophane, méthionine, cystéine etc.) permettent alors de fournir près d'un quart du glucose libre, qui sera ensuite utilisé dans les différents tissus (via la glycolyse).

B. Rupture d'immunité post-partum

Le vêlage est inévitablement associé à une contamination bactérienne de l'utérus, même si elle ne se traduit pas forcément par une maladie.

Pour qu'une infection se mette en place, les bactéries doivent se multiplier, adhérer à la muqueuse, y pénétrer et/ou sécréter des toxines [10]. Cette colonisation dépend de l'espèce, de la charge bactérienne et de la réponse immunitaire de la vache. La plupart des vaches éliminent ces bactéries dans les 2 à 3 semaines suivant le vêlage, cette période est caractérisée par une inflammation génitale, avec notamment une phagocytose très active.

Cependant, pour certaines femelles, notamment les fortes productrices, une rupture d'immunité est observée, qui peut conduire à des infections post-partum (en particulier métrite, endométrite). Les mécanismes d'altération de la fonction immunitaire en péri-partum sont expliqués ci-dessous.

1. Mécanismes de l'immunité utérine

Pour se défendre vis-à-vis de la contamination bactérienne au moment du part, l'utérus mobilise essentiellement les mécanismes de l'immunité innée, non spécifique mais rapide.

La toute première ligne de défense de l'organisme est constituée par les barrières physiques formées par les épithéliums.

Une fois qu'elles ont franchi ces barrières, les bactéries doivent être reconnues par les cellules immunitaires sentinelles résidant dans les tissus (PNN, cellules dendritiques et mastocytes). Ces cellules comportent des PRR membranaires (Pattern Recognition Receptors), anciennement appelés TLR (Toll Like Receptor), qui reconnaissent les PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern). Dans le cas

d'*Escherichia coli*, fréquemment responsable d'affections utérines, le motif reconnu par le TLR-4 est un lipo-poly-saccharide (LPS), composant de la paroi. Le complexe PRR-PAMP permet l'initiation de la réponse immunitaire innée.

L'inflammation aiguë ainsi initiée, permet la sécrétion de médiateurs chimiques (par les cellules résidentes) et induit la phase vasculaire. Elle permet le recrutement de différentes cellules effectrices qui affluent vers le foyer infectieux et qui conduisent à l'élimination du pathogène.

Lors de la phase vasculaire, les cytokines pro-inflammatoires (notamment le trio IL-1, TNF- α et IL-6 ainsi que la chimiokine IL-8) sécrétées autour du foyer infectieux provoquent la vasodilatation des capillaires, ce qui permet aux leucocytes recrutés de passer à travers l'endothélium vasculaire pour rejoindre le site de l'infection (diapédèse).

La fonction majeure des PNN est la phagocytose qui consiste en l'ingestion puis la destruction du pathogène par l'intermédiaire de différentes réactions d'oxydation, regroupées sous le terme de « burst oxydatif » (destruction du pathogène par sécrétion de radicaux libres oxydés comme le peroxyde d'hydrogène par exemple). Des réactions de dégranulations peuvent alors intervenir et entraîner la libération de peptides anti-microbiens (PAM) ou de molécules servant à recruter d'autres monocytes (phénomène d'auto-amplification).

Une représentation schématique de ces mécanismes est présentée sur la Figure 4.

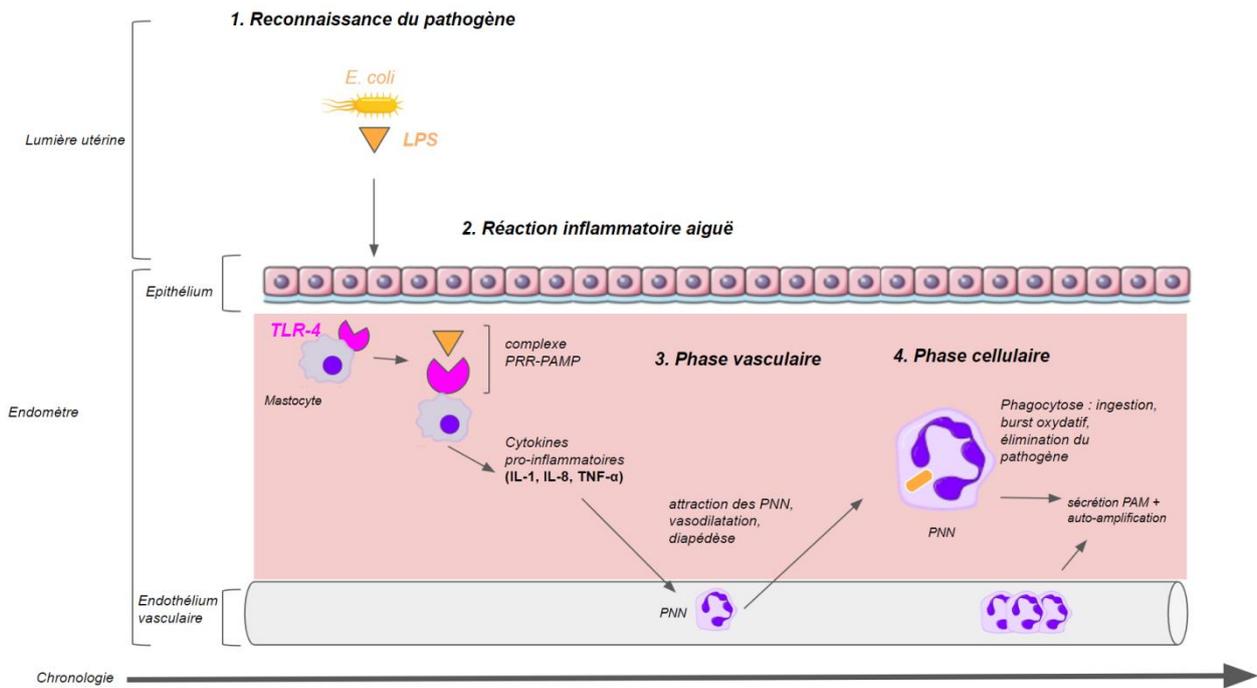


Figure 4 : Représentation schématique des mécanismes de l'immunité innée au niveau de l'utérus

Légende : LPS = Lipo-poly-saccharide ; TLR-4 = Toll like receptor 4 ; PRR = Pattern recognizing receptor ; PAMP = Pathogen associated molecular pattern ; IL = Interleukines (1 et 8) ; TNF = Tumor necrosis factor ; PNN = Poly-nucléaire neutrophile
 La reconnaissance du pathogène entraîne la mise en place de la réaction inflammatoire aiguë qui, à son tour, induit les phases vasculaires et cellulaires de l'immunité innée.
 Source : d'après Deguillaume, 2010

2. Facteurs de risques

- Altération de l'immunité :

L'immunodépression post-partum se traduit par une efficacité diminuée des PNN : altération de leur capacité oxydative et phagocytaire. Ainsi, Hammon *et al.* (2006) ont montré une diminution prononcée de la capacité oxydative des PNN juste avant le vêlage chez les animaux atteints d'affection utérine, comparativement à des animaux sains. Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres équipes. Notamment, Kim *et al.* en 2005 [11], qui ont montré une diminution des concentrations en TNF-α (cytokine pro-inflammatoire majeure), de la phagocytose et de la concentration sanguine en PNN au cours des 4 semaines suivant le vêlage. Par ailleurs, les femelles atteintes d'endométrite ou de métrite ont une réponse immunitaire significativement diminuée par rapport à celle des vaches saines. Le travail de Zerbe *et al.* (2000) [12] va dans le même sens en montrant la dégradation des PNN encore plus intense chez les vaches présentant un état d'embonpoint.

Différents facteurs peuvent altérer la capacité de défense des vaches vis-à-vis des infections péri-partum.

- Déficits nutritionnels :

Les déficits protéiques peuvent dégrader la fonction immunitaire puisque les médiateurs de l'inflammation sont majoritairement de nature protéique [13].

Par ailleurs, les vaches présentant une balance énergétique négative en péri-partum (en lien avec la mobilisation des réserves lipidiques) sont prédisposées à une diminution d'activité des PNN [14].

- Déficits en vitamines et oligo-éléments :

L'immunodépression est également associée à l'effondrement des statuts en vitamine A et E lors du péri-partum. En effet, ils sont respectivement réduits de 38 % et 47 % à cette période [7]. Cette diminution s'explique par le fait qu'ils sont à la fois exportés vers le colostrum, pour assurer l'immunité passive du veau nouveau-né, et vers l'utérus où ils sont utilisés pour faire face aux infections péri-partum.

La vitamine A (rétinol) joue un rôle essentiel dans la protection des épithéliums et des muqueuses. Une carence en vitamine A se traduira donc par une atrophie épithéliale, en particulier au niveau génital, qui prédisposera à des affections utérines [15,16].

La vitamine E (α -tocophérol) est un antioxydant biologique majeur permettant la protection des nutriments oxydables, notamment la vitamine A. Elle protège également les acides gras, composants les membranes cellulaires contre les oxydations et accroît l'efficacité des PNN (en prévenant des dommages qui font suite à la destruction intracellulaire d'une bactérie par le burst oxydatif) [16,17]. LeBlanc *et al.* (2004) ont ainsi montré que des concentrations basses en vitamines A et E autour du vêlage étaient associées à un risque accru d'infection génitale.

De même, les concentrations en oligo-éléments, particulièrement le sélénium, le cuivre et le zinc, diminuent autour du vêlage. Or, le sélénium, et plus précisément la

glutathion-peroxydase (enzyme séléno-dépendante), contribue à lutter contre le stress oxydatif. Il agit d'ailleurs en synergie avec la vitamine E et intervient aussi dans certaines fonctions lymphocytaires [16]. Le cuivre a également un effet antioxydant (comme la vitamine E) et contribue, entre autres, au maintien de l'efficacité phagocytaire des neutrophiles. Le zinc, quant à lui, est impliqué dans de nombreuses étapes de la réaction immunitaire telles que la synthèse de cytokines, la production d'anticorps ou encore la différenciation des lymphocytes.

- Stress :

Les situations de stress sont nombreuses en péri-partum. Le vêlage lui-même et les changements physiologiques qui l'accompagnent (démarrage de la lactation, besoins nutritionnels élevés etc.), l'environnement (changement de bâtiment, inconfort lié à un défaut de ventilation ou à un stress thermique par exemple), les facteurs sociaux (mise en lot, compétition pour la nourriture ou l'abreuvement, hiérarchie, etc.) ou encore les changements alimentaires sont autant de facteurs de stress.

Les conséquences sont nombreuses. Premièrement, les hormones et les cytokines associées à la réponse au stress peuvent altérer la sécrétion de certaines hormones impliquées dans la lactogénèse et l'adaptation métabolique : l'hormone de croissance, l'insuline, le glucagon ou encore les hormones thyroïdiennes. Ensuite, des cytokines synthétisées en réponse à des facteurs de stress (traumatisme, lutte contre une infection par exemple) augmentent, par un mécanisme encore mal connu, l'accumulation lipidique dans le foie et prédisposent aux dysfonctionnements métaboliques. Troisièmement, un taux de cortisol élevé, physiologique au moment du vêlage et associé aux situations de stress, aggrave l'état d'immunosuppression déjà en place et donc la sensibilité aux infections [18].

La Figure 5 récapitule les principaux facteurs pouvant influencer l'activité des PNN en péri-partum.

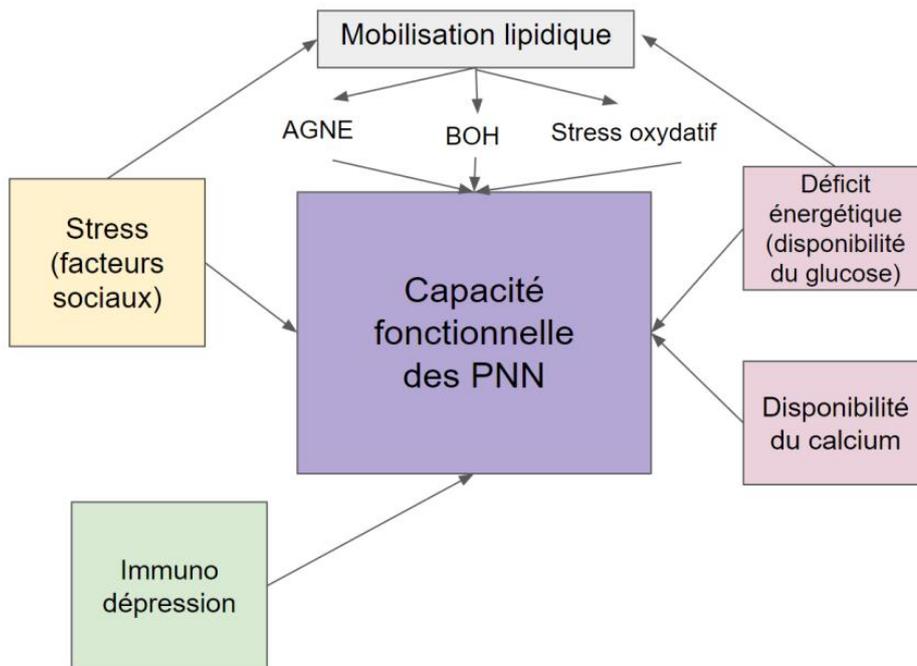


Figure 5 : Facteurs influençant la capacité fonctionnelle des neutrophiles de la vache laitière

Légendes : BHB = β -hydroxybutyrate, NEFA = AGNE (acides gras non estérifiés)
 La situation de déficit énergétique (avec production d'AGNE et de BOH) du début de lactation, provoque une altération fonctionnelle des neutrophiles. D'autres facteurs contribuent également à cet état d'immunosuppression, bien que tous ne soient pas connus à ce jour.
 Source : d'après LeBlanc *et al.*, 2020

C. Variation de la calcémie

La plupart des vaches subissent, en péri-partum, une diminution de la calcémie pouvant aller jusqu'à l'apparition de signes cliniques (fièvre de lait) [7]. Mais, même si elle ne conduit pas à un état de parésie vitulaire, une hypocalcémie sub-clinique présente des conséquences sur la reproduction et la survenue de maladies. Définie comme un taux de calcium sanguin inférieur à 2,14 mmol/L [19], une hypocalcémie sub-clinique diminue l'activité des cellules immunitaires [20]. Elle a des effets négatifs sur la reproduction, elle entraîne, notamment, un retard d'involution utérine [21], une diminution de 27 % de la réussite en IA1 ou encore une moindre reprise de cyclicité post-partum [19].

II. Physiopathologie des métrites et endométrites

La survenue fréquente d'affections utérines est liée à un déséquilibre entre la contamination bactérienne et les défenses immunitaires. Les mise-bas gémellaires ou dystociques, notamment si elles nécessitent une intervention humaine (contamination, hygiène) [22] et les rétentions placentaires, prédisposent à une contamination utérine (les enveloppes fœtales nécrosées étant un très bon milieu de culture pour les bactéries).

Ensuite, la rupture de l'immunité en péri-partum, aggravée par des déséquilibres nutritionnels joue un rôle important dans l'apparition des maladies utérines. *Ster et al.* (2012) [23] ont aussi montré que des taux élevés en AGNE (reflets d'une balance énergétique négative) ont des effets négatifs sur la fonction immunitaire.

Une métrite est définie comme une maladie systémique aiguë, survenant généralement dans les 10 jours post-partum. Elle est caractérisée par des symptômes locaux, des écoulements abondants et malodorants, rouge-marron ou purulents, souvent associés à des symptômes généraux (hyperthermie, baisse de production laitière, abattement et signe de toxémie) dans les 21 jours suivant le vêlage [10]. Une endométrite est une inflammation de l'endomètre survenant au-delà de 21 jours post-partum, caractérisée par des écoulements muco-purulents et un retard d'involution utérine. Dans la plupart des cas, elle n'est pas associée à des symptômes généraux [1,10]. La limite temporelle de 21 jours post-partum a été définie car une partie importante des animaux présentant des écoulements utérins muco-purulents dans les 21 jours post-partum guérit spontanément [10].

Ces affections sont d'autant plus importantes qu'elles sont fréquentes : ainsi 45 à 71 % des vaches développent une maladie infectieuse dans leur premier mois de lactation [3]. La prévalence des maladies utérines chez les vaches laitières hautes productrices varie entre 10 et 20 % [3,24,25] pour les métrites et entre 15 et 20 % [3,24] pour les endométrites cliniques.

Les affections utérines entraînent d'importantes pertes économiques [26]. Une étude américaine de 2021 [27] a en effet montré que le coût moyen d'une métrite clinique

s'élève à 511 \$, soit environ 480 €, incluant les coûts liés à de la perte de lait, au traitement médical, à l'allongement du délai de fécondation, à la réforme et au renouvellement supplémentaire (étude portant sur près de 12 000 vaches laitières).

III. Marqueurs métaboliques et troubles de la reproduction post-partum

Comme expliqué précédemment, les AGNE et les BOH sont des marqueurs de lipomobilisation et indiquent l'importance du déficit énergétique [28–30]. La Figure 6 présente la cinétique de ces métabolites durant la période de transition, parallèlement à l'évolution de la balance énergétique. L'élévation des AGNE précède d'environ une semaine celle des BOH. Ces augmentations sont physiologiques dans les trois semaines précédant et suivant le vêlage.

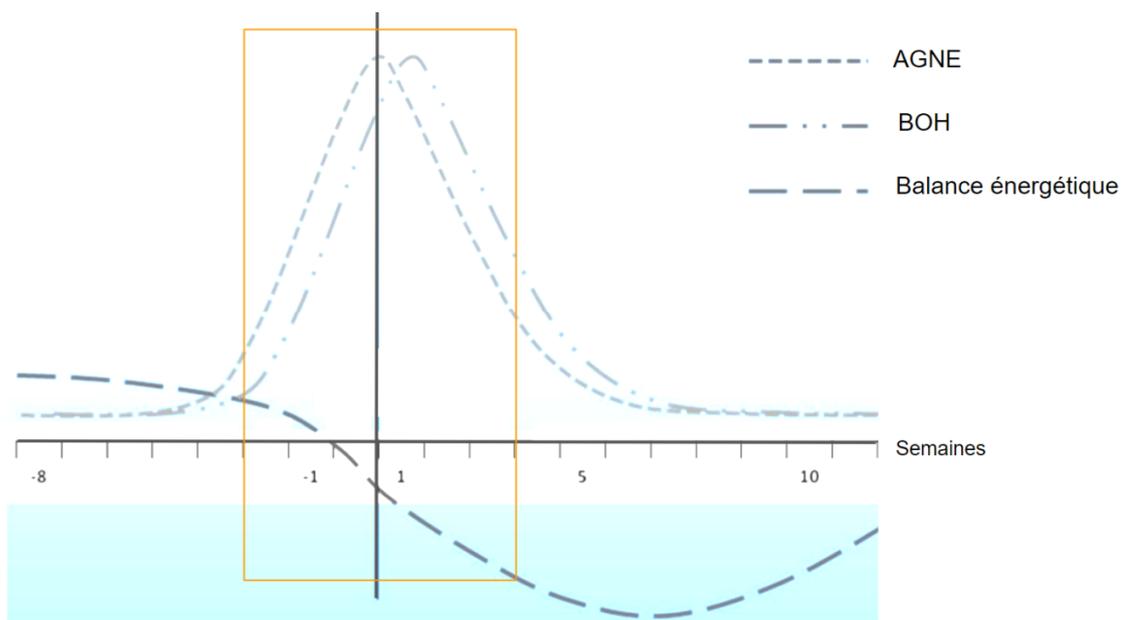


Figure 6 : Evolution temporelle des AGNE et des BOH en période péri-partum chez la vache laitière

Légende : NEFA = AGNE, BHBA = β -hydroxybutyrate
Le jour 0 correspond au jour du vêlage. Le cadre orange représente la période de transition. Notons la balance énergétique négative qui marque cette période et son association avec l'augmentation des marqueurs métaboliques. Les AGNE sont des marqueurs plus précoces que les BOH.
Source : d'après Staufenberg, 2012

Une balance énergétique négative dans le premier mois de gestation est directement responsable d'une dégradation des performances de reproduction en retardant la reprise de la cyclicité ovarienne ou en altérant l'environnement utérin et la qualité du follicule [3].

En outre, les femelles atteintes de métrite ont généralement un appétit diminué et ingèrent entre 2 à 6 kg de ration en moins dans les 2 à 3 semaines suivant la survenue de l'affection, ce qui renforce le déficit énergétique (Huzzey *et al.* (2007).

L'allongement de l'anoestrus post-partum chez les femelles en déficit énergétique peut être expliqué par une altération du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire, avec une diminution de la sécrétion de GnRH (Gonadotrophin Releasing Hormon) et de la fréquence des pulses de LH (Luteinizing Hormon) mais aussi par une diminution de la sensibilité du follicule dominant à la LH. Cet effet est médié par l'insuline et l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), dont la sécrétion est diminuée lors d'un déficit énergétique important. En outre, la diminution de la sécrétion d'oestradiol par le follicule dominant, modifie la boucle de rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et conduit à la persistance du follicule dominant, incapable d'ovuler [5].

Une reprise précoce de la cyclicité est essentielle pour obtenir une fertilité optimale au moment de la mise à la reproduction. Or l'ovulation du follicule dominant lors de la première vague folliculaire est associée à des niveaux plasmatiques bas en AGNE et BOH [31,37].

En outre, une balance énergétique négative est associée à une diminution de la qualité des ovocytes, avec pour conséquence, une fertilité dégradée et une augmentation de la mortalité embryonnaire [33]. En effet, la sécrétion de progestérone est diminuée lors de déficit énergétique. Cette hormone joue pourtant un rôle important dans le développement embryonnaire et dans la maturation folliculaire. La Figure 7 représente les effets d'une balance énergétique négative sur la reproduction chez la vache laitière.

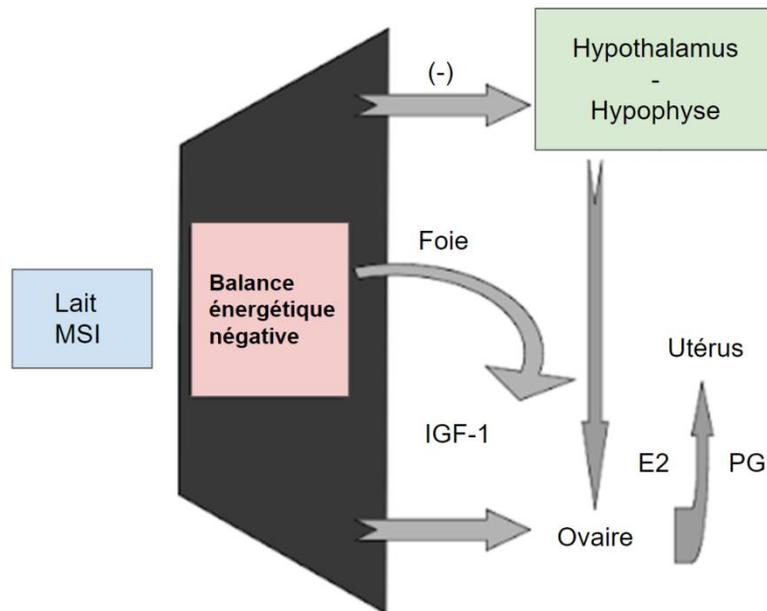


Figure 7 : Mécanismes des effets de la balance énergétique négative sur le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire

Légende : MSI = Matière sèche ingérée ; IGF-1 = Insulin-like growth factor 1 ; E2 = Oestradiol ; PG = Progestérone ; (-) = Inhibition

Un déficit énergétique important entraîne une inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire et une diminution de sécrétion des hormones gonadotropes, de l'oestradiol et de la progestérone. Les taux d'IGF-1 et d'insuline (produits par le foie) sont aussi diminués. Il en résulte une dégradation de la fertilité.

Source : d'après Butler *et al.*, 2005

La relation entre ces marqueurs métaboliques et la reproduction chez la vache laitière a été évaluée dans de nombreuses études épidémiologiques. Une synthèse des résultats de ces études est présentée dans les Tableaux 1 et 2.

A. Marqueurs métaboliques et affections utérines

Tableau 1 : Associations entre les marqueurs métaboliques et les affections utérines chez les vaches laitières

Auteurs	Dubuc <i>et al.</i> (2010)	Chapinal <i>et al.</i> (2011)	Ospina <i>et al.</i> (2010)	Kaufmann <i>et al.</i> (2010)	Nicola <i>et al.</i> (2021)
Effectif	1363	2365	2758	209	1300
Seuil AGNE (mmol/L)	M : 0,6 EM : > 0,5 (S-1)	0,3 (S-1)	0,37 (S-2 ; S-1)	0,3 (S-1)	0,3 (S-2; S-1)
Association AGNE/M	p < 0,01	p = 0,006	p = 0,0001	non recherché	p < 0,01
OR	1,86	1,8	LR = 1,9		4
Se	25,1	74,8	37		
Sp	84,7	39,5	80		
Association AGNE/EM	p = 0,03	non recherché	non recherché	p = 0,05	non recherché
OR	1,31			9,1	
Se	54,3			38	
Sp	52,5			87	
Seuil BOH pré-partum (mmol/L)					
Association BOH/M	non recherché	non recherché	non recherché	non recherché	non recherché
OR					
Se					
Sp					
Association BOH/EM		non recherché	non recherché	NS	non recherché
OR					
Se					
Sp					
Seuil BOH post-partum (mmol/L)			0,7 (S+1 ; S+2)		
Association BOH/M	p < 0,01	non recherché	p = 0,03	non recherché	non recherché
OR	4,01		LR = 1,5		
Se	51,6		63		
Sp	79		59		
Association BOH/EM	p = 0,05	non recherché	non recherché	NS	non recherché
OR	1,36				
Se	28,3				
Sp	83,7				

Ce tableau regroupe les données de la littérature concernant les associations entre les AGNE, les BOH sanguins et les affections utérines.

Légendes : AGNE = acide gras non estérifié ; BOH = β -hydroxybutyrate ; M = métrite ; EM = endométrite ; S-1 = semaine précédant le vêlage, S+1 = semaine suivant le vêlage, OR = odds ratio, Se = sensibilité, Sp = spécificité, LR = rapport de vraisemblance (Se/1-Sp) ; NS = non significatif

Une vache dont les AGNE sont élevés en pré-partum (seuils de 0,3 à 0,6 mmol/L) a 1,8 à 4 fois plus de risque de développer une métrite [30,38,39]. Ces animaux ont aussi 1,3 à 9,1 fois plus de risque de développer une endométrite (seuils de 0,3 à 0,5 mmol/L) [38,40]. Pour les BOH post-partum, des vaches présentant des valeurs supérieures au seuil de 1,5 mmol/L ont 4 fois plus de risque de survenue de métrite et 1,36 fois plus de risque de développer une endométrite [38]. Par ailleurs, une étude portant sur près de 6000 vaches Holstein, Santos *et al.* (2010), a montré que les affections utérines diminuent le taux de gestation, de 39,4 % et 38,7 %, respectivement chez les femelles atteintes de métrite et d'endométrite, contre 51,4 % pour le groupe de vaches saines.

B. Marqueurs métaboliques et dégradation des performances de reproduction

Un lien entre une hypercétonémie (BOH > à 1 mmol/L ou 1,4 mmol/L selon le stade post-partum) et les performances de reproduction a été mis en évidence. Ainsi, une hypercétonémie au cours de la première ou de la deuxième semaine post-partum est associée à une diminution de 20 % de la réussite en première IA. Si cette hypercétonémie est observée pendant ces deux semaines post-partum consécutives, la réussite de l'IA 1 est réduite de moitié [41].

Une revue bibliographique de López-Gatius (2003), synthétisant 15 études, a évalué les associations entre l'état corporel et les paramètres de reproduction de 7733 vaches (pour la réussite en IA1) et pour 4529 (pour l'intervalle V-IAF). La réussite en première IA est diminuée de 10 % chez les vaches maigres ou présentant un amaigrissement important en début de lactation [42]. Cette dégradation de la fertilité conduit à un allongement du délai de fécondation. Ainsi, un score corporel insuffisant au vêlage ou à la première insémination (NEC < 2,5) est associé à un allongement de 6 à 12 jours de l'intervalle vêlage-IAF. De même, une perte de NEC d'un point ou plus en début de lactation est associée à un allongement de 10,6 jours de l'IV-IAF [42]. Une association entre la perte de NEC et l'allongement de l'IV-IAF a également été rapportée par Walsh *et al.* (2007). Il en résulte un taux de gestation diminué, sur une période considérée. Ainsi, le pourcentage de femelles gravides dans un délai

post-partum de 120 jours est diminué de 19 % pour les femelles dont les AGNE sont élevés une semaine avant le vêlage et de 13 % pour celles dont les BOH sont élevés en post-partum ([29], Tableau 2).

Tableau 2 : Associations entre les paramètres métaboliques, les performances de reproduction et la réforme précoce

Auteurs	Ospina <i>et al.</i> (2013)	Roberts <i>et al.</i> (2012)	Walsh <i>et al.</i> (2007)
Effectif	2758	5979	796
Seuil AGNE (mmol/L)	0,27 (S-1 ; S+2)	0,4 (S-1)	non recherché
Paramètres étudiés	taux de gestation à 120 jours	risque de réforme dans les 60 premiers jours de lactation	réussite IA1
Association AGNE/reproduction	p = 0,01	non recherché	
HR	0,81		
Se			
Sp			
Association AGNE/réforme précoce	non recherché	p < 0,0001	non recherché
OR		1,8	
Se		53	
Sp		63	
Seuil BOH pré-partum (mmol/L)	non recherché	0,7 (S+1)	non recherché
Association BOH pré-partum/reproduction		non recherché	
OR			
Se			
Sp			
Association BOH pré-partum/réforme précoce	non recherché	p < 0,0001	non recherché
HR		0,8	
Se		29	
Sp		82	
Seuil BOH post-partum (mmol/L)	1 (S+1 ; S+2)	1,2 (W+1)	1 (S+1) ; 1,4 (S+2)
Association BOH post-partum/reproduction	p = 0,1		p = 0,04 ; 0,01
HR	0,87		OR = 0,73 ; 0,6
Se			
Sp			
Association BOH post-partum/réforme précoce	non recherché	p < 0,0001	non recherché
OR		1,8	
Se		31	
Sp		82	

Ce tableau regroupe les données de la littérature sur les associations entre les métabolites pré-partum (AGNE et BOH) et post-partum (BOH) et les résultats de reproduction, ainsi que la réforme précoce des animaux.

Légendes : S-1 = semaine précédant le vêlage, S+1 ; +2 = 1 et 2 semaines suivant le vêlage, OR = odds ratio, HR = hazard ratio (paramètre similaire au risque relatif, mais pour des données censurées), Se = sensibilité, Sp = spécificité

Ainsi, Roberts *et al.*, ont montré qu'une élévation des marqueurs métaboliques (AGNE, BOH pré-partum et BOH post-partum) est associée à une augmentation d'un facteur 1,8 du risque de réforme en début de lactation comme le montre le Tableau 2 [43].

Ces études épidémiologiques ont permis de définir des seuils au-delà desquels ces métabolites sont associés à l'apparition de pathologies. Les seuils de BOH retenus d'après la littérature sont 0,6 à 0,8 mmol/L pour la période pré-partum [30,44] et 1,2 mmol/L en post-partum [45]. Les travaux sur les AGNE en pré-partum se concentrent sur la semaine précédant le vêlage mais pas au-delà pendant le tarissement. Le seuil de 0,3 à 0,6 mmol/L est utilisé dans la plupart des études [30,44,46,47]. Ces valeurs élevées sont le reflet des conséquences négatives de la lipomobilisation sur la santé utérine et la reproduction notamment ; c'est donc ceux que nous avons choisis pour la partie expérimentale. La Figure 8 résume les associations qui existent entre les marqueurs métaboliques, le système immunitaire et les troubles de la reproduction (Figure 8).

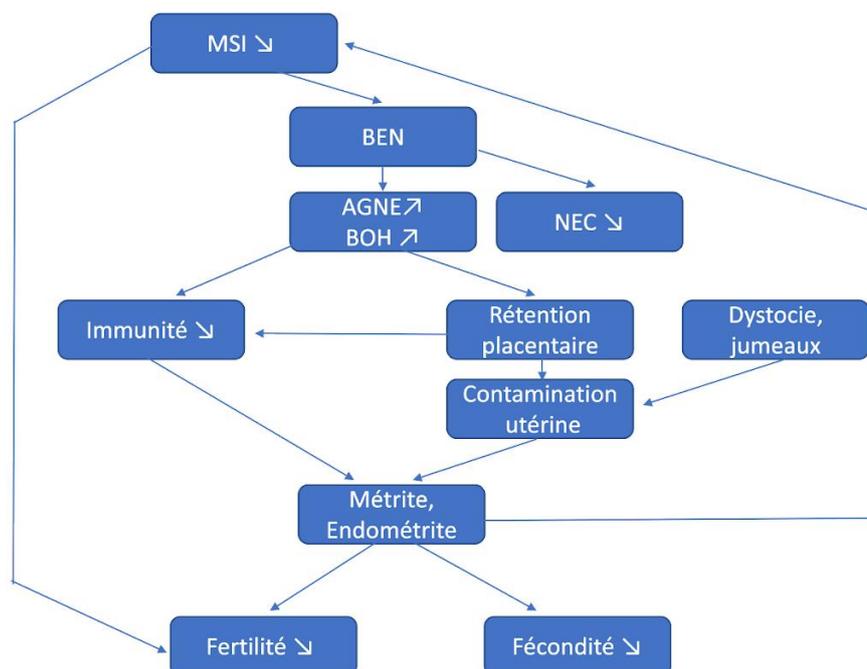


Figure 8 : Relations entre les troubles du post-partum et leurs associations avec les marqueurs métaboliques

Légendes : MSI = Matière sèche ingérée, BEN = Balance énergétique négative, AGNE = Acide gras non estérifiés, BOH = β -hydroxybutyrate, NEC = Note d'état corporel

Les flèches représentent les associations négatives existant entre les différents facteurs. Les changements métaboliques du pré-partum, reflétés par l'augmentation des AGNE et BOH, dégradent la santé du post-partum. La rupture d'immunité au moment du vêlage est associée à une dégradation de la santé utérine. La survenue d'une maladie utérine dégrade l'ingestion et renforce le déficit énergétique.

Source : d'après Dubuc *et al.* (2010), Huzzey *et al.* (2007), Hammon *et al.* (2006), Santos *et al.* (2010)

PARTIE 2 : Étude expérimentale : Évaluation d'indicateurs péri-partum du déficit énergétique comme marqueurs prédictifs de troubles de la reproduction chez la vache laitière

I. Description des élevages

Les animaux inclus dans cette étude proviennent de deux élevages de la région toulousaine dont le suivi de troupeau est assuré par l'Unité Pédagogique de Pathologie de la reproduction de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), en collaboration avec les vétérinaires praticiens.

L'élevage 1 se situe à Verdalle dans le Tarn (81) et l'élevage 2 à Martres-Tolosane en Haute-Garonne (31) (Figure 9).

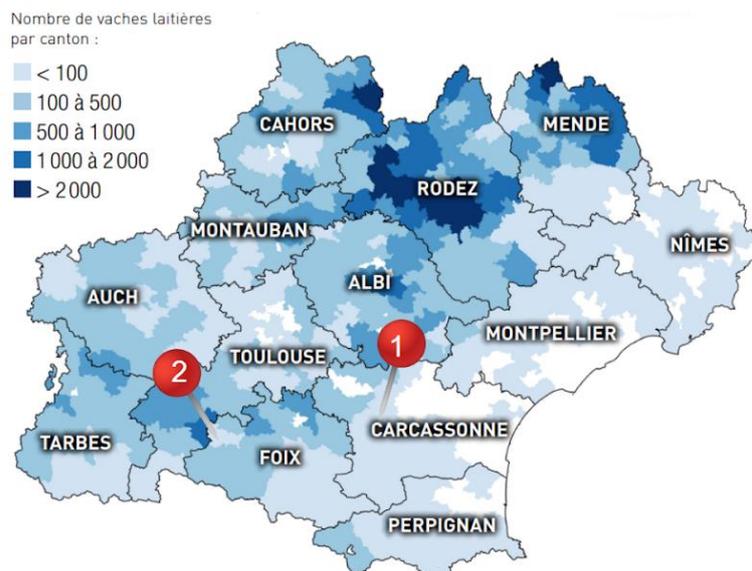


Figure 9 : Répartition du cheptel bovin laitier en Occitanie et localisation des deux élevages inclus dans l'étude

Source : d'après BDNI et IDELE, 2021

La production laitière moyenne de l'élevage 1 s'élève à 7015 kg/vache/an en 2021 (avec un Taux Butyreux (TB) moyen de 42,2 g/kg et un Taux Protéique (TP) moyen de 32,3 g/kg) et celle de l'élevage 2 à 10 217 kg/vache/an (TB moyen de 37,5 g/kg et TP moyen de 29,8 g/kg).

Pour l'élevage 1, l'atelier laitier compte 78 vaches (88,5 % de race Prim'Holstein et 11,5 % de race Montbéliarde) en lactation au dernier contrôle laitier (22/02/2022)

dont 15 % de primipares. La traite, bi-quotidienne, est réalisée dans une salle en épi de 2 x 6 places.

Les génisses sont mises à la reproduction à partir de l'âge de 15 mois (pour un premier vêlage à 26 mois). Leur valeur génétique est évaluée par marquage génomique. La détection des chaleurs se fait à l'aide de colliers de détection (Médria®) depuis le début de l'année 2021. Le mode de reproduction est principalement l'insémination (réalisée par un inséminateur) avec des semences européennes, américaines et néo-zélandaises. De la semence sexée femelle est utilisée sur les vaches à haut potentiel génétique ainsi que sur les génisses. La monte naturelle, avec des taureaux limousins, est utilisée pour la mise à la reproduction des vaches infertiles.

Les vaches en lactation reçoivent une ration semi-complète équilibrée pour 22 kg de lait, à base, notamment, d'ensilage de maïs, de blé et d'herbe (Ray Grass, Trèfle) distribuée une fois par jour (repoussée à l'auge, 5 à 6 fois par jour). Un complément de production est apporté au distributeur automatique de concentrés. La quantité est adaptée à la production laitière et est modulée en fonction de l'état corporel.

Les vaches tarées reçoivent une ration composée d'un tiers de la ration des vaches en lactation ainsi que du foin, distribuée deux fois par jour (repoussée à l'auge, 2 à 3 fois par jour). Il n'y a pas de ration de préparation au vêlage. Pendant le tarissement, les animaux ont un accès libre à l'extérieur (parcours de 1 à 2 ha).

Le logement des vaches en lactation comprend 71 logettes recouvertes d'un tapis et de sciure de bois, 65 places de cornadis et une aire d'exercice bétonnée (environ 390 m²) raclée automatiquement (6 fois par jour) (Figure 10). Les vaches tarées disposent, quant à elles, de 34 logettes, de 48 places de cornadis avec un accès à l'extérieur (parcours de 1 à 2 ha). Le bâtiment dispose enfin d'un box de vêlage.

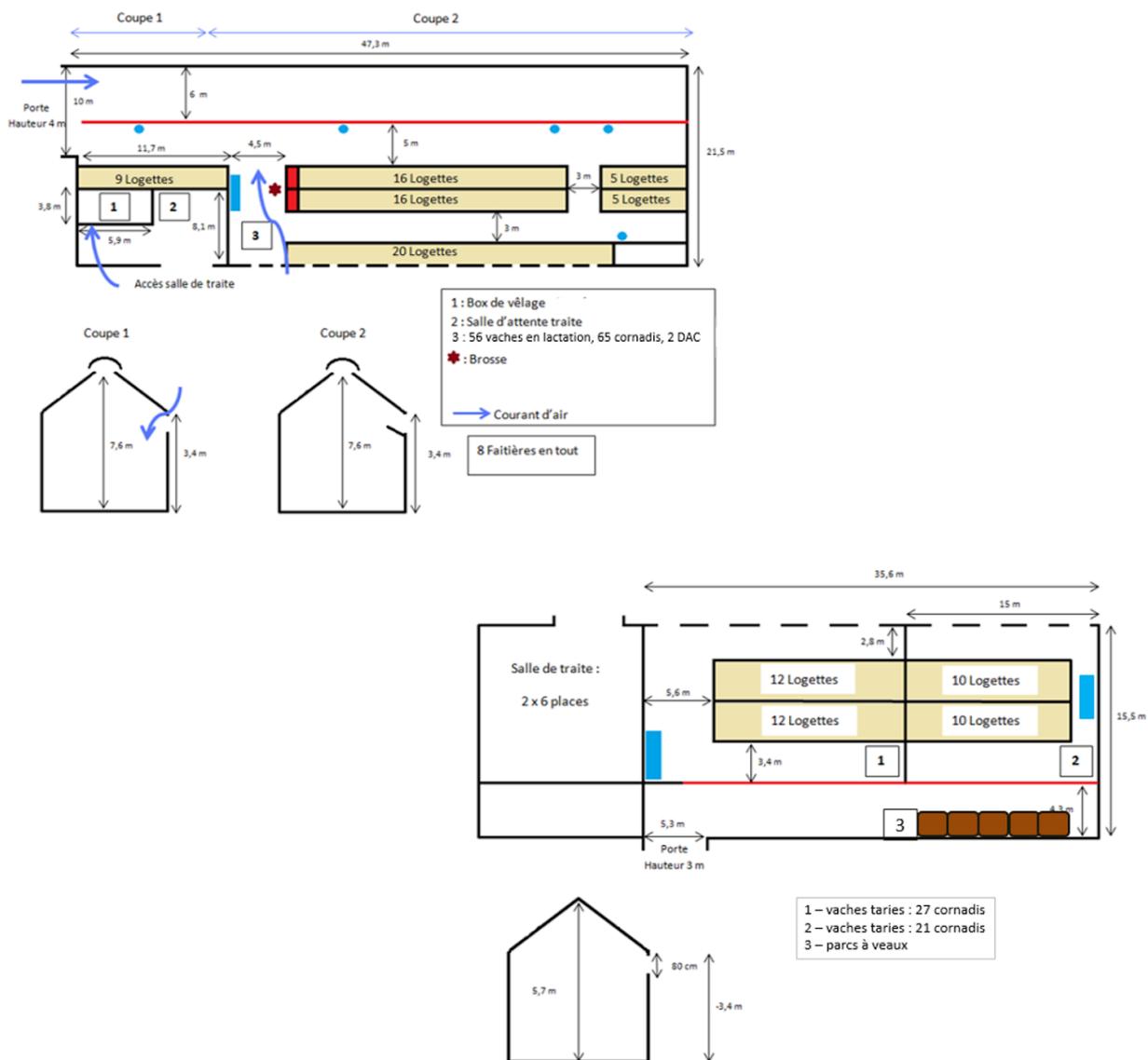


Figure 10 : Plan du bâtiment des vaches laitières (en haut à gauche) et des vaches tarées (en bas à droite) de l'élevage 1

Source : ENVT, 2021

L'atelier laitier de l'élevage 2 compte 163 vaches de race Prim'Holstein en lactation au dernier contrôle (29/03/2022) dont 35 % primipares. La salle de traite, en épi, comporte 2 x 8 places avec un système de sortie à l'avant. La traite est bi-quotidienne.

Les génisses sont mises à la reproduction à partir de l'âge de 15 mois (pour un premier vêlage en moyenne à 26 mois) et les vaches sont inséminées à partir de 60 jours post-partum (avec un délai supplémentaire pour les hautes productrices). Aucun dispositif d'aide à la détection des chaleurs n'est utilisé. L'insémination

artificielle, réalisée par l'éleveur, est le seul mode de reproduction de cet élevage. De la semence sexée est utilisée sur les génisses et quelques vaches à haut potentiel génétique. Les semences utilisées sont principalement européennes ou américaines. Des croisements allaitants (INRA 95) sont utilisés sur les vaches dont l'éleveur ne souhaite pas conserver les produits.

Les vaches en lactation reçoivent une ration complète distribuée une fois par jour (repoussée à l'auge, 3 fois par jour) équilibrée à 32 kg de lait, à base d'ensilage de maïs, d'ensilage d'herbe (Ray Grass Italien, Trèfle incarnat) et d'ensilage de maïs épi ainsi que des compléments énergétiques, azotés et minéraux adaptés.

Les vaches tarées (et génisses de plus de 2 mois) reçoivent une ration à base de foin, un complément composé aux deux tiers de farine (maïs et orge) et d'un tiers de tourteaux (soja et/ou colza). Enfin, 3 à 4 semaines avant le vêlage, ces animaux reçoivent la ration des laitières.

Les vaches en lactation disposent de 134 logettes recouvertes de matelas et de paille broyée, de 135 places de cornadis avec marche à l'auge et d'une aire d'exercice d'environ 1000 m² en béton rainuré (raclée automatiquement, 6 fois par jour) (Figure 11). Elles ont aussi accès à un parcours extérieur, à certaines périodes de l'année.

Les vaches tarées et les génisses en fin de gestation sont en stabulation libre sur aire paillée avec 36 places de cornadis sur trottoir bétonné et ont accès à un parcours extérieur d'environ 1 ha. Lors de la préparation au vêlage, les animaux sont amenés dans un box situé dans le bâtiment à logettes. Le box de vêlage sert également d'infirmerie.

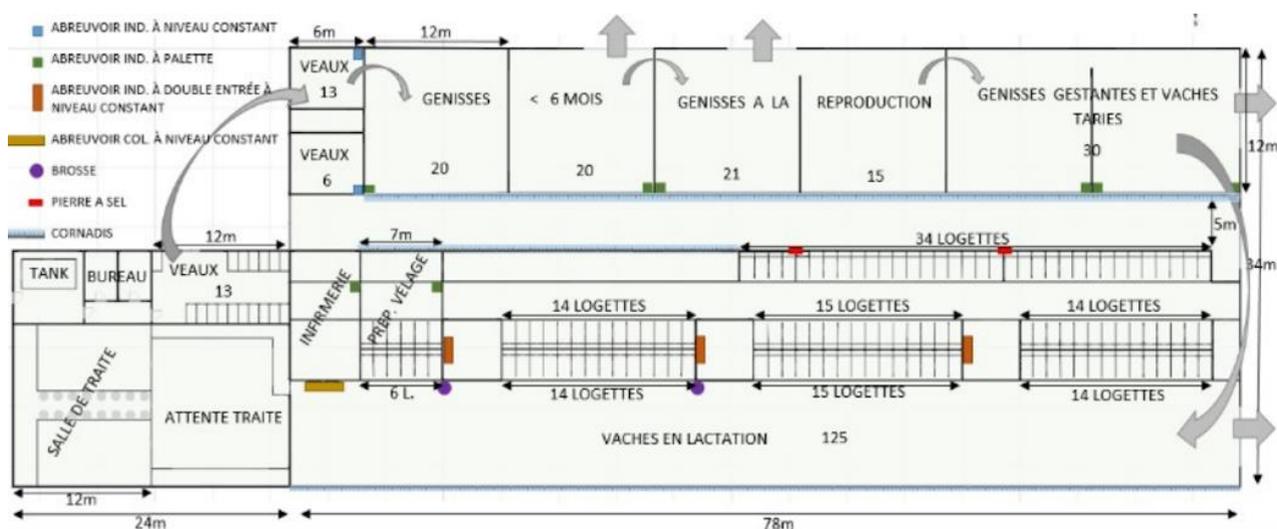


Figure 11 : Plan du bâtiment de l'élevage 2

Source : ENVT, 2021

Les caractéristiques des deux élevages sont résumées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques des deux élevages laitiers inclus dans l'étude

	1	2
Nombre de VL	78	163
% primipares	15	35
Race(s)	66 (88,5%), 46 (11,5%)	66
Mode de reproduction	IA et monte naturelle sur les femelles infertiles	IA exclusif
Rang moyen de lactation	2,5	2,16
% réforme	23	-
Age au premier vêlage (mois)	26	26
Durée du tarissement (j)	57	50
Lait moyen multipares (kg/j)	38,9	36,4
Lait moyen primipares (kg/j)	29,5	32
Lait par jour de vie (kg/VL/j)	12,3	14,1
Lait par jour de traite (kg/VL/j)	24,4	-

Source : d'après bilan globaux Optilait (2020) et Milkup®

La gestion des deux élevages laitiers est relativement similaire même si la production laitière est moins élevée pour l'élevage 1.

Le Tableau 4 décrit les protocoles de prophylaxie sanitaire mis en place, à la fois sur le pré-troupeau et le troupeau laitier. La vaccination contre la BVD dans l'élevage 1 a été initiée en septembre 2020 suite à la détection de veaux positifs par PCR sur des prélèvements de cartilage auriculaire (Juin 2020).

Tableau 4 : Protocoles de prévention sanitaire mis en place dans les deux élevages durant la période de l'étude

Elevage	Vaccination BVD (femelles reproductrices)	Vaccination prévention des entérites néo-natales (femelles gravides)	Prévention entérites néonatales (veaux)	Vermifugation	Aimants	Parages
1	Mucosiffa ND (BVDV-1), 2 mL IM, 1 mois avant mise à la reproduction	Aucune	Aucune	Aucune	Toutes les génisses	2 à 3 fois par an (et curatif au besoin)
2	Non	Bovilis Rotavec Corona ND (rotavirus, coronavirus, E.coli K99), 2mL, IM, 12 à 3 sem pré-partum	Halocur ND (Halofuginone), SID, 7 jours, systématique dès la naissance	Aucune	Non	Tous les 1-2 mois, vaches à tarir

II. Protocole expérimental

Dans le cadre des suivis de reproduction organisés par l'ENVT, les visites sont réalisées mensuellement (élevage 1) ou bimensuellement (élevage 2). La période d'étude s'étale de Mars 2020 à Mars 2022.

Toutes les femelles entre 21 et 34 jours avant la date prévue de mise-bas ont été incluses dans l'étude. Elles ont été suivies selon le protocole expérimental décrit sur la Figure 12.

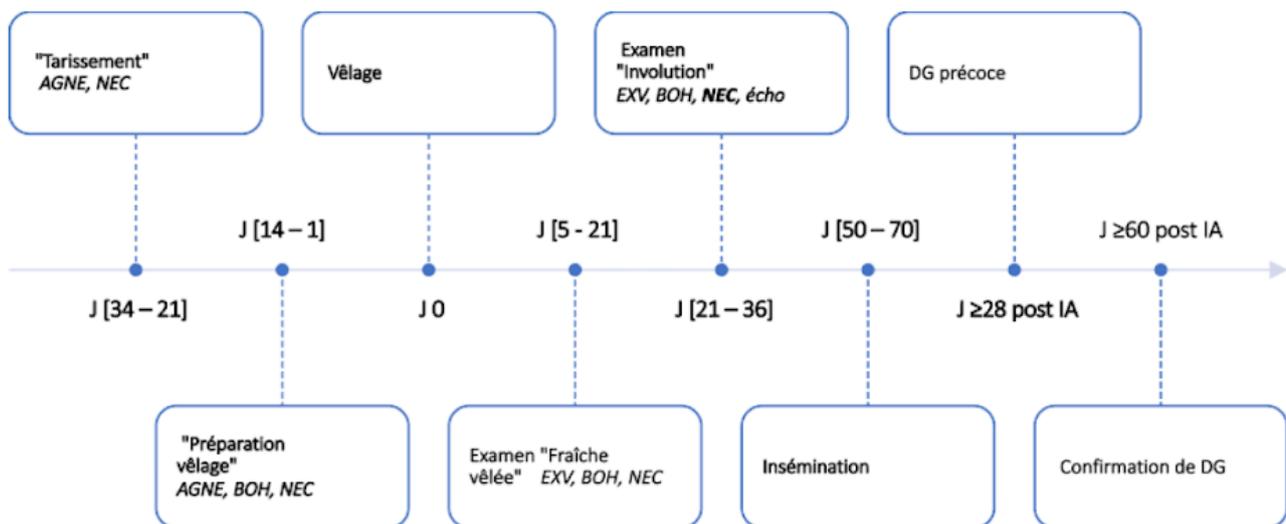


Figure 12 : Séquence chronologique des examens et prélèvements réalisés lors du suivi de reproduction

Légendes : NEC = Note d'état corporel, EXV = Examen vaginaux (glaires), dosage des marqueurs métaboliques (AGNE et BOH), DG = Diagnostic de Gestation (par échographie)
 Les périodes d'examens sont : 34 à 21 jours avant le vêlage ("tarissement"), 14 à 1 jours avant le vêlage ("préparation au vêlage"), 5-21 jours après vêlage ("fraîche vèlée"), 21-36 jours après vêlage ("involution utérine"). Les femelles sont ensuite mises à la reproduction à partir de 60 j post-partum et un DG est réalisé 28 jours après IA et confirmé à la visite suivante.

Cependant, pour certaines femelles, la fréquence des visites n'a pas permis de réaliser l'ensemble des examens et un seul prélèvement sanguin a été réalisé avant la mise-bas. Par ailleurs, compte tenu de la différence entre la date de vêlage prévue et réelle, certaines femelles ont été exclues de l'étude car elles n'ont pas été prélevées ou examinées dans les intervalles adéquats. Les vaches non mises à la

reproduction après le vêlage ou ayant présenté un avortement tardif ont été exclues de l'étude.

A. Procédures expérimentales

1. Examens gynécologiques

La santé utérine a été évaluée par palpation transrectale (diamètre du col, symétrie et consistance des cornes) et examen des sécrétions vaginales, après nettoyage et désinfection de la vulve. Le diagnostic de gestation échographique a été réalisé à partir de 28 jours post-IA et confirmé à la visite suivante. La viabilité embryonnaire ou foetale a été évaluée.

2. Evaluation de l'état corporel

La note d'état corporel (NEC) a été déterminée selon la grille présentée sur la Figure 13. Elles ont été évaluées pendant la période de tarissement pour 291 vaches et en post-partum pour 271 vaches.

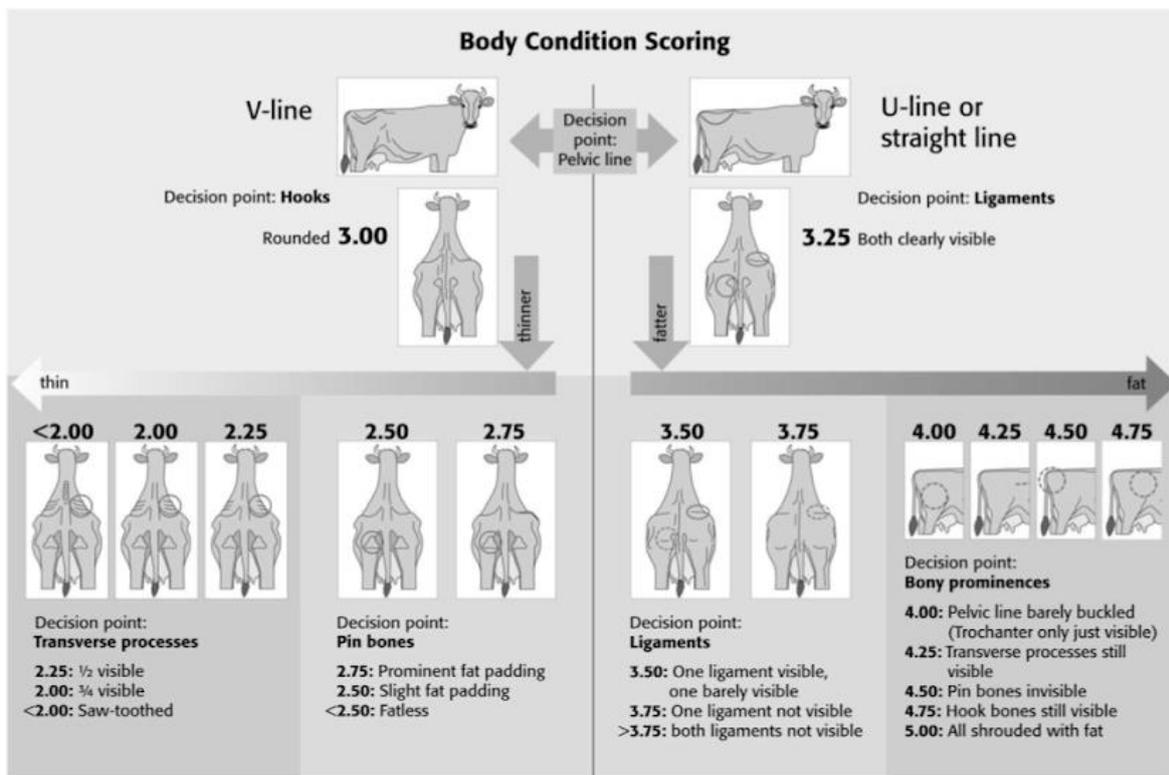


Figure 13 : Grille d'évaluation de la Note d'Etat Corporel (NEC)

Source : Isensee *et al.*, 2014

3. Prélèvements sanguins

Pour le dosage des AGNE, un prélèvement de sang de 2 à 3 mL a été réalisé à la veine coccygienne, dans un tube sec, au cours de la période “tarissement” entre 21 et 34 jours avant vêlage et entre 1 et 14 jours pour la période “préparation au vêlage”. Pour le dosage des BOH, du sang a été prélevé à la veine coccygienne avec une seringue et une aiguille (gauge 21), entre 14 et 1 jours pré-partum (période “préparation au vêlage”) et entre 5 et 36 jours post-partum.

B. Collecte des données

Pour chaque visite, les résultats des examens, les traitements prescrits et/ou administrés sont enregistrés dans le logiciel Milkup ND (version 2022.02.28). L'ensemble de ces informations a ensuite été exporté sur un fichier Microsoft Excel pour toute la période de l'étude. Les informations concernant les pathologies et les traitements ont été enregistrés par l'éleveur dans son carnet sanitaire (via la plateforme Synel ou en version papier).

La base de données Microsoft Excel comprend ainsi, pour chaque vache incluse dans l'étude :

- l'élevage de provenances (1 ou 2),
- le numéro national d'identification,
- le numéro de travail,
- le rang de lactation.

77 vaches ont été suivies sur deux lactations.

Les données enregistrées sont :

- la date de vêlage prévue,
- la date réelle de vêlage,
- les concentrations sériques d'AGNE, les dates de prélèvement et le délai pré-partum,

- les NEC, leurs dates d'évaluation pré-partum et post-partum,
- les concentrations sanguines de BOH, les dates de prélèvement et le délai pré et post-partum,
- l'évaluation de la santé utérine, la date d'examen et le délai post-partum,
- les maladies post-partum (présence ou absence),
- les évènements de reproduction (date et conditions de vêlage, dates des trois premières IA et date de l'IAF),
- la date et la cause de réforme si l'animal est sorti du troupeau au cours de la lactation étudiée.

Les affections utérines ont été définies selon les critères diagnostiques suivants :

- métrite : inflammation de la muqueuse utérine qui survient moins de 21 jours post-partum et qui est caractérisée par un utérus distendu, des écoulements génitaux sanieux ou purulents (> 50 % pus), plus ou moins grumeleux associés à une odeur fétide à nauséabonde [1,10] ;
- endométrite : inflammation de la muqueuse utérine sans symptômes généraux 21 jours ou plus après le vêlage, caractérisée par la présence de sécrétions muco-purulentes (> 25 % de pus), associée éventuellement à une consistance flasque de l'utérus et un diamètre du col augmenté (> 7,5 cm) [1,10].

Les autres pathologies péri-partum (rétention placentaire, fièvre de lait, déplacement de caillette etc.) n'ont pas été enregistrées systématiquement et n'ont donc pas pu être prises en compte.

Pour chaque vache, les paramètres de reproduction suivants ont été calculés :

- intervalle vêlage-IA1,
- intervalle Vêlage -IA fécondant,
- taux de réussite en première IA,
- taux de gestation à 120 jours post-partum.

Ces paramètres sont en effet décrits comme de bons marqueurs des troubles reproductifs [42].

C. Dosage du β -hydroxybutyrate (BOH)

Les concentrations sanguines de β -hydroxybutyrate (BOH) ont été évaluées lors de la préparation au vêlage et pendant la période post-partum, au pied de l'animal avec l'appareil portable Optium Xceed® et les bandelettes Optium beta-cetone® (Abbot Diabete Care Ltd, Witney, Royaume-Uni). La corrélation entre la mesure par l'appareil et la mesure en laboratoire, considérée comme Gold Standard, est de $R = 0,97$ [48].

La vache est considérée en hypercétonémie si la valeur de BOH pré-partum est supérieure à 0,6 mmol/L [30,49] et si celle de BOH post-partum est supérieure à 1,2 mmol/L [45].

Les concentrations de BOH ont été mesurées entre 14 et 1 jours (période "préparation au vêlage") pour 147 femelles et entre 5 et 36 jours post-partum (période "post-partum") pour 267 femelles.

D. Dosage des acides gras non estérifiés (AGNE)

Les échantillons de sang ont été centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 minutes, dans un délai inférieur à 4 heures par rapport au prélèvement. Les sérums ont été conservés à -20°C jusqu'au dosage.

Le dosage des AGNE a été réalisé pour 412 échantillons dont 137 pendant la période "préparation au vêlage" (de 14 à 1 jour pré-partum) et 144 pour la période "tarissement" (soit de 21 à 34 jours pré-partum).

Les concentrations en AGNE sériques ont été mesurées par une méthode colorimétrique validée (ASC-ACOD MEHA, Fujifilm Nefa ®, Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH, Allemagne, Sodobia (France)), selon la procédure du fabricant, adaptée à des microplaques.

La gamme de concentrations mesurées s'étend de 0,01 mmol/L à 4 mmol/L. Le principe de la méthode est le suivant : une réaction d'activation conduit à la formation

d'Acyl-coenzyme A. Ces Acyl-coA sont oxydés en Enoyl-coA et en eau oxygénée. La libération d'eau oxygénée, réduite par la peroxydase, oxyde à son tour un chromogène, en présence de 4-amino-antipyrine et de 3-méthyl-N-éthyl-N-aniline (méthode Wako).

La densité optique est ensuite mesurée par spectrométrie de masse (longueur d'onde 550 nm). Ce résultat est converti en concentration (exprimée en mmol/L) selon la formule suivante :

$$\text{Concentration (mmol/L)} = \frac{DO_{\text{échantillon}} - \text{moyenne } DO_{\text{blanc}}}{\text{moyenne } DO_{\text{standard}} - \text{moyenne } DO_{\text{blanc}}} \times \text{Concentration standard (mmol/L)}$$

Les étapes de mise au point de la méthode de dosage en microplaque sont détaillées en Annexe 1. Les répétabilités intra et inter-dosage ont été évaluées par une analyse de variance (ANOVA) sur 17 dosages et étaient inférieures à 8 % pour les deux contrôles qualité (respectivement 0,53 mmol/L et 0,8 mmol/L).

III. Analyse des données

La description graphique des données a été réalisée avec le logiciel Excel (Microsoft Office Excel 2013). Des tests de Khi2 ont été réalisés pour évaluer les associations entre les différents marqueurs métaboliques ou entre les marqueurs métaboliques et les affections post-partum (maladies utérines et performances de reproduction).

Un test de corrélation de Pearson a permis d'évaluer la relation entre les AGNE, prélevés sur nos deux périodes d'analyses (dans les 34-21 jours pré-partum et les 14-1 jours pré-partum).

Les courbes décrivant le pourcentage cumulée de vaches mises à la reproduction et celles décrivant le pourcentage cumulé de vaches gravides en fonction du délai post-partum ont été comparées pour deux groupes de femelles en fonction du statut métabolique à l'aide d'un test log-rank de Kaplan-Meier.

IV. Résultats et discussion

A. Description de la population

Au total, trois cent trente-deux vaches, provenant de deux troupeaux, ont été incluses dans cette étude. Pour 144, les concentrations d'AGNE ont été mesurées 21 à 34 jours avant le vêlage (période "tarissement"). Pour 137 vaches, elles ont été mesurées entre 14 et 1 jours précédant le vêlage (période "pré-partum"). Les concentrations sanguines de BOH ont été mesurées pendant la période pré-partum pour 147 vaches et en post-partum pour 267 vaches. Les NEC ont été évaluées pendant la période de tarissement pour 291 vaches et en post-partum pour 271 vaches. Le Tableau 5 décrit les différents paramètres mesurés et enregistrés dans la base de données et le nombre d'individus correspondant.

Tableau 5 : Description des paramètres métaboliques évalués sur la population de 332 vaches laitières

	Moyenne \pm écart-type	Médiane	Min	Max	Q1	Q3
Rang lactation (N = 332)	2,33	2	1	8	1	3
NEC pré-partum (N = 291)	3,38 \pm 0,47	3,5	2,25	4,75	3	3,625
BOH pré-partum (N = 147) mmol/L	0,614 \pm 0,23	0,6	0,2	1,2	0,4	0,8
AGNE pré-partum (N = 137) mmol/L	0,179 \pm 0,133	0,136	0,041	0,809	0,099	0,205
AGNE tarissement (N = 144) mmol/L	0,140 \pm 0,101	0,115	0,029	0,591	0,082	0,160
BOH post-partum (N = 267) mmol/L	0,85 \pm 0,55	0,7	0,2	5,3	0,6	1
NEC minimale post-partum (N = 271)	2,77 \pm 0,47	2,75	1,25	4	2,5	3

Légende : NEC = Note d'état corporel ; BOH = concentrations sanguines de β -hydroxybutyrate ; AGNE = concentrations sériques d'Acides gras non estérifiés

NEC pré-partum : de 60 à 5 jours avant vêlage, BOH pré-partum : de 14 à 1 jours avant vêlage, AGNE "pré-partum" (AGNE 1) : de 14 à 1 jours avant vêlage, AGNE "tarissement" (AGNE 2) : de 34 à 21 jours avant vêlage, NEC post-partum : de 20 à 60 jours après vêlage, BOH post-partum : de 5 à 35 jours après vêlage

Les vaches intégrées dans l'étude ont eu en moyenne 2,33 lactations, avec 50 % des femelles entre 1 et 3 lactations. En pré-partum, la NEC ($3,38 \pm 0,47$) est plus élevée qu'en post-partum ($2,77 \pm 0,47$). Cette perte de NEC est liée à la lipomobilisation post-partum due au déficit énergétique du début de lactation.

Les concentrations sanguines moyennes de BOH pré-partum ($0,614 \pm 0,23$ mmol/L) sont relativement élevées par rapport au seuil de 0,6 mmol/L préconisé par Ospina *et al.*, (2010). A l'inverse, les concentrations moyennes de BOH post-partum ($0,85 \pm 0,55$ mmol/L) sont relativement basses et seulement 11,2 % des femelles ont des valeurs de BOH supérieures à 1,2 mmol/L [45], seuil associé à un risque accru de sub-cétose.

Enfin 92,2 % des concentrations sériques d'AGNE sont dans l'intervalle de valeurs physiologiques ($< 0,3$ à $0,6$ mmol/L) [30,44,46,47], que ce soit pour la période tarissement ou pré-partum.

Les Tableaux 6 et 7 décrivent les paramètres de reproduction de la population étudiée, en les comparant aux objectifs classiquement recherchés pour des élevages à production laitière élevée.

Tableau 6 : Description des paramètres de fécondité pour les 290 vaches laitières incluses dans l'étude, par rapport aux objectifs classiquement utilisés pour les élevages à production laitière élevée

	Moyenne \pm écart-type	Médiane	Min	Max	Q1	Q3	Objectifs
IV-IA1 (N = 290) jours	79,7 \pm 25,5	75	23	203	62	92	80
IV-IAF (N = 232) jours	108,7 \pm 49,6	97	44	305	71,7	132,2	100

Légende : IV-IA1 = intervalle vêlage - première IA ; IV-IAF = intervalle vêlage - IA fécondante

Tableau 7 : Description des paramètres de reproduction dans la population d'étude par rapport aux objectifs classiquement utilisés en élevage laitier performant

Reproduction	Réussite IA1	Gravide à 100 j	Gravide à 120 j	Intervalle V-IA1 (> 90 jours)	Intervalle V-IAF (> 120 jours)
Nombre de vaches	116/278	122/290	161/290	83/290	71/232
Pourcentage	41,7 %	42 %	55,5 %	28,6 %	30,6 %
Objectif	≥ 40-50 %	-	> 64 %*	< 20 %	< 20 %

Légende : IV-IA1 = intervalle vêlage - première IA ; IV-IAF = intervalle vêlage - IA fécondante
 *en considérant % gestation > 80 % et % vaches avec un IV-IAF > 120 j < 20 %

Les IV-IA1 et IV-IAF moyens (respectivement 79,7 et 108,7 jours) dans nos troupeaux sont à la limite supérieure des objectifs pour les élevages laitiers à forte production (autour de 70 jours pour l'IV-IA1 et de 100 jours pour l'IV-IAF). Cependant, un fort pourcentage de vaches (28,6 %) a une mise à la reproduction très décalée, au-delà de 90 jours. Le taux de réussite à l'IA1 se situe dans la limite inférieure des objectifs (41,7 % pour un objectif de 40-50%). Il en résulte un taux élevé de vaches fécondées après 120 jours (30,6 %) et un faible pourcentage de vaches mises à la reproduction et gravides à 120 jours (55,5 % ce qui est inférieur à l'objectif de 64 %).

B. Analyse des marqueurs métaboliques

1. Evolution temporelle des marqueurs métaboliques

L'évolution des NEC, à des moments clés (tarissement et pic de lactation), représente un bon indicateur du bilan énergétique même si cette mesure présente une certaine variation inter-opérateur. 56,9 % des vaches ont une NEC pré-partum conforme aux objectifs (3 à 3,5 avant la mise-bas) [50], 21,55 % des vaches ont une NEC pré-partum inférieure à 3 (ce qui représente 25 vaches) et 21,55 % ont une NEC supérieure à 3,5 (soit 25 individus). La Figure 14 représente la répartition des génisses pré-partum et des vaches primipares et multipares tarées en fonction de leur

NEC. Environ 37 % des génisses en fin de gestation sont relativement grasses (NEC > 3,5), alors que cette proportion est de 17 % à 21,5 % pour les vaches tarées.

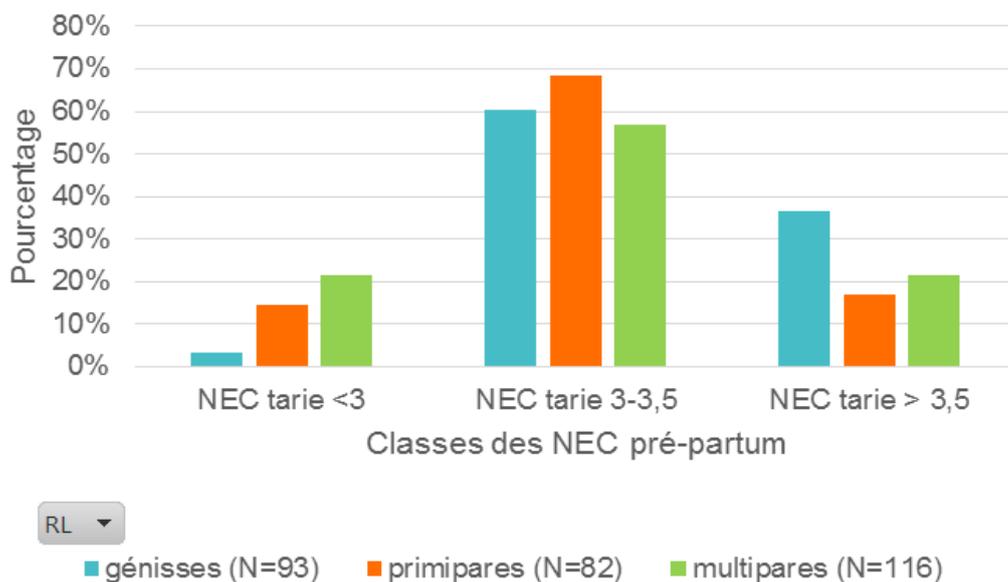


Figure 14 : Répartition des 291 femelles (116 vaches, 82 primipares et 93 génisses) en fonction de leur NEC pré-partum

Légende : NEC = Note d'état corporel

La Figure 15 représente la distribution des vaches selon leur variation de NEC en péri-partum (différence entre la NEC minimale post-partum et la NEC pré-partum). 13,4 % de vaches ont présenté une forte perte de NEC (- 1,25 points ou plus) suggérant un déficit énergétique important, 35,2 % ont une perte modérée (- 0,75 à 1 point de NEC) et 51,4 % ont une perte considérée comme physiologique (- 0,5 point de NEC voire gain) au cours du péri-partum.

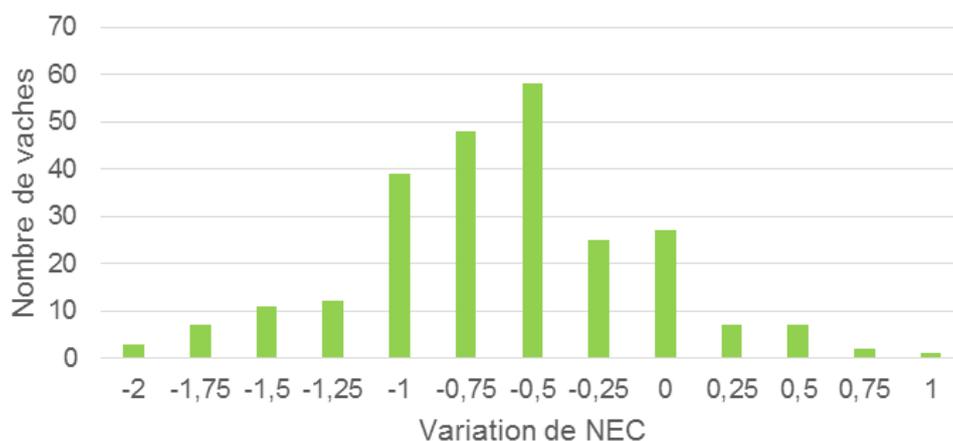


Figure 15 : Répartition des 247 vaches en fonction de leur variation de NEC en péri-partum

Légende : NEC = Note d'état corporel

La Figure 16 représente la distribution des AGNE en fonction du délai pré-partum, pour les deux périodes "préparation au vêlage" et "tarissement". Les valeurs des AGNE sont plus variables dans la période qui se rapproche du vêlage. Pour cette période de préparation au vêlage, 11,7 % des vaches ont une valeur d'AGNE supérieure à 0,3 mmol/L correspondant au seuil au-delà duquel la vache est considérée en état sub-cétosique [30,44], alors que ce pourcentage est beaucoup plus faible (4,5 %) pour la période "tarissement".

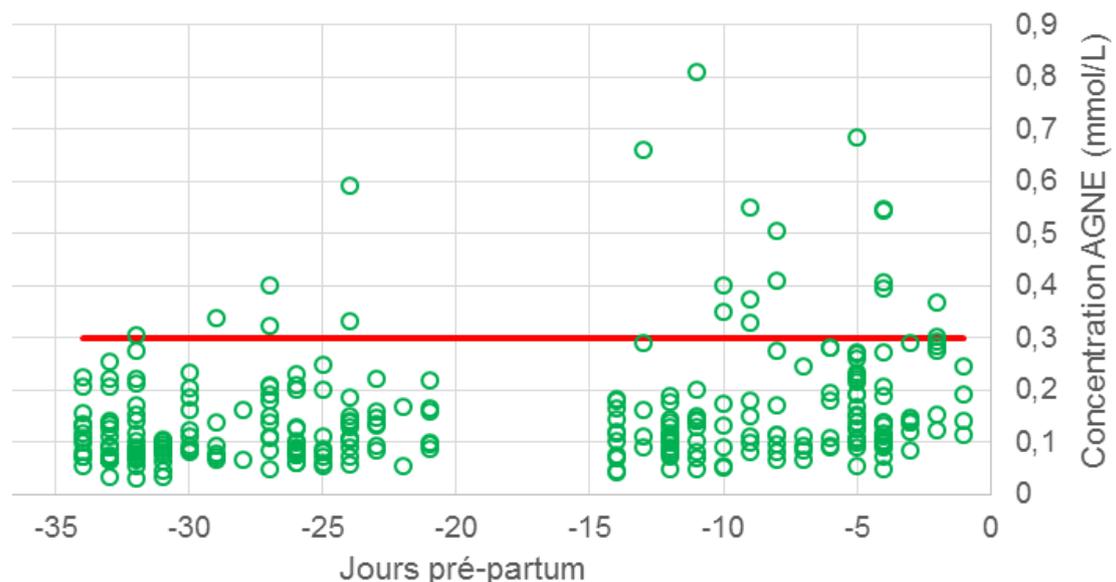


Figure 16 : Distribution des concentrations sériques d'AGNE en fonction du jour pré-partum pour 281 vaches

Légende : Les AGNE (Acides gras non estérifiés) ont été mesurés sur la période "tarissement" (J - [34 ; -21]) et sur la période "préparation au vêlage" (J - [14 ; 1]). La ligne rouge représente le seuil d'AGNE (0,3 mmol/L) au-delà duquel la vache est considérée en état sub-cétosique [30,44].

La Figure 17 représente l'évolution temporelle des concentrations en AGNE pour les 52 vaches pour lesquelles elles ont été mesurées sur les deux périodes "tarissement" ([34 ; 21] jours avant le vêlage) et "préparation au vêlage" ([14 ; 1] jours avant le vêlage). Cette figure montre une augmentation des valeurs d'AGNE au cours des deux périodes d'étude pour 63,4 % des femelles dont 53,8 % ont eu une augmentation supérieure à 25 %. Cette élévation des AGNE pré-partum est cohérente avec l'évolution temporelle physiologique de ces métabolites caractérisée par une augmentation dès 4 semaines pré-partum, jusqu'au moment du vêlage, correspondant au pic.

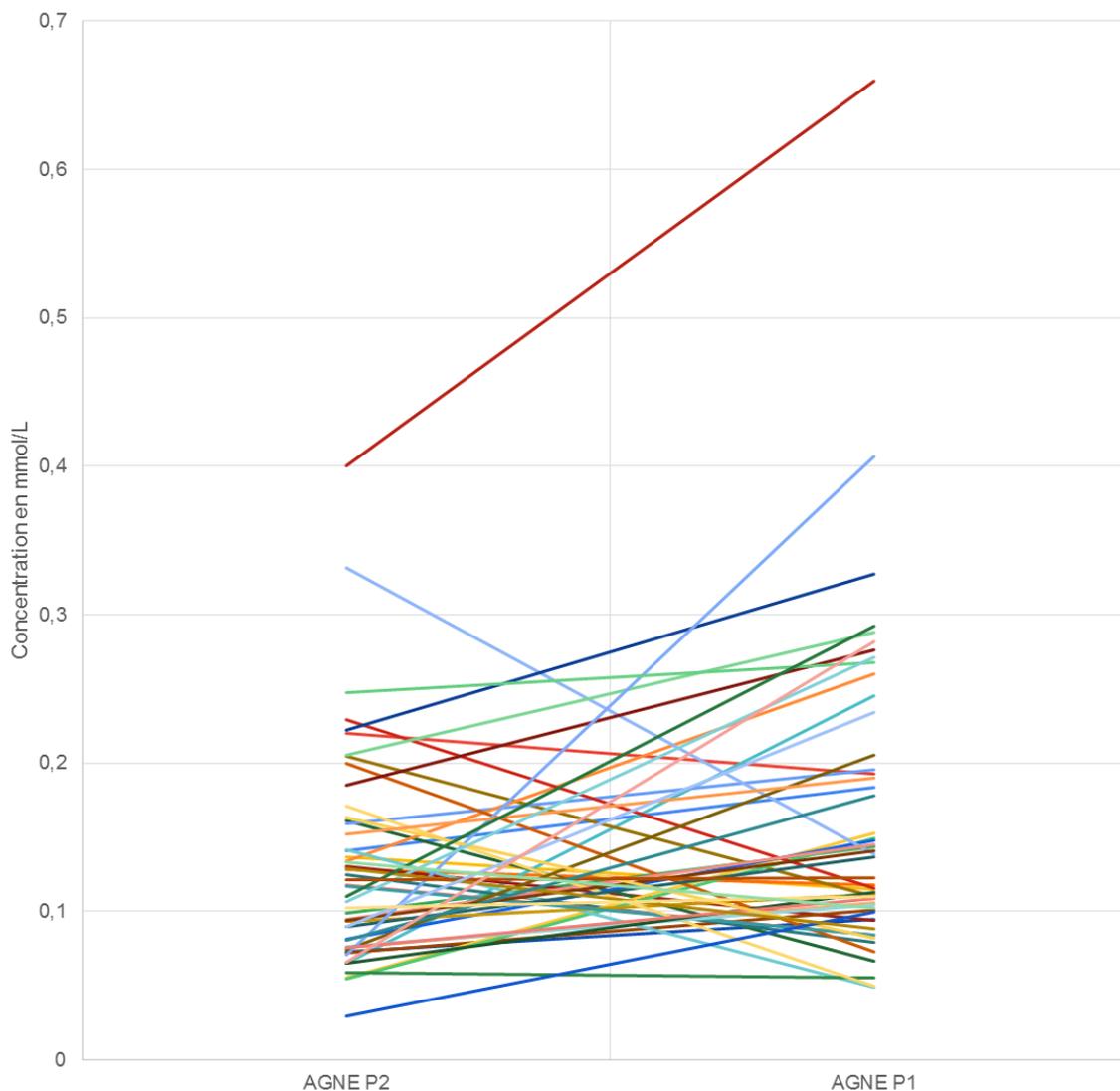


Figure 17 : Évolution temporelle des concentrations d'AGNE entre les deux périodes pré-partum pour 52 vaches

Légendes : AGNE P2 = Acides gras non estérifiés mesurés au cours de la période "tarissement" (J - [34 ; -21]) ; AGNE P1 = Acides gras non estérifiés mesurés sur la période "préparation au vêlage" (J - [14 ; 1])

La répartition des concentrations sanguines en BOH en fonction du délai pré-partum, décrite sur la Figure 18, est assez homogène. En prenant en compte le seuil de 0,6 mmol/L [44], 39,5 % des vaches présentent un risque de sub-cétose pendant la période pré-partum.

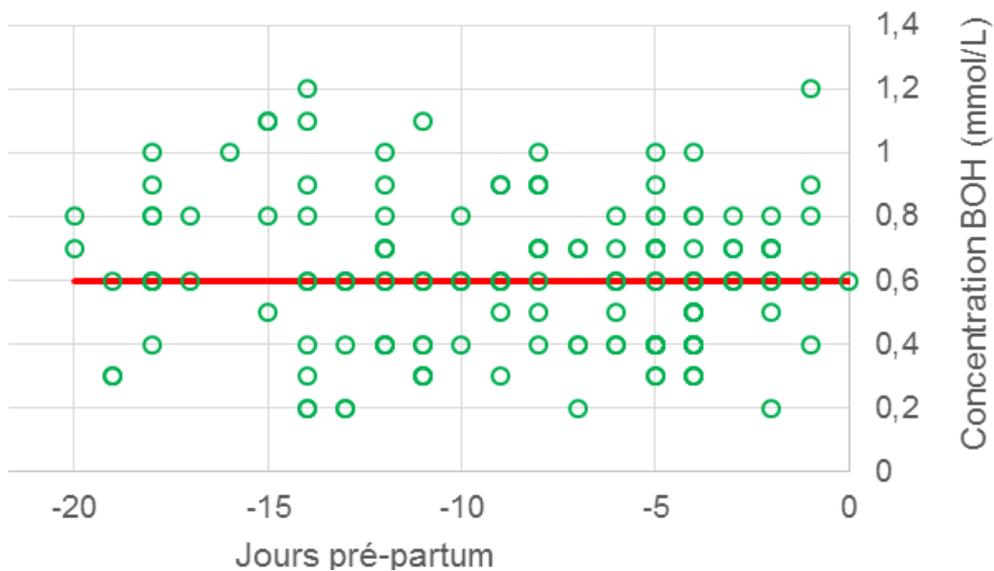


Figure 18 : Répartition des concentrations sanguines de BOH en fonction du délai pré-partum chez 147 vaches

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate. La ligne rouge représente le seuil au-delà duquel la vache est considérée en hypercétonémie (0,6 mmol/L [30,49]).

La Figure 19 représente la distribution des BOH en fonction du délai post-partum. Les BOH post-partum sont plus homogènes dans les 20 premiers jours après le vêlage. En prenant en compte un seuil de 1,2 mmol/L [45], 11,2 % des vaches, soit seulement 31, sont considérées comme étant en hypercétonémie pendant la période post-partum.

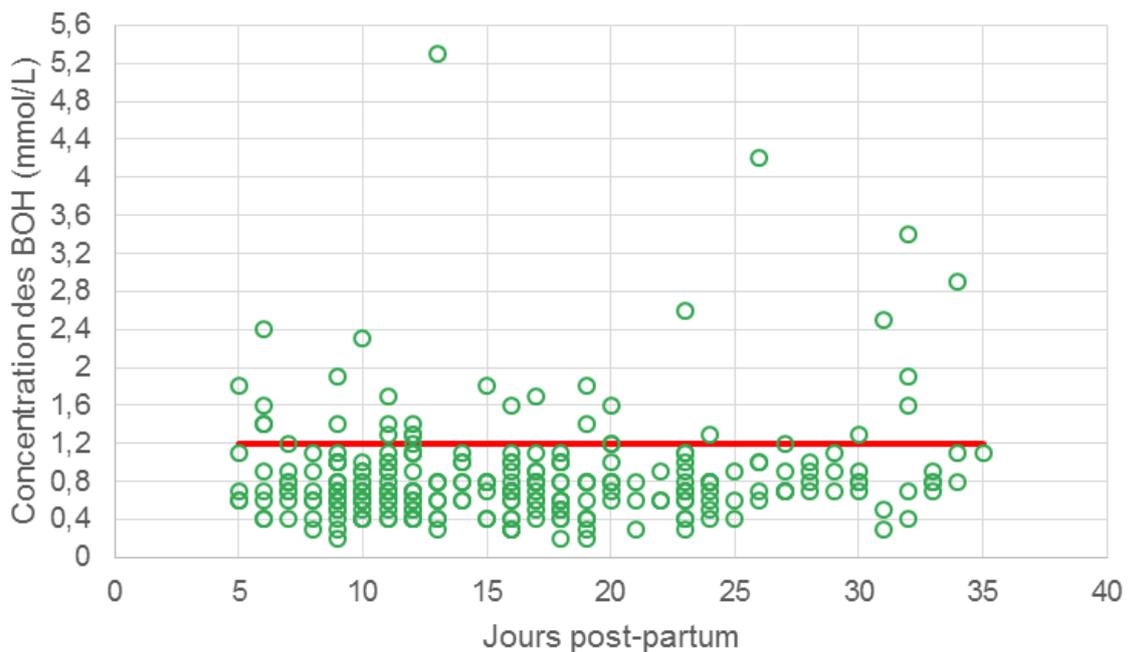


Figure 19 : Répartition des concentrations sanguines de BOH en fonction du délai post-partum pour 267 femelles

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate. La ligne rouge représente le seuil au-delà duquel la vache est considérée en état sub-cétosique (1,2 mmol/L [45]).

Dans notre population, et quel que soit le marqueur métabolique étudié, le pourcentage de vaches dont le statut métabolique est considéré comme anormal n'est pas très élevé. Cela indique globalement une bonne maîtrise de l'alimentation, notamment lors de la préparation au vêlage.

2. Relation entre les différents paramètres métaboliques

Pour évaluer la précocité des AGNE comme marqueurs prédictifs de sub-cétose, la relation entre les concentrations sériques d'AGNE "tarissement" et "préparation au vêlage" a été évaluée pour 52 vaches dont les AGNE ont été mesurées sur ces deux périodes (Figure 20). 67,3 % des femelles ont des valeurs d'AGNE inférieures à 0,2 mmol/L à la fois pour la période "tarissement" et "préparation au vêlage", ce qui signifie que peu de vaches présentaient un état de sub-cétose dans notre population. Seules deux vaches présentaient des valeurs supérieures à 0,3 mmol/L % en "tarissement", dont une avait des valeurs élevées en "préparation au vêlage". Seulement 17 % de la variabilité des AGNE pré-partum peut être expliquée par la variation des AGNE pendant le tarissement (corrélation de Pearson, $p = 0,003$).

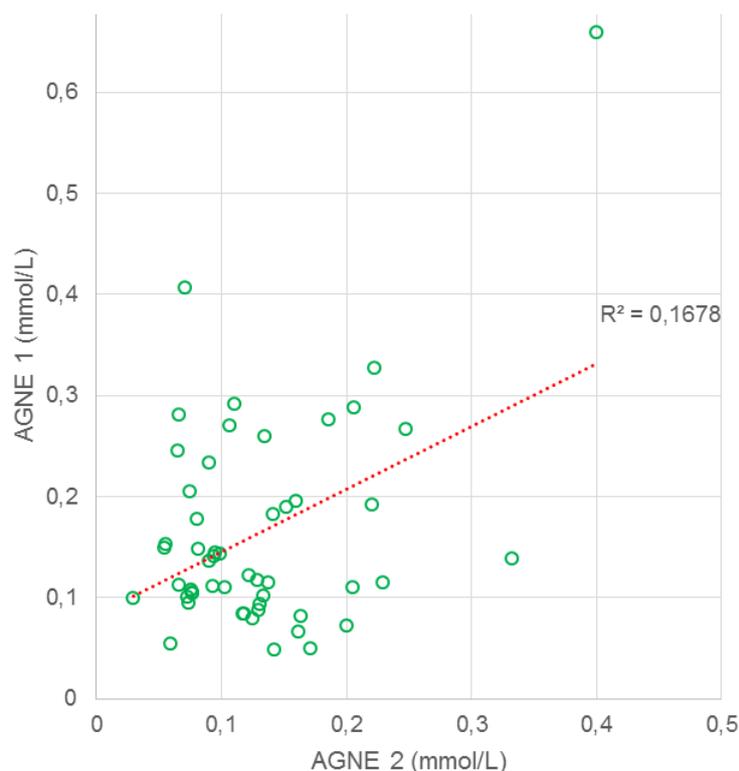


Figure 20 : Relation entre les AGNE mesurés sur la période "préparation au vêlage" ([14 ; 1] jours avant la mise bas) et ceux mesurés sur la période "tarissement" ([34 ; -21]; AGNE 2) pour 52 femelles

Légende : AGNE = Acides gras non estérifiés ; AGNE 1 (mesurés en pré-partum) et 2 (mesurés en tarissement). La ligne pointillée rouge correspond à la droite de régression linéaire entre AGNE 1 et AGNE 2.

Pour comparer le caractère prédictif de l'hypercétonémie des deux marqueurs métaboliques mesurés en pré-partum, la relation entre les BOH et les AGNE a été évaluée pour 114 femelles (Figure 21). Les AGNE étant des précurseurs des BOH, notre hypothèse est que des variations d'AGNE entre 1 à 14 jours pré-partum pourraient être plus précoces que celles des BOH. L'inspection visuelle de la Figure 21 ne montre pas de relation entre ces deux paramètres métaboliques ($R^2 = 0,0568$). Ainsi, 33 femelles ont des valeurs de BOH supérieures à 0,6 mmol/L alors même que leurs concentrations d'AGNE étaient inférieures à 0,2 mmol/L.

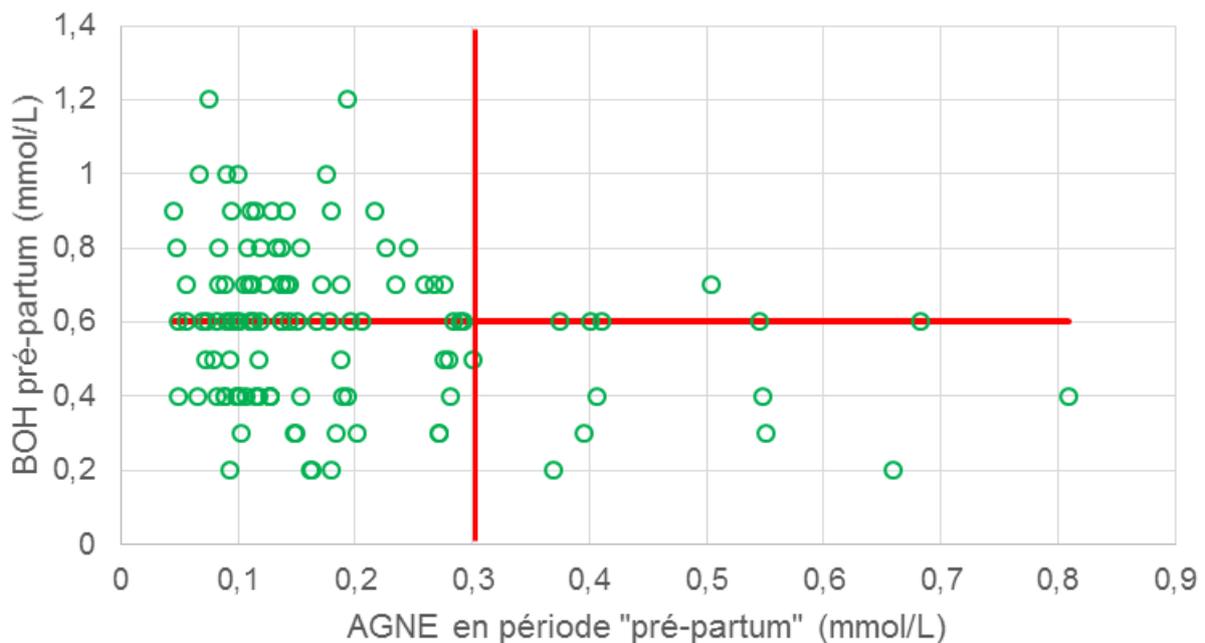


Figure 21 : Relation entre les concentrations sanguines de BOH pré-partum ([14-1] jours pré-partum) et les concentrations sériques d'AGNE pré-partum ([14-1] jours pré-partum) pour 114 vaches ($R^2=0,0568$)

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés. La ligne rouge horizontale indique le seuil des BOH pré-partum de 0,6 mmol/L, et la ligne rouge verticale celui des AGNE pré-partum de 0,3 mmol/L, seuils au-delà desquels la vache est considérée en hypercétonémie [30,44].

Pour évaluer la précocité des BOH comme marqueurs prédictifs de sub-cétose, la relation entre les concentrations sanguines de BOH pré et post-partum a été évaluée pour 129 vaches pour lesquelles les BOH ont été mesurées sur ces deux périodes (Figure 22). La relation entre les BOH pré et post-partum est faible ($R^2 = 0,038$). Toutefois, pour les 16 femelles en hypercétonémie en post-partum (valeurs de BOH post-partum supérieures à 1,2 mmol/L), 13 l'étaient déjà en pré-partum, ce qui

indique que ce marqueur pourrait être utilisé pour mettre en place des mesures préventives vis-à-vis de la sub-cétose.

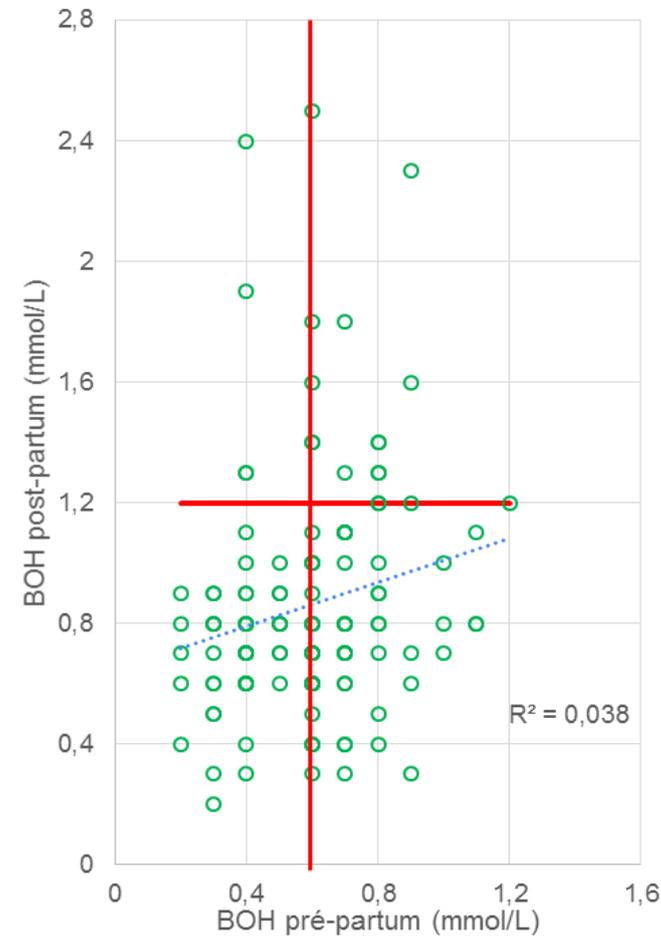


Figure 22 : Relation entre les concentrations sanguines de BOH post-partum ([5 ; 35] jours après la mise bas) et celles mesurées en pré-partum ([14 ; 1] jours avant la mise bas) pour 129 vaches

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate. La ligne pointillée bleue représente la droite de régression linéaire entre BOH pré-partum et BOH post-partum. La ligne rouge horizontale représente le seuil des BOH post-partum de 1,2 mmol/L et la ligne rouge verticale celui des BOH pré-partum de 0,6 mmol/L, seuils au-delà desquels la vache est considérée en état sub-cétosique [45,49].

La Figure 23 représente les concentrations de BOH post-partum en fonction de celles des AGNE pré-partum. L'inspection visuelle ne montre pas de relation entre ces deux paramètres métaboliques ($R^2 = 0,0182$). Cela suggère que la mesure des AGNE pré-partum ne présente pas de valeur prédictive d'un état de sub-cétose post-partum.

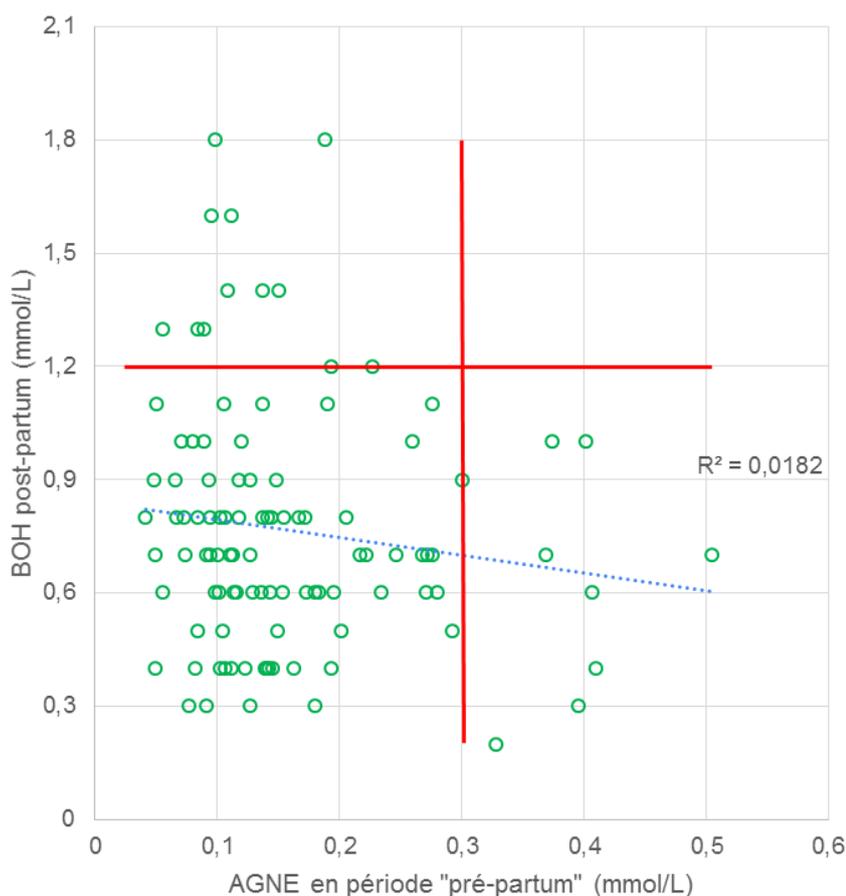


Figure 23 : Relation entre les concentrations de BOH post-partum ([21 ; 36] jours après la mise bas) et d'AGNE pré-partum ([14 ; 1] jours avant la mise bas) pour 103 femelles

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés. La ligne rouge horizontale matérialise le seuil des BOH post-partum de 1,2 mmol/L et la ligne rouge verticale celui des AGNE pré-partum de 0,3 mmol/L, seuils au-delà desquels la vache est considérée en hypercétonémie [44,45].

Le Tableau 8 présente les paramètres métaboliques (BOH pré et post-partum et AGNE pré-partum) en fonction de la perte de NEC. De manière surprenante, pour les trois paramètres métaboliques considérés, il n'y a pas de relation entre la perte d'état corporel et le pourcentage de vaches considérées en hypercétonémie (Khi2, non significatif). Cette association tend toutefois à être significative pour les BOH post-partum (Khi2, $p = 0,1$). Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que la majorité des vaches présente un état corporel correct au tarissement (NEC = [2,5 ; 3,5]) et un faible amaigrissement en début de lactation, en raison d'une bonne maîtrise de la période de transition et de la densité énergétique élevée de la ration des vaches laitières. Par ailleurs, un apport de propylène glycol aux femelles grasses au vêlage ou dont les BOH sont élevées dans le post-partum immédiat, est réalisé de manière systématique dans l'élevage 2.

Tableau 8 : Description des marqueurs métaboliques (BOH pré- et post-partum et AGNE pré-partum) en fonction de la perte d'état corporel

		Importante perte NEC > 1 point	Perte modérée de 0,75-1 point	Perte physiologique (ou gain) ≤ 0,5 point	Test statistique
BOH pré- partum	Moyenne	0,55	0,645	0,601	Khi2, p = 0,254 , NS
	Médiane	0,6	0,6	0,6	
	Ecart type	0,17	0,24	0,24	
	% vaches > 0,6 mmol/L (N = 45)	22,3 %	45 %	37,7 %	
BOH post- partum	Moyenne	0,87	0,93	0,79	Khi2, p = 0,112 , NS
	Médiane	0,7	0,75	0,7	
	Ecart type	0,45	0,78	0,42	
	% vaches > 1,2 mmol/L (N = 26)	20 %	14,3 %	7,5 %	
AGNE pré- partum	Moyenne	0,174	0,157	0,194	Khi2, p = 0,979 , NS
	Médiane	0,115	0,112	0,143	
	Ecart type	0,143	0,110	0,151	
	% vaches > 0,3 mmol/L (N = 13)	14,3 %	32,5 %	12,3 %	

Légende : BOH = β-hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés ; NEC = Note d'état corporel ; NS = non significatif. La perte d'état corporel est évaluée entre le tarissement et la période post-partum pour laquelle la NEC est minimale.

3. Relation entre les marqueurs métaboliques et les performances de reproduction

Les Tableaux 9 et 10 présentent la relation entre les différents paramètres métaboliques et respectivement, la réussite en première IA et le taux de gestation à 120 jours.

Tableau 9 : Relation entre la réussite en première IA et les différents paramètres métaboliques

Paramètres métaboliques		Réussite IA 1		Test statistique
		Succès	Echec	
Variation de NEC	Physiologique ($\leq 0,5$ point) ((N = 110)	42,7 %	57,3 %	Khi2, p = 0,804 , NS
	Modérée (0,75-1 point) (N = 79)	38 %	62 %	
	Importante (>1 point) (N = 25)	40 %	60 %	
BOH pré-partum	0-0,6 mmol/L (N = 77)	53,25 %	46,75 %	Khi2, p = 0,017
	$> 0,6$ mmol/L (N = 52)	30,8 %	69,2 %	
BOH post-partum	0-1,2 mmol/L (N = 203)	41,9 %	58,1 %	Khi 2, p = 0,921 , NS
	$> 1,2$ mmol/L (N = 28)	42,9 %	57,1 %	
AGNE pré-partum	0-0,3 mmol/L (N = 104)	45,2 %	54,8 %	Khi2, p = 0,555 , NS
	$> 0,3$ mmol/L (N = 13)	53,8 %	46,2 %	

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés ; NEC = Note d'état corporel ; NS = non significatif. La variation d'état corporel est évaluée entre le tarissement et la période postpartum pour laquelle la NEC est minimale.

Dans notre étude, les BOH pré-partum élevés ($> 0,6$ mmol/L [44,49]) sont significativement associés à une dégradation de la réussite en IA1 (30,8 % versus 53,25 %, Khi2, $p = 0,017$), alors que cette relation n'est pas observée pour les autres

marqueurs métaboliques (BOH post-partum, AGNE pré-partum et variation de NEC). En revanche, même si la réussite à l'IA1 est diminuée de 3 à 5 % chez les femelles dont la perte de NEC est modérée à importante (> 0,5 point), cette différence n'est pas significative dans notre étude. Ces résultats sont difficiles à interpréter, en raison d'un effectif limité de femelles en hypercétonémie, mais ils pourraient être expliqués, en partie, par une mise à la reproduction différée pour les femelles en amaigrissement important après la période d'attente volontaire. Malgré cela, nos résultats confirment ceux de l'étude de Walsh *et al.* (2007) montrant que les vaches non gravides à la première IA présentaient des concentrations sériques en BOH supérieures à celles des vaches gravides, entre 3 semaines pré-partum et 9 semaines post-partum. Des études sur des populations plus importantes ont montré des effets de la perte d'état corporel en début de lactation sur les performances de reproduction [31,32,42,51], avec notamment une diminution de la réussite à la première IA. En effet, la perte du NEC retarde la reprise de l'activité ovarienne post-partum. En ce qui concerne les AGNE, plusieurs études ont mis en exergue que le taux de gestation dans les 70 jours suivant la période d'attente volontaire était diminué de 19 % lorsque la concentration d'AGNE pré-partum dépassait 0,27 mmol/L (Ospina *et al.* (2010 et 2013)). Ainsi, le délai de mise à la reproduction est important à prendre en compte pour la mise en évidence des effets de cette hypercétonémie péri-partum.

A noter toutefois que d'autres études (comme celle de Chapinal *et al.*, 2012) n'ont pas non plus observé d'association entre les paramètres métaboliques et la fertilité. Malgré un effectif important, de près de 2500 vaches et des mesures répétées des marqueurs métaboliques en pré et post-partum (mesures hebdomadaires entre une semaine précédant et trois semaines suivant le vêlage), cette étude ne montre pas d'association entre des concentrations élevées de BOH (> 0,6 mmol/L en pré-partum et > 1,4 - 1,2 mmol/L en post-partum) ou d'AGNE (> 0,5 mmol/L en pré-partum et > 0,7 - 1 mmol/L en post-partum) et la réussite en première IA.

La Figure 24 représente la relation entre les classes de NEC des vaches tarées ou en préparation au vêlage et la réussite en IA1.

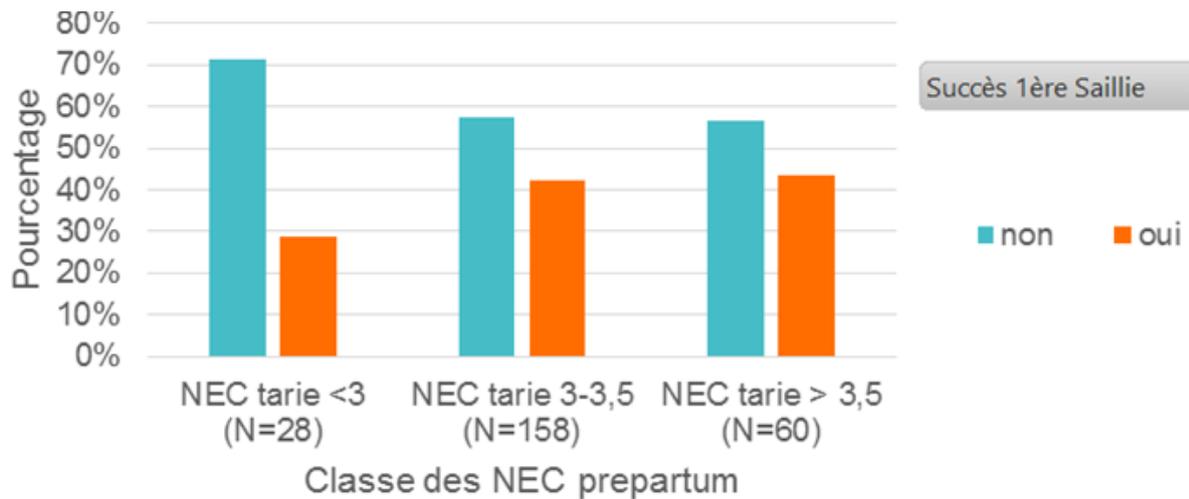


Figure 24 : Relation entre les NEC pré-partum et la réussite à l'IA1 (Khi2 p=0,36)

Légende : NEC = Note d'état corporel, IA1 = première insémination

Même si les femelles présentant des NEC faibles au tarissement (< 3) ont une réussite en IA1 inférieure à celle des femelles dont la NEC est supérieure ou égale à 3 (28,6 % versus 42,4 %), cette différence n'est pas significative (Khi2, p = 0,36). En effet, les vaches maigres au vêlage peuvent plus difficilement mobiliser leurs réserves corporelles, l'énergie étant principalement utilisée pour la lactation, il en résulte une fertilité dégradée [31,32,51].

Le Tableau 10 présente la relation entre les paramètres métaboliques et le taux de gestation à 120 jours post-partum.

Tableau 10 : Relation entre le taux de gestation à 120 jours et les marqueurs métaboliques

Paramètres métaboliques		Taux de gestation à 120 jours	Test statistique
Variation de NEC	Physiologique ($\leq 0,5$ point) (N = 117)	53,0 %	Khi2, p = 0,84 , NS
	Modérée (0,75-1 point) (N = 80)	48,8 %	
	Importante (> 1 point) (N = 27)	51,9 %	
BOH pré-partum	0-0,6 mmol/L (N = 80)	63,8 %	Khi2, p = 0,11 , NS
	$> 0,6$ mmol/L (N = 55)	50,9 %	
BOH post-partum	0-1,2 mmol/L (N = 213)	57,4 %	Khi2, p = 0,51 , NS
	$> 1,2$ mmol/L (N = 28)	50,0 %	
AGNE pré-partum	0-0,3 mmol/L (N = 109)	58,3 %	/
	$> 0,3$ mmol/L (N = 13)	76,9 %	

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés ; NEC = Note d'état corporel ; NS = non significatif. La variation d'état corporel est évaluée entre le tarissement et la période post-partum pour laquelle la NEC est minimale.

Le taux de gestation à 120 jours est diminué de 4 à 14 % chez des femelles considérées en hypercétonémie en pré ou post-partum (valeurs de BOH pré ou post-partum au-dessus des seuils ou amaigrissement modéré). Cependant, compte tenu du faible effectif, ces différences ne sont pas significatives ou tendent vers la signification (BOH pré-partum). Ces résultats vont dans le même sens que ceux

d'études précédentes, montrant que les vaches qui présentaient une élévation des BOH dans les deux premières semaines de lactation avaient des taux de gestation plus faibles [37,47,52].

D'autres études ont mis en lumière une association entre des concentrations sériques élevées d'AGNE en pré-partum et une diminution du taux de gestation à 120 jours [29,47]. Cependant, notre étude ne nous a pas permis d'évaluer l'effet des AGNE sur le taux de gestation à 120 jours post-partum puisque seulement 13 femelles sur 100 avaient des valeurs d'AGNE supérieures au seuil de 0,3 mmol/L.

La Figure 25 présente la courbe décrivant la fréquence cumulée de vaches mises à la reproduction en fonction du délai post-partum pour deux groupes de femelles, en fonction des valeurs de BOH post-partum. Les deux courbes ne sont pas significativement différentes (log-rank test non significatif), ce qui suggère que le délai de mise à la reproduction n'est pas allongé chez les 28 femelles considérées en hypercétosémie (BOH > 1,2 mmol/L). Pourtant, un retard de mise à la reproduction, et notamment un retard de survenue de la première ovulation, a été mis en évidence chez les vaches en hypercétosémie au cours des deux premières semaines post-partum [52,53].

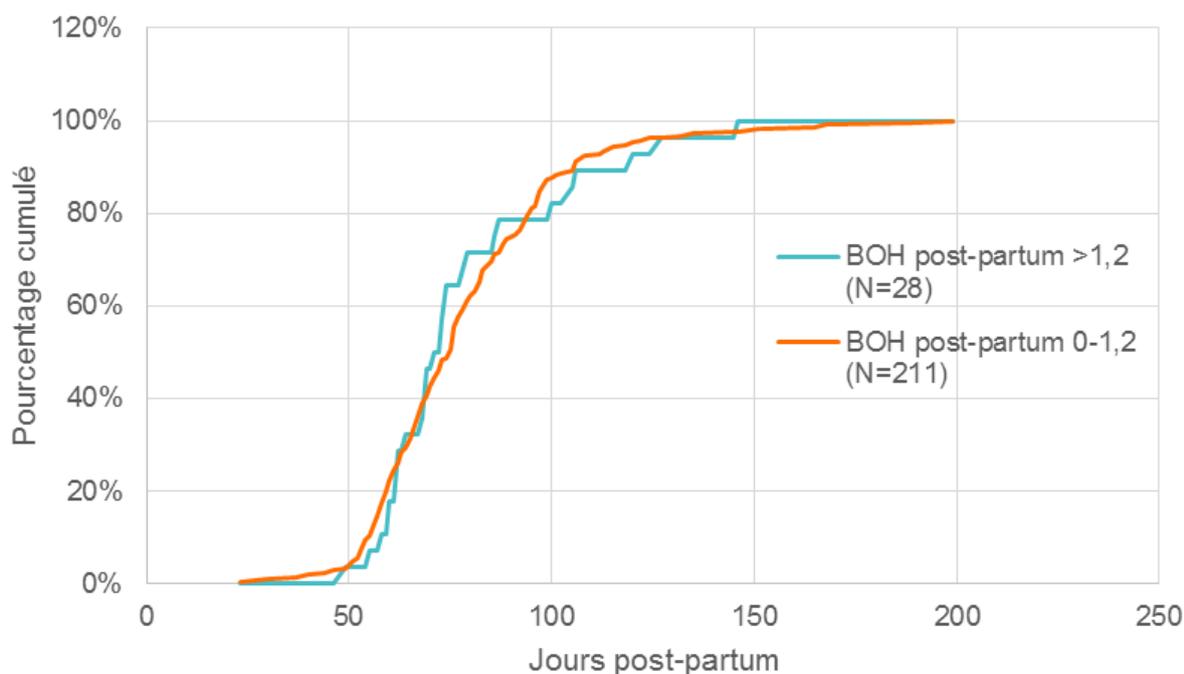


Figure 25 : Pourcentage cumulé de femelles mises à la reproduction en fonction du délai post-partum et pour deux groupes de femelles, selon le seuil de BOH post-partum

Légende : IV-IA1 = intervalle vêlage-première IA, BOH = β -hydroxybutyrate. Le seuil de BOH post-partum au-delà duquel la vache est considérée en état hypercétosique est de 1,2 mmol/L [45].

Le Tableau 11 présente la relation entre les paramètres métaboliques et le délai de mise à la reproduction.

Tableau 11 : Relation entre l'intervalle vêlage-première IA et les différents marqueurs métaboliques

		IV - IA1			Test statistique
		< 70 j	71-90 j	> 90 j	
Variation de NEC	Physiologique ($\leq 0,5$ point) (N = 117)	44,4 %	32,5 %	23,1 %	Khi2, p = 0,23 , NS
	Modérée (0,75-1 point) (N = 80)	32,5 %	30 %	37,5 %	
	Importante (> 1 point) (N = 27)	33,3 %	33,3 %	33,3 %	
BOH pré-partum	0 - 0,6 mmol/L (N = 79)	40,5 %	29,1 %	30,4 %	Khi2, p = 0,572 , NS
	$> 0,6$ mmol/L (N = 55)	49,1 %	27,3 %	23,6 %	
BOH post-partum	0 - 1,2 mmol/L (N = 211)	42,65 %	31,75 %	25,6 %	Khi2, p = 0,881 , NS
	$> 1,2$ mmol/L (N = 28)	46,4 %	32,1 %	21,4 %	
AGNE pré-partum	0 - 0,3 mmol/L (N = 108)	45,4 %	25,9 %	28,7 %	Khi2, p = 0,103 , NS
	$> 0,3$ mmol/L (N = 13)	15,4 %	46,15 %	38,5 %	

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés ; NEC = Note d'état corporel. Chaque métabolite est divisé en deux classes : concentrations physiologiques et élévation (au-delà des seuils de 0,3 mmol/L [44,54] pour les AGNE pré-partum, de 0,6 mmol/L [49,55] pour les BOH pré-partum et de 1,2 mmol/L [45] pour les BOH post-partum). La variation d'état corporel est évaluée entre le tarissement et la période post-partum pour laquelle la NEC est minimale.

L'analyse élargie aux autres paramètres métaboliques (Tableau 11), montre que les vaches dont les AGNE pré-partum sont supérieurs à 0,3 mmol/L et celles dont la NEC a modérément chuté en péri-partum ont des intervalles V-IA1 plus longs. Cette différence tend à être significative pour les AGNE ($p = 0,103$). Ces résultats sont en accord avec ceux d'Ospina *et al.* (2010) qui montrent une dégradation du taux de gestation 70 jours après la période d'attente volontaire de 19 % chez les vaches dont les AGNE pré-partum sont au-delà du seuil de 0,27 mmol/L. Ce résultat est

intéressant, car ce marqueur métabolique précoce, en pré-partum, pourrait permettre aux éleveurs de mettre en place une gestion individualisée du péri-partum, avec des mesures de prévention, comme la distribution de précurseurs du glucose ou de protecteurs hépatiques. En revanche, dans notre étude réalisée sur une population limitée, l'augmentation des BOH pré-partum ($> 0,6$ mmol/L) ou post-partum ($> 1,2$ mmol/L) (Tableau 11), n'a pas modifié le délai de mise à la reproduction (Khi2, $p = 0,572$ et $p = 0,881$), contrairement à ce qui a été rapporté par Reist *et al.* (2000) et Koller *et al.* (2003).

La Figure 26 présente la fréquence cumulée des vaches fécondées en fonction du délai post-partum pour deux groupes de femelles selon leur statut métabolique (normal ou hypercétonémique). Les femelles en hypercétonémie semblent être fécondées plus tardivement, mais ce résultat n'est pas significatif (log-rank test de Kaplan-Meier).

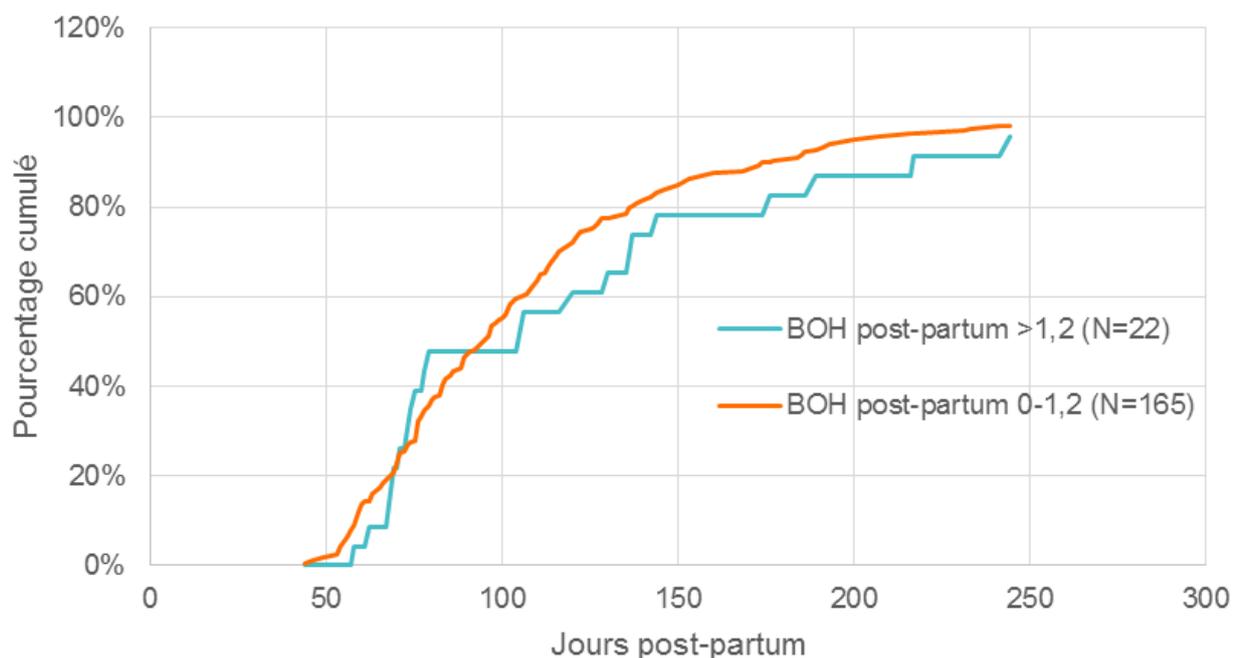


Figure 26 : Pourcentage cumulé de femelles fécondées en fonction du délai post-partum et pour deux groupes de femelles, selon le seuil de BOH post-partum

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate. Le seuil de BOH post-partum au-delà duquel la vache est considérée en état sub-cétosique est de 1,2 mmol/L[45].

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Walsh *et al.* (2007), qui ont montré que des vaches en sub-cétose dans la première ou deuxième semaine post-partum (ou les deux), avaient des délais de fécondation augmentés. Cet effet négatif

de l'hypercétonémie sur la gestation diminue progressivement tout au long de la lactation.

4. Relations entre les marqueurs métaboliques et les affections utérines

Seulement 5 et 28 femelles sur 296 examinées ont été atteintes, respectivement, de métrite ou d'endométrite (soit 10,5 % de la population totale). Cette prévalence est inférieure au seuil d'alerte de 15 - 20 % généralement observé pour les troupeaux laitiers [3,24,56]. Le Tableau 12 présente le pourcentage de femelles présentant une affection utérine en fonction des marqueurs métaboliques du péri-partum.

Tableau 12 : Prévalence des affections utérines post-partum en relation avec les marqueurs métaboliques

		Pourcentage de femelles présentant une affection utérine post-partum	Test statistique
Variation de NEC	Physiologique (\leq 0,5 point) (N = 122)	3,3 %	Khi2, p < 0,001
	Modérée (0,75 - 1 point) (N = 86)	17,4 %	
	Importante ($>$ 1 point) (N = 33)	24,2 %	
BOH pré-partum	0 - 0,6 mmol/L (N = 87)	11,5 %	Khi2, p = 0,03 (correction de Yates)
	$>$ 0,6 mmol/L (N = 49)	0 %	
BOH post-partum	0-1.2 mmol/L (N = 168)	9,01 %	Khi2, p = 0,29 (correction de Yates), NS
	$>$ 1.2 mmol/L (N = 23)	17,2 %	
AGNE pré-partum	0-0,3 mmol/L (N = 105)	9,5 %	Khi2, p = 1 (correction de Yates), NS
	$>$ 0,3 mmol/L (N = 15)	13,3 %	

Légende : BOH = β -hydroxybutyrate ; AGNE = Acides gras non estérifiés ; NEC = Note d'état corporel

Dans notre population, le risque de présenter une affection utérine est significativement associé à la perte de poids en post-partum (Khi2, $p < 0,001$). En revanche, aucune association n'est observée pour les deux autres marqueurs métaboliques étudiés, AGNE pré-partum et BOH post-partum. De façon surprenante, aucune des dix femelles présentant une affection utérine n'était en hypercétonémie pré-partum. Pourtant dans les travaux de Chapinal *et al.* (2011) et de Nicola *et al.* (2022), des concentrations en AGNE pré-partum $> 0,3$ mmol/L étaient associées à un risque accru de métrite post-partum. Une association similaire a été observée pour les endométrites (OR = 9.1) par Kaufmann *et al.* (2010). Dubuc *et al.* (2010) ont également montré qu'une élévation des AGNE, avec un seuil de 0,6 mmol/L, dans la semaine précédant le vêlage ou une perte de NEC importante constituaient des facteurs de risque de survenue d'une métrite clinique.

Par ailleurs, dans plusieurs études (notamment Duffield *et al.* en 2009, Chapinal *et al.* (2012) et Ospina *et al.* (2010)), des concentrations en BOH post-partum $> 1,2$ mmol/L étaient associées à un risque accru d'affections utérines.

V. Discussion générale et perspectives

Notre étude a permis d'évaluer la pertinence de différents marqueurs métaboliques du déficit énergétique pour la prédiction de maladies utérines et des troubles de la reproduction. Pour cela, nous avons appliqué les seuils généralement utilisés dans la littérature pour évaluer un état de déficit énergétique et d'hypercétonémie [29,44,45,54,55] .

Ces études épidémiologiques nécessitent généralement un grand nombre de données (plusieurs milliers). Or, notre étude terrain a été réalisée dans seulement deux élevages (et pour 75 % des effectifs, dans l'élevage 2), et sur une population limitée de 332 femelles. Ces conditions expérimentales limitent la portée de nos résultats et leur application à d'autres systèmes d'élevage laitiers.

A. Choix et limites des conditions expérimentales

1. Périodes d'évaluation du statut métabolique

Le choix des périodes “tarissement” (entre 34 et 21 jours pré-partum) et “préparation au vêlage” (entre 14 et 1 jours pré-partum) a été déterminé à partir d'une étude réalisée au Québec en 2019 dans le cadre de notre stage projet de deuxième année. Pour évaluer le statut métabolique des femelles, au travers de la mesure des AGNE, la période optimale décrite dans la littérature est autour de deux semaines avant le vêlage [54]. C'est la période que nous avons retenue dans notre étude pour évaluer l'impact des AGNE sur les performances de reproduction. Par ailleurs, d'un point de vue pratique, cette fenêtre de préparation au vêlage facilite l'accès aux animaux pour l'évaluation des paramètres métaboliques par le vétérinaire praticien.

Les visites de suivis de reproduction mis en place par l'ENVT sont programmées tous les mois pour le premier élevage et toutes les deux semaines pour le second, et sont généralement plus espacées en juillet-août. De ce fait, les intervalles pré-partum et post-partum pour la mesure des marqueurs métaboliques (BOH, AGNE et NEC), définis dans notre protocole n'ont pas toujours été respectés (AGNE mesurés en périodes tarissement et pré-partum, et BOH en période pré-partum). Il en est de même pour le relevé de NEC sur les vaches tarées ou en préparation au vêlage.

De plus, les prélèvements pré-partum ont été programmés en fonction des dates de vêlages prévus à partir des dates d'IA fécondantes mais les variations physiologiques de durée de gestation ont entraîné des décalages ce qui a conduit à l'exclusion de certaines vaches.

Par ailleurs, certaines vaches en pré-partum n'ont pas pu être prélevées au moment des visites en raison de moyens de contention inadaptés.

Pour toutes ces raisons, pour environ 40 à 60 % des femelles, certains marqueurs métaboliques étaient manquants à certaines périodes et cela a encore limité la puissance de notre étude.

2. Influence de la distribution de la ration sur les paramètres métaboliques

Les concentrations de marqueurs métaboliques varient en fonction du délai de prélèvement par rapport au repas [57]. Ainsi, les concentrations d'AGNE sont plus élevées lorsque la prise de sang est réalisée 1h avant la distribution d'aliment. En revanche, les concentrations de BOH varient peu pour des mesures effectuées 1h avant ou 4h après le repas. Ces variations prandiales des AGNE sériques pourraient biaiser l'interprétation du statut métabolique des femelles [57]. En effet, Quiroz-Rocha *et al.* (2010), montrent que la probabilité d'obtenir une concentration en AGNE $> 0,4$ mmol/L est doublée lorsque la mesure est effectuée 1h avant le repas, ce qui peut conduire à considérer à tort qu'une vache est en déficit énergétique. Dans notre étude, les vaches tarées ou en fin de gestation sont nourries le matin et restent bloquées à la table d'alimentation plusieurs heures avant les prélèvements sanguins. Ceci pourrait expliquer, au moins en partie, les valeurs relativement basses d'AGNE observées dans notre population (pas d'effet prandial). Il serait préférable de réaliser les prélèvements sur les femelles en fin de gestation en tout début de matinée afin de limiter les variations liées au repas.

3. Notation d'état corporel

La NEC est un paramètre peu coûteux et facile à évaluer. Cependant, sa notation semi-quantitative présente une part de subjectivité, notamment dans le cadre de suivis de troupeaux avec des groupes d'étudiants différents pour chaque visite. Néanmoins, les étudiants suivaient une grille de référence de notation de NEC [58] ce qui peut limiter la variabilité inter-opérateur.

Par ailleurs, Broster *et al.* (1998) ont montré que la variabilité inter-opérateur est inférieure à 5 %. Nous pouvons donc considérer que la variabilité inter-opérateur de notation de l'état corporel ne compromet pas l'utilisation des données.

B. Influence des marqueurs métaboliques sur les performances de reproduction

Dans cette étude, différents marqueurs métaboliques ont été utilisés pour évaluer le déficit énergétique, les AGNE en période tarissement et pré-partum, les BOH et les NEC en période pré-partum et post-partum ainsi que les variations de NEC en pré-partum.

Nous avons observé que 11,7 % de vaches en période "préparation au vêlage" ont des concentrations sériques en AGNE supérieures au seuil de 0,3 mmol/L, généralement retenu dans la littérature [30,44] et seulement 4,5 % en période "tarissement". En outre, une augmentation des AGNE est observée au cours du tarissement sur les deux tiers des 52 femelles pour lesquelles les mesures d'AGNE ont été réalisées à ces deux périodes. Par ailleurs, 17 % de la variabilité des AGNE pré-partum est expliquée par la variation des AGNE tarissement. Pour toutes ces raisons, nous n'avons retenu que les AGNE pré-partum pour évaluer leur effet sur les performances de reproduction.

Peu d'études ont évalué des seuils de référence pour les BOH pré-partum (Ospina *et al.*, 2013). En prenant en compte un seuil de 0,6 mmol/L, nous avons un pourcentage élevé (39,5 %) de femelles qui peuvent être considérées en hypercétonémie, ce qui n'est pas cohérent avec les autres marqueurs métaboliques (perte de NEC > 1 point : 13,4 %; AGNE pré-partum > 0,3 mmol/L : 11,7 % ; BOH post-partum > 1,2 mmol/L : 11,2 % des femelles). Cela signifie que ce marqueur métabolique pré-partum avec un seuil relativement bas de 0,6 mmol/L, est plus sensible, mais moins spécifique pour détecter les femelles en hypercétonémie, comparativement aux autres marqueurs étudiés. Ainsi, la majorité des femelles qui avaient des BOH élevés en post-partum étaient en hypercétonémie en pré-partum, alors que seulement un tiers des femelles avec des BOH pré-partum supérieurs à 0,6 mmol/L étaient en hypercétonémie en post-partum. Toutefois, les femelles qui présentaient des concentrations de BOH pré-partum au-dessus de ce seuil ont vu leur fertilité significativement dégradée. Ce marqueur précoce permettrait donc de mettre en place des mesures préventives au moment de la préparation au vêlage

ciblées sur les femelles à risque de développer une hypercétonémie. Des données sur de plus grands effectifs nous permettraient d'évaluer le seuil permettant de prédire avec une bonne sensibilité et spécificité les femelles qui présentent un risque élevé de dégradation des performances de reproduction.

Nous n'avons pas observé de lien entre les concentrations sériques d'AGNE pré-partum et les BOH post-partum. Cette observation est surprenante car les BOH proviennent de l'oxydation hépatique des AGNE et leur augmentation dans le sang devrait être consécutive à celle des AGNE. En examinant les valeurs d'AGNE $> 0,3$ mmol/L et pour lesquelles les valeurs de BOH sont inférieures au seuil de 1,2 mmol/L, on remarque que 9 vaches sur 14 ont un délai entre la mesure des AGNE et celle des BOH ≥ 27 jours. Cette hypercétonémie transitoire pourrait être liée à un rétablissement rapide de l'équilibre énergétique en post-partum.

Enfin, nous avons observé qu'un quart de la population de vaches taries ou en fin de gestation présente une NEC $> 3,5$ alors que la NEC optimale se situe entre 2,5 et 3,5 [50]. En fait, les femelles présentant un embonpoint excessif sont majoritairement des génisses. Après le vêlage, elles présentent des besoins énergétiques importants, à la fois pour leur croissance et leur lactation. Elles sont donc particulièrement à risque de perdre de l'état en début de lactation et de développer des troubles liés à une trop forte lipomobilisation.

C. Intérêts des marqueurs métaboliques dans le suivi de reproduction

Malgré des effectifs limités, notre étude a montré que les marqueurs métaboliques étudiés (excepté les AGNE « tarissement ») étaient associés à une altération de la reproduction. Les femelles présentant un déficit énergétique pré-partum marqué, caractérisé par une augmentation des AGNE, sont mises à la reproduction plus tardivement. De plus, la réussite en IA1 est diminuée pour les femelles en hypercétonémie pré-partum, caractérisée par une augmentation des BOH. Il en résulte une dégradation du taux de gestation à 120 jours. De manière logique, on

pouvait s'attendre à observer des relations plus fortes entre ces paramètres métaboliques et donc des associations multiples entre les paramètres métaboliques et les performances de reproduction. Cela n'a pas été le cas, en raison probablement des faibles effectifs de la population étudiée.

Les deux élevages inclus dans notre étude sont relativement représentatifs des élevages laitiers français, avec la race Holstein dominante, une taille de troupeau entre 60 et 120 vaches laitières et une production entre 8000-10000 kg lait/an [59,60].

Le type de ration, complète ou semi-complète à base d'ensilages, dont l'ensilage de maïs, est également très répandu dans ces élevages laitiers spécialisés. Par ailleurs, ces deux élevages en suivi ont une bonne maîtrise de leur alimentation et en particulier de la période de transition, ce qui explique sans doute, les faibles pourcentages de femelles en déficit énergétique ou en hypercétonémie.

Ces résultats doivent donc être confortés sur de plus grands effectifs et sur des systèmes d'élevage différents, avec notamment des périodes de pâturage.

Quoi qu'il en soit, notre étude a renforcé la pertinence de ces indicateurs métaboliques, notamment des BOH pré-partum, dont les intérêts et limites sont résumés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Intérêts et limites d'utilisation des indicateurs métaboliques pour évaluer le déficit énergétique et relation avec les paramètres de reproduction

	AGNE	BOH	NEC
Praticité	Laboratoire d'analyse, résultats en quelques jours ou au cabinet	Rapide, au chevet de l'animal	Immédiat, simple
Prix	Dosage au cabinet, méthode Vetphotometer ND : ≈ 5€ / échantillon	2 € / test (Optium Xceed® et bandelettes)	Nul, temps passé
Indicateur de l'amaigrissement péri-partum	/	BOH post-partum : relation modérée	/
Impact sur les performances de reproduction	Tendance à une augmentation de l'IV-IA1	BOH pré-partum : diminution de la fertilité (réussite en IA1 et taux de gestation)	/
Impact sur les affections utérines	/	/	Augmentation des métrites et endométrites
Résultats de la littérature	[33–35,38,43,45]	[36,43,45,49,49]	[31,32,35]

Légende : AGNE = acides gras non estérifiés ; BOH = β -hydroxybutyrate ; NEC = Note d'état corporel

Les deux marqueurs métaboliques les plus simples d'utilisation sont la NEC et les BOH, car ils sont mesurés au pied de l'animal et peu coûteux. Les BOH post-partum sont associés à l'amaigrissement post-partum. Les BOH pré-partum sont les indicateurs métaboliques les plus précoces, associés à une dégradation des performances de reproduction, et sont économiquement intéressants [61].

Conclusion

L'objectif de notre étude était d'évaluer le caractère prédictif de plusieurs indicateurs métaboliques vis-à-vis des troubles de la reproduction. En effet, être en capacité de prédire le risque de survenue de ces troubles pourrait permettre un suivi plus ciblé et une meilleure prise en charge des animaux par les éleveurs et les vétérinaires. Les indicateurs métaboliques évalués dans cette étude sont les concentrations sériques en acides gras non estérifiés (AGNE) et en β -hydroxybutyrate (BOH) ainsi que la variation de NEC au cours du péri-partum.

Nous avons ainsi mis en évidence des associations entre les marqueurs métaboliques et la fertilité. La réussite en première IA et le taux de gestation à 120 jours sont dégradés et la prévalence des affections utérines est augmentée chez les vaches présentant des concentrations sériques en BOH pré-partum $> 0,6$ mmol/L. Par ailleurs, les vaches dont les AGNE pré-partum sont $> 0,3$ mmol/L présentent des intervalles vêlage-IA1 plus longs que celles dont les AGNE sont compris entre 0 et 0,3 mmol/L. Ces résultats sont assez inédits, car peu d'études s'intéressent à la relation entre les AGNE pré-partum et le délai de mise à la reproduction.

Enfin, une association significative a été mise en évidence entre la perte de NEC en péri-partum et la survenue d'affections utérines chez les vaches.

Les BOH pré-partum constituent donc un marqueur précoce et sensible pour détecter une hypercétonémie, qui entraîne une dégradation des performances de reproduction. Le suivi de cet indicateur permettra de mettre en œuvre des mesures préventives (administration de propylène glycol par exemple) afin de limiter les répercussions du déficit énergétique sur la reproduction.

Références bibliographiques

1. Dubuc, J.; LeBlanc, S.J. Définition et Diagnostic Des Endométrites Post-Partum Chez La Vache Laitière. *Journal of dairy science* **2011**, Vol.93, p.5225-5233.
2. Santos, J.; Bisinotto, R.; Ribeiro, E.; Lima, F.; Greco, L.; Staples, C.; Thatcher, W. Applying Nutrition and Physiology to Improve Reproduction in Dairy Cattle. **2010**, 18.
3. Santos, J.E.P.; Ribeiro, E.S. Impact of Animal Health on Reproduction of Dairy Cows. **2014**, 16.
4. Carvalho, M.R.; Peñagaricano, F.; Santos, J.E.P.; DeVries, T.J.; McBride, B.W.; Ribeiro, E.S. Long-Term Effects of Postpartum Clinical Disease on Milk Production, Reproduction, and Culling of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2019**, 102, 11701–11717, doi:10.3168/jds.2019-17025.
5. Relations Entre Alimentation et Fertilité : Actualités Available online: <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-227/rerelations-entre-alimentation-et-fertilite-actualites.html> (accessed on 1 August 2022).
6. Drackley, J.K. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: The Final Frontier? *Journal of Dairy Science* **1999**, 82, 2259–2273, doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3.
7. Salat O. Les Troubles Du Péripartum de La Vache Laitière : Risques Associés et Moyens de Contrôle. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* **2005**, 158, 153–160, doi:10.4267/2042/47763.
8. Douglas, G. N.; Drackley, J.K ; Overton, T.R. and Bateman, H.G. Lipid Metabolism and Production by Holstein Cows Fed Control or High Fat Diets at Restricted or Ad Libitum Intakes during the Dry Period. *Journal of Dairy Science* **1998**, 81.
9. Lean, I. Bovine Ketosis : A Review. *Veterinary Bulletin* **1992**, 62, 2–13.
10. Sheldon I.M.; Lewis, G.S.; LeBlanc S. J.; Gilbert, R.O, Defining Postpartum Uterine Disease in Cattle. *Theriogenology* **2006**, 1516, 8/65.
11. Kim, I.H.; Na, K.J.; Yang, M.P. Immune Responses during the Peripartum Period in Dairy Cows with Postpartum Endometritis. *J. Reprod. Dev.* **2005**, 51, 757–764, doi:10.1262/jrd.17036.
12. Zerbe, H.; Schneider, N.; Leibold, W.; Wensing, T.; Kruip, T.A.M.; Schuberth, H.J. Altered Functional and Immunophenotypical Properties of Neutrophilic Granulocytes in Postpartum Cows Associated with Fatty Liver. *Theriogenology* **2000**, 54, 771–786, doi:10.1016/S0093-691X(00)00389-7.
13. Kimura, K.; Goff, J.P.; Kehrl, M.E.; Reinhardt, T.A. Decreased Neutrophil Function as a Cause of Retained Placenta in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* **2002**, 85, 544–550, doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74107-6.
14. Hammon, D.S.; Evjen, I.M.; Dhiman, T.R.; Goff, J.P.; Walters, J.L. Neutrophil Function and Energy Status in Holstein Cows with Uterine Health Disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **2006**, 113, 21–29, doi:10.1016/j.vetimm.2006.03.022.
15. Yervant, M. Carence En Vitamine A Chez Les Bovins : Étude Bibliographique et Clinique. Thèse d'exercice - Médecine vétérinaire, ENVT: Toulouse 3, 2009.
16. Wolter, R. Besoins Vitaminiques Des Ruminants. *INRA Productions Animales* **1988**, 1, 311–318.
17. LeBlanc, S.J.; Herdt, T.H.; Seymour, W.M.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E. Peripartum Serum Vitamin E, Retinol, and Beta-Carotene in Dairy Cattle and Their Associations with Disease. *Journal of Dairy Science* **2004**, 87, 609–619, doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73203-8.
18. Drackley, J.K.; Dann, H.M.; Douglas, N.; Guretzky, N.A.J.; Litherland, N.B.; Underwood, J.P.; Looor, J.J. Physiological and Pathological Adaptations in Dairy Cows That May Increase Susceptibility to Periparturient Diseases and Disorders. *Italian Journal of Animal Science* **2005**, 4, 323–344, doi:10.4081/ijas.2005.323.
19. Caixeta, L.S.; Ospina, P.A.; Capel, M.B.; Nydam, D.V. Association between Subclinical Hypocalcemia in the First 3 Days of Lactation and Reproductive Performance of Dairy Cows. *Theriogenology* **2017**, 94, 1–7, doi:10.1016/j.theriogenology.2017.01.039.

20. Kimura, K.; Reinhardt, T.A.; Goff, J.P. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *J Dairy Sci* **2006**, *89*, 2588–2595, doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9.
21. Heppelmann, M.; Krach, K.; Krueger, L.; Benz, P.; Herzog, K.; Piechotta, M.; Hoedemaker, M.; Bollwein, H. The Effect of Metritis and Subclinical Hypocalcemia on Uterine Involution in Dairy Cows Evaluated by Sonomicrometry. *J Reprod Dev* **2015**, *61*, 565–569, doi:10.1262/jrd.2015-015.
22. Deguillaume, L. L'inflammation Génitale Post-Partum de La Vache. **2010**, 416.
23. C. Ster, M.-C.L.; P. Lacasse Effect of Postcalving Serum Nonesterified Fatty Acids Concentration on the Functionality of Bovine Immune Cells. *Journal Dairy Science* **2012**, *95*, 708–717, doi:10.3168/jds.2011-4695.
24. LeBlanc, S.J.; Osawa, T.; Dubuc, J. Reproductive Tract Defense and Disease in Postpartum Dairy Cows. *Theriogenology* **2011**, *76*, 1610–1618, doi:10.1016/j.theriogenology.2011.07.017.
25. Suthar, V.S.; Canelas-Raposo, J.; Deniz, A.; Heuwieser, W. Prevalence of Subclinical Ketosis and Relationships with Postpartum Diseases in European Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2013**, *96*, 2925–2938, doi:10.3168/jds.2012-6035.
26. Overton, M.; Fetrow, J. Economics of Postpartum Uterine Health. *Dairy Cattle Reproduction Council Annual Meeting and Convention* **2008**, 39–43.
27. Pérez-Báez, J.; Silva, T.V.; Risco, C.A.; Chebel, R.C.; Cunha, F.; De Vries, A.; Santos, J.E.P.; Lima, F.S.; Pinedo, P.; Schuenemann, G.M.; et al. The Economic Cost of Metritis in Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* **2021**, *104*, 3158–3168, doi:10.3168/jds.2020-19125.
28. Reist, M. Erdin, D.; Von Euw, D.; Tschuemperlin, K.; Leuenberger, H.; Chilliard, Y.; Hammon, H.M.; Morel, C.; Philipona, C.; Zbinden, Y.; Kuenzi, N.; Blum, Y.W. Estimation of Energy Balance at the Individual and Herd Level Using Blood and Milk Traits in High-Yielding Dairy Cows. *Journal of dairy science* **2002**, *85*, 3314–3327.
29. Ospina, P.A.; McArt, J.A.; Overton, T.R.; Nydam, D.V. Using NEFA and BHB Concentrations during the Transition Period for Herd-Level Monitoring of Increased Risk of Disease and Decreased Reproductive and Milking Performance. *Vet Clin Food Anim* **2013**, *29*, 387–412, doi:10.1016/j.cvfa.2013.04.003.
30. Chapinal, N.; Carson, M.; Duffield, J.F.; Capel, M.; Godden, S.; Overton, M.; Santos, J.E.P.; LeBlanc, S.J. The Association of Serum Metabolites with Clinical Disease during the Transition Period. *Journal of Dairy Science* **2011**, *94*, 4897–4903, doi:10.3168/jds.2010-4075.
31. Barletta, R.V.; Maturana Filho, M.; Carvalho, P.D.; Del Valle, T.A.; Netto, A.S.; Rennó, F.P.; Mingoti, R.D.; Gandra, J.R.; Mourão, G.B.; Fricke, P.M.; et al. Association of Changes among Body Condition Score during the Transition Period with NEFA and BHBA Concentrations, Milk Production, Fertility, and Health of Holstein Cows. *Theriogenology* **2017**, *104*, 30–36, doi:10.1016/j.theriogenology.2017.07.030.
32. Gillund, P.; Reksen, O.; Gröhn, Y.T.; Karlberg, K. Body Condition Related to Ketosis and Reproductive Performance in Norwegian Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2001**, *84*, 1390–1396, doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)70170-1.
33. Butler, W. Nutrition, Negative Energy Balance and Fertility in the Postpartum Dairy Cow. *Cattle Practice* **2005**, *13*, 13–18.
34. Esposito G.; Irons, P.C.; Webb, E.C.; Chapwanya, A. Interactions between Negative Energy Balance, Metabolic Diseases, Uterine Health and Immune Response in Transition Dairy Cows. *Animal Reproduction Science* **2014**, *144*, 60–71.
35. Wathes, D.C.; Fenwick, M.; Cheng, Z.; Bourne, N.; Llewellyn, S.; Morris, D.G.; Kenny, D.; Murphy, J.; Fitzpatrick, R. Influence of Negative Energy Balance on Cyclicity and Fertility in the High Producing Dairy Cow. *Theriogenology* **2007**, *68*, 232–241, doi:10.1016/j.theriogenology.2007.04.006.
36. Jorritsma, R.; Wensing, T.; Kruij, T.A.M.; Vos, P.L.A.M.; Noordhuizen, J.P.T.M. Metabolic Changes in Early Lactation and Impaired Reproductive Performance in Dairy Cows. *Vet. Res.* **2003**, *34*, 11–26, doi:10.1051/vetres:2002054.

37. Chastant-Maillard, S.; Saby, C.; Zhang, W.; Fournier, R.; Servien, R.; Vialaneix, N. Reprise Atypique de La Cyclicité Ovarienne Chez La Vache Laitière : Une Forte Association Avec La Cétose. *Le point vétérinaire* **2019**, *393*, 56–60.
38. Dubuc, J.; LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. Risk Factors for Postpartum Uterine Diseases in Dairy Cows. *Journal of dairy science* **2010**, *Vol.93*, p.5764-5771.
39. Nicola, I.; Chupin, H.; Roy, J.; Buczinski, S.; Fauteux, V.; Hagen-Picard, N.; Cue, R.; Dubuc, J. Association between Prepartum Non-Esterified Fatty Acids Serum Concentrations and Postpartum Diseases in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2022**.
40. Kaufmann, T.B.; Drillich, M.; Tenhagen, B.A.; Heuweiser, W. et al. Correlations between Periparturient Serum Concentrations of Non Esterified Fatty Acids, Betahydroxybutyric Acid, Bilirubin, and Urea and the Occurrence of Clinical and Subclinical Postpartum Bovine Endometritis. *BMC Veterinary Research* **2010**, *6*.
41. Walsh, R.B.; Walton, J.S.; Kelton, D.F.; LeBlanc, S.J.; Leslie, K.E.; Duffield, T.F. The Effect of Subclinical Ketosis in Early Lactation on Reproductive Performance of Postpartum Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2007**, *90*, 2788–2796, doi:10.3168/jds.2006-560.
42. López-Gatius, F.; Yániz, J.; Madriles-Helm, D. Effects of Body Condition Score and Score Change on the Reproductive Performance of Dairy Cows: A Meta-Analysis. *Theriogenology* **2003**, *59*, 801–812, doi:10.1016/S0093-691X(02)01156-1.
43. Roberts, T.; Chapinal, N.; LeBlanc, S.J.; Kelton, D.F.; Dubuc, J.; Duffield, T.F. Metabolic Parameters in Transition Cows as Indicators for Early-Lactation Culling Risk. *Journal of Dairy Science* **2012**, *95*, 3057–3063, doi:10.3168/jds.2011-4937.
44. Ospina, P.A.; Nydam, D.V.; Stokol, T.; Overton, T.R. Evaluation of Nonesterified Fatty Acids and β -Hydroxybutyrate in Transition Dairy Cattle in the Northeastern United States: Critical Thresholds for Prediction of Clinical Diseases. *Journal of Dairy Science* **2010**, *93*, 546–554, doi:10.3168/jds.2009-2277.
45. Oetzel, G.R. Monitoring and Testing Dairy Herds for Metabolic Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **2004**, *20*, 651–674, doi:10.1016/j.cvfa.2004.06.006.
46. LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E.; Bateman, K.G.; Keefe, G.P.; Walton, J.S.; Johnson, W.H. The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **2002**, *85*, 2237–2249, doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74303-8.
47. Ospina, P.A.; Overton, T.R.; Nydam, D.V.; Stokol, T. Associations of Elevated Nonesterified Fatty Acids and β -Hydroxybutyrate Concentrations with Early Lactation Reproductive Performance and Milk Production in Transition Dairy Cattle in the Northeastern United States. *Journal of Dairy Science* **2010**, *93*, 1596–1603, doi:10.3168/jds.2009-2852.
48. Voyvoda, H.; Erdogan, H. Use of a Hand-Held Meter for Detecting Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Res Vet Sci* **2010**, *89*, 344–351, doi:10.1016/j.rvsc.2010.04.007.
49. Chapinal, N.; Carson, M.E.; LeBlanc, S.J.; Leslie, K.E.; Godden, S.; Capel, M.; Santos, J.E.P.; Overton, M.W.; Duffield, T.F. The Association of Serum Metabolites in the Transition Period with Milk Production and Early-Lactation Reproductive Performance. *Journal of Dairy Science* **2012**, *95*, 1301–1309, doi:10.3168/jds.2011-4724.
50. Vagneur, M.; Enjalbert, F. Alimentation de la vache laitière. **2012**, 33.
51. Roche, J.R. Effects of Precalving Body Condition Score and Prepartum Feeding Level on Production, Reproduction, and Health Parameters in Pasture-Based Transition Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* **2015**, *98*, 7164–7182, doi:https://doi.org/10.3168/jds.2014-9269.
52. Koller, A.; Reist, M.; Blum, J.; Küpfer, U. Time Empty and Ketone Body Status in the Early Postpartum Period of Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals* **2003**, *38*, 41–49, doi:10.1046/j.1439-0531.2003.00393.x.
53. Reist, M.; Koller, A.; Busato, A.; Kupfer, U.; Blum, J.W. First Ovulation and Ketone Body Status in the Early Postpartum Period of Dairy Cows. *Theriogenology* **2000**, *54*, 685–701, doi:10.1016/S0093-691X(00)00383-6.
54. McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R.; Overton, T.R.; Ospina, P.A. Elevated Non-Esterified Fatty Acids and β -Hydroxybutyrate and Their Association with Transition Dairy Cow

- Performance. *The Veterinary Journal* **2013**, *198*, 560–570, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.011>.
55. Quiroz-Rocha, G.F.; LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Wood, D.; Leslie, K.E.; Jacobs, R.M. Reference Limits for Biochemical and Hematological Analytes of Dairy Cows One Week before and One Week after Parturition - PMC Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2657519/> (accessed on 14 June 2022).
 56. Gernand, E.; Rehbein, P.; von Borstel, U.U.; König, S. Incidences of and Genetic Parameters for Mastitis, Claw Disorders, and Common Health Traits Recorded in Dairy Cattle Contract Herds. *Journal of Dairy Science* **2012**, *95*, 2144–2156, doi:10.3168/jds.2011-4812.
 57. Quiroz-Rocha, G.F.; LeBlanc, S.J.; Duffield, T.F.; Jefferson, B.; Wood, D.; Leslie, K.E.; Jacobs, R.M. Effect of Sampling Time Relative to the First Daily Feeding on Interpretation of Serum NEFA and BHB Concentrations in Dairy Cattle. *Journal of dairy science* **2010**, *93*, 2030–2033, doi:10.3168/jds.2009-2141.
 58. Isensee, A.; Leiber, F.; Bieber, A.; Spengler, A.; Ivemeyer, S.; Maurer, V.; Klocke, P. Comparison of a Classical with a Highly Formularized Body Condition Scoring System for Dairy Cattle. *Animal* **2014**, *8*, 1971–1977, doi:10.1017/S1751731114001888.
 59. La Filière Laitière Française En Chiffres Available online: <https://www.filiere-laitiere.fr/fr/chiffres-cles/filiere-laitiere-francaise-en-chiffres> (accessed on 23 August 2022).
 60. Résultats de contrôle laitier - France 2020 Available online: <https://idele.fr/detail-article/resultats-de-contrôle-laitier-france-2020> (accessed on 23 August 2022).
 61. McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R.; Guarda, C.L. An Economic Analysis of Hyperketonemia Testing and Propylene Glycol Treatment Strategies in Early Lactation Dairy Cattle. *Preventive Veterinary Medicine* **2014**, *17*, 170–179, doi:<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.06.017>.
 62. Aubadie-Ladrix, M.; La cétose chez la vache laitière. *Bulletin des GTV* **2011**, n°59, 79-88.
 63. Brugère Picout, J.; Biochimie clinique. *Le dépêche vétérinaire*. Supplément technique n°46, **1995**, 28-29.

Annexe : Mise au point du dosage des AGNE adapté en microplaque

Les AGNE sériques ont été mesurés par une méthode colorimétrique validée (ASC-ACOD MEHA, Fujifilm Nefa ®, Fujifilm Wako Chemicals Europe GmbH, Allemagne, Sodobia (France)), selon la procédure du fabricant. Pour réduire la quantité de réactifs (et donc le coût du dosage), le dosage des AGNE a été adapté en microplaque selon les étapes suivantes :

- Premier essai : dosage en microplaque selon les préconisations du fabricant :
 - 200 µL de Réactif 1 (R1), 100 µL de Réactif 2 (R2) et 5 µL de sérum,
 - Première incubation avec le R1 : 10 min,
 - Deuxième incubation avec le R2 : 10 min.

Les valeurs de Contrôle Qualité (QC) obtenues (QC1 = 0,32 mmol/L et QC2 = 0,44 mmol/L) ne sont pas cohérentes par rapport aux références fournies par le fabricant : QC1 [0,44-0,66] mmol/L et QC2 [0,73-1,09] mmol/L.

Pour vérifier que le problème n'est pas lié au kit de dosage, le dosage a été réalisé en tubes avec une méthode colorimétrique validée pour le sérum bovin (VetPhotometer®, Diaglobal GmbH, Berlin, Allemagne), avec des volumes d'échantillons et de réactifs préconisés.

- Évaluation des valeurs des QC selon la procédure de dosage validée avec le VetPhotometer® (méthode de référence : Test A) :

Objectifs : Vérifier les valeurs des QC1 et QC2 dans les conditions de dosage VetPhotometer® et déterminer des valeurs de référence pour 3 échantillons de sérum bovin avec des valeurs d'AGNE basse (1 : 7510), moyenne (3 : 8107) et haute (2 : 8126).

Conditions expérimentales du Test A :

- Echantillons de sérum bovin ayant déjà subi un cycle de congélation/décongélation,
- Conditions expérimentales préconisées par le fabricant : tubes en verre, 1 mL de R1, 500 µL de R2 et 50 µL de sérum (10 min d'incubation avec R1 + sérum, 10 min d'incubation avec R2),
- Lecture avec le photomètre portatif VetPhotometer®.

Les valeurs de QC obtenues sont dans l'intervalle des valeurs indiquées par le fabricant (Tableau 1) : QC1 [0,44-0,66] et QC2 [0,73-1,09] mmol/L, ce qui indique que le problème du dosage en microplaques n'est pas lié au kit de dosage.

	Blanc	Standard	QC1	QC2	Echantillons		
					1	2	3
Concentration (mmol/L)	0	1	0,55	0,82	0,15	0,41	0,31

Tableau 1 : Concentrations d'AGNE mesurées avec la méthode de dosage avec le VetPhotometer®, suivant la procédure du fabricant

Légende ; QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2 ; 1,2, 3 = échantillons de sérum bovin
Les valeurs de QC obtenues sont dans les intervalles de valeurs indiquées par le fabricant.

- Deuxième essai : dosage en microplaque en modifiant les proportions réactif/échantillon (proportion similaire à celle du protocole VetPhotometer®)

Conditions expérimentales :

- 10 µL d'échantillon,
- 200 µL de R1, 100 µL de R2,
- 15 minutes d'incubation avec R1,
- Échantillons de sérum bovin : 1, 2, et 3.

Les valeurs de QC1 et QC2 ne sont pas cohérentes avec celles obtenues avec la méthode de référence (Tableau 2), ce qui indique que les écarts de valeurs obtenues avec le dosage en microplaques ne sont pas liés à une différence de proportionnalité du volume échantillon/réactif.

	Blanc	Standard	QC1	QC2	1	2	3
Densité Optique corrigée par la DO du blanc	0	0,474	0,025	0,089	0,030	0,097	0,106
Concentration (mmol/L)	0	1	0,052	0,187	0,063	0,204	0,223
Méthode de référence : Test A VetPhotometer® (mmol/L)	0	1	0,55	0,82	0,15	0,41	0,31

Tableau 2 : Concentrations d'AGNE obtenues avec la méthode de dosage en microplaque avec une proportionnalité de volume réactif/échantillon identique à celle du protocole avec le VetPhotometer®.
Légende : QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2 ; 1,2, 3 = échantillons de sérum bovin
Comparaison avec les valeurs obtenues avec la méthode de référence (test A).

- Troisième essai de dosage en microplaque

Objectif : Vérifier que la lecture en microplaque ne modifie pas l'absorbance.

Conditions expérimentales :

- Solutions précédemment mesurées avec le VetPhotometer® (cf. Test A),
- 300 µL du mélange réactionnel des tubes en verre pipeté dans la microplaque.

Les QC ainsi mesurés (Tableau 3) sont dans les intervalles de valeurs indiquées par le fabricant, et démontrent que le plastique des microplaques n'interfère pas avec l'absorbance.

	Blanc	Standard	QC1	QC2	1	2	3
Densité Optique	0	0,437	0,235	0,346	0,059	0,187	0,136
Concentration (mmol/L)	0	1	0,537	0,787	0,135	0,421	0,311
Test de référence : Test A VetPhotometer® (mmol/L)	0	1	0,55	0,82	0,15	0,41	0,31

Tableau 3 : Concentrations d'AGNE évaluées après lecture en microplaque du mélange réactionnel obtenu avec la procédure indiquée pour le test VetPhotometer® et comparaison avec les valeurs obtenues avec le test de référence (Test A)
QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2 ; 1,2, 3 = échantillons de sérum bovin

Notre hypothèse est que le dosage en microplaque modifie la réaction d'oxydation des acides gras ou la réaction colorimétrique. Une série d'essais a donc été menée pour évaluer les conditions expérimentales appliquées aux microplaques, qui seraient susceptibles de modifier la réaction :

- Evaluer le facteur de proportionnalité échantillon/réactif,
 - Evaluer l'impact du temps d'incubation avec le R1 et le R2,
 - Evaluer l'interférence du plastique de la microplaque dans la réaction en réalisant la première étape de la réaction en tubes, puis la lecture de DO en microplaques.
-
- Premier essai : augmenter les temps d'incubation avec R1 et R2

Conditions expérimentales :

- 10 μ L de sérum,
- 200 μ L de R1, 100 μ L de R2,
- Durée d'incubation : 10 et 15 minutes.

Une durée d'incubation de 15 minutes permet d'augmenter la valeur du QC2, mais pas celle du QC1, qui reste inférieure à celle mesurée par la méthode de référence (Tableau 4).

	Densité optique	Concentration (mmol/L)	Test A (mmol/L)
Blanc (10 min)	0	0	0
Standard (10 min)	0,495	1	1
QC 1 (10 min)	0,226	0,46	0,55
QC 2 (10 min)	0,345	0,696	0,82
Blanc (15 min)	0	0	0
Standard (15 min)	0,46	1	1
QC 1 (15 min)	0,208	0,444	0,55
QC 2 (15 min)	0,397	0,848	0,82

Tableau 4 : Concentrations d'AGNE évaluées avec la méthode de dosage en microplaque avec des temps d'incubation de 10 et 15 min et comparaison avec les valeurs obtenues par la méthode de référence (Test A).
Légende : QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2

- Deuxième essai : évaluation de l'interférence du plastique de la microplaque dans la réaction

Conditions expérimentales :

- 10µL de sérum,
- 200µL de R1, 100 µL de R2,
- Durée d'incubation : 10 min avec R1 et R2,
- Réaction réalisée dans des tubes en verre,
- Transfert du mélange réactionnel dans la plaque en plastique.

Quand la réaction a été réalisée dans les tubes en verre, les valeurs de QC sont dans les intervalles de référence fournis par le fabricant alors que les valeurs obtenues quand la réaction a été réalisée dans la microplaque sont inférieures ou à la limite des valeurs de référence (QC1 [0,44-0,66] et QC2 [0,73-1,09] mmol/L) (Tableau 5).

	Densité optique	Concentration (mmol/L)
Blanc (Verre)	0	0
Standard (Verre)	0,56	1
QC1 (Verre)	0,341	0,608
QC2 (Verre)	0,531	0,948
Blanc (microplaque)	0	0
Standard (microplaque)	0,498	1
QC1 (microplaque)	0,232	0,465
QC2 (microplaque)	0,353	0,708

Tableau 5 : Concentrations d'AGNE évaluées avec la méthode de dosage en microplaque, ou avec une lecture en microplaque après une réaction dans des tubes en verre
Légende : QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2

L'ensemble de ces essais a montré que le dosage en microplaque modifie la réaction d'oxydation des acides gras ou la réaction colorimétrique. Le protocole de dosage impose donc une étape réactionnelle en tube, puis un transfert dans la microplaque pour la lecture de la densité optique.

Avant de procéder au dosage des AGNE, nous avons évalué la réaction dans les tubes Eppendorfs, en évaluant trois volumes réactionnels, avant le transfert de 310 μ L en microplaque pour la lecture de la densité optique.

Conditions expérimentales :

- Test "grand volume" = 400 μ L de R1 + 20 μ L de sérum + 200 μ L de R2 ; test "volume moyen" = 300 μ L de R1 + 15 μ L de sérum + 150 μ L de R2 ; et test "petit volume" = 200 μ L de R1 + 10 μ L de sérum + 100 μ L de R2
- Temps d'incubation : 10 min.

Les résultats (Tableau 6) montrent que la réaction réalisée dans des tubes Eppendorfs permet de retrouver les valeurs de référence et que le volume des réactifs n'a pas d'impact majeur sur le résultat.

	Densité optique	Concentration (mmol/L)
Blanc (grand volume)	0	0
Standard (grand volume)	0,468	1
QC1 (grand volume)	0,255	0,544
QC2 (grand volume)	0,394	0,841
Standard (volume moyen)	0,46	1
QC1 (volume moyen)	0,263	0,571
QC2 (volume moyen)	0,377	0,819
Standard (petit volume)	0,518	1
QC1 (petit volume)	0,237	0,457
QC2 (petit volume)	0,395	0,762

Tableau 6 : Concentrations d'AGNE mesurées avec la méthode de dosage en microplaque avec trois volumes réactif/échantillon (grand volume : 20 μ L de sérum, volume moyen : 15 μ L de sérum et petit volume : 10 μ L de sérum). La réaction a été réalisée dans des tubes Eppendorfs et la lecture des densités optiques dans la microplaque.
Légende : QC1 = Quality control 1 ; QC2 = Quality control 2

A l'issue de ces essais, nous avons choisi les conditions de dosage suivantes :

- Volumes : 200 μ L de R1 + 10 μ L de sérum + 100 μ L de R2,
- Durée d'incubation avec R1 et R2 : 10 min à température ambiante,
- Réactions dans les tubes Eppendorfs,
- Lecture des densités optiques en microplaque.

TITRE : Evaluation péri-partum d'indicateurs du déficit énergétique comme marqueurs prédictifs de troubles de la reproduction chez la vache laitière

RESUME :

L'objectif de l'étude était d'évaluer le caractère prédictif de troubles de la reproduction de deux marqueurs du déficit énergétique, les concentrations sanguines en AGNE (Acides gras non estérifiés) et en β -hydroxybutyrate (BOH). Les données proviennent de 332 vaches laitières (issues de 2 élevages en suivi de reproduction). La relation entre les paramètres de reproduction et les deux marqueurs métaboliques, mesurés pendant la période péri-partum, a été étudiée. Des concentrations sanguines en AGNE pré-partum (> seuil de 0,3 mmol/L) sont associées à un allongement de l'intervalle vêlage- IA1. Des concentrations en BOH pré-partum (> seuil de 0,6 mmol/L) sont associées à une dégradation de la réussite en IA1 et du taux de gestation à 120 jours ainsi qu'à la survenue d'affections utérines. En élevage, cette évaluation pourrait permettre la mise en place de mesures correctives précoces, afin de prévenir les conséquences de ce déficit énergétique sur les paramètres de reproduction.

MOTS CLES : vache laitière, déficit énergétique, acides gras non estérifiés, β -hydroxybutyrate, performances de reproduction

TITLE: Peripartum evaluation of energy deficit indicators as predictors of reproductive troubles in dairy cow

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the capacity of two indicators of negative energy balance, NEFA (non-esterified fatty acids) and BHB (β -hydroxybutyrate) to predict reproductive failure in dairy cattle. Data were collected from 332 dairy cows (from two herds in reproductive monitoring program). The relationship between these two markers and reproductive parameters was studied. Prepartum NEFA concentrations (> 0.3 mmol/L) were associated with an extended calving-first AI interval. Prepartum BHB concentrations (> 0.6 mmol/L) were associated with an alteration of the first AI success, of the pregnancy rate within 120 days and with the onset of uterine diseases. At the herd level, this monitoring could allow implementation of early corrective measures in order to prevent the effects of negative energy balance on reproduction parameters.

KEY WORDS: dairy cow, negative energy balance, non-esterified fatty acids, β -hydroxybutyrate, reproductive performance