

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2004 - Thèse n° 115

**PHYSIOPATHOLOGIE DE LA CETOSE DE LA
VACHE LAITIERE
ET ANALYSE DES PROFILS
EPIDEMIOCLINIQUES ET BIOCHIMIQUES
DE CAS SPONTANES**

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 27 Octobre 2004
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

MEURANT Céline
Née le 18 Juin 1980
à Rueil-Malmaison (92)



DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur par Intérim : Professeur Gilles BOURDOISEAU

Au 01/01/2004

DEPARTEMENT	PR. EX.	PR. 1	PR. 2	MC	Contractuel, Associé & IPAC	AERC	Chargés de Conférences et d'enseignement
DEPART. SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. LACHERETZ M. ARTOIS	V. GUERIN-FAUBLEE 80 % A. KODJO D. GREZEL J. VIALARD			
Pathologie infectieuse		G. BOURDOISEAU C. CHAUVE		MP CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Parasitologie & Maladies parasitaires		G. CHANTEGRELET	P. DEMONT C. VERNOZY	A. GONTHIER	S. COLARDELLE	ISPV	
Qualité et Sécurité des Aliments			A. LACHERETZ	P. SABATIER M.L. DELIGNETTE 80 % K. CHALVET-MONFRAY			
Législation & Jurisprudence							
Bio-Mathématiques							
DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA	R. DA ROCHA CARARO	MCC	BENREDOUANE K. (50 %) G. CHANOIT
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUER D. REMY		S. JUNOT K. POKTIER C. DECOSNE-JUNOT	MCC MCC MCC	A. MUGUET J. GULLAUMIN I. GOUJON (50 %)
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie Pathologie Clinique		J.P. MAGNOL C. FOURNEL		T. MARCHAL	D. WATRELOT-VERIEUX P. BELLI D. PIN	MCC MCA MCA	
Médecine interne		J.L. CADORE (50 %)		L. CHABANNE	J.L. BOULAY M. HUGONNARD	PRA MCC	I. BURLOT (60 %)
Imagerie médicale				E. CAUVIN (50 %)	F. DURIEUX (50 %)	MCC	F. DURIEUX (50 %)
DEPART DES PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootéchnie, Ethologie & Economie rurale		M. FRANCK		LETERME P. D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGROU-MORAND S. BUFF P. GUERIN S. MARTINOT			
Nutrition et Alimentation		F. BADDINAND	M. RACHAIL-BRETIN				
Biol & Patho de la Reproduction		P. BEZILLE	T. ALOGNINOUIWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND	D. LAURENT (50 %)	MCA	N. GRAUD P. DEBARNOT (66 %) D. LAURENT (16 %)
Patho Animaux de Production							
DEPART SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie/Anatomie	R. BOIVIN		E. BENOIT F. GRAIN P. JAUSSAUD P. BERNY	J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN 90 % T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Biophysique/Biochimie Génétique et Biologie moléculaire		F. GARNIER					
Pharmacie / Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK			C. FARMER R. SULLIVAN	IPAC IPAC	
Langues							
DEPART HIPPIQUE							
Pathologie équine Clinique équine		JL CADORE (50 %) O. LEPAGE	C. FLEURY	A. LEBLOND A. BENAMOU-SMITH E. CAUVIN (50 %)			
Expertise Nécropscopique							

A Mr le Professeur Richard

de la faculté de médecine de Lyon,
qui nous a fait l'honneur de bien vouloir présider notre jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Mr le Professeur Bézille

de l'unité de Pathologie du Bétail de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
qu'il reçoive ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'inspiration
de ce travail, ainsi que pour ses conseils éclairés dans l'élaboration de notre thèse.

A Mr le Docteur Grancher

de l'unité d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
qui a accepté de faire partie de notre jury et qui nous a réservé un accueil
bienveillant, pour son aide et sa disponibilité lors de la réalisation des dosages des
corps cétoniques. Qu'il veuille accepter ici toute notre gratitude.

A Mr le Professeur Benoit

de l'unité de Biochimie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
qui a si aimablement collaboré aux dosages de la plupart des paramètres
biochimiques. Respectueux remerciements.

A Mme le Docteur Arcangioli de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
aux vétérinaires et étudiants de l'Unité de Clinique Rurale de l'Arbresle,
ainsi qu'à Mr le Docteur Zundel vétérinaire à Fougerolles (70)
pour leur contribution dans la collecte des cas.
Sincères remerciements.

A Mr le Docteur Belli de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,
à Fatima, technicienne au laboratoire de biochimie de l'ENVL,
aux techniciennes du laboratoire de pathologie du bétail de l'ENVL,
et en particulier Mme Bernardot,
pour leur patience et leur disponibilité.
Salutations respectueuses.

Aux vétérinaires qui m'ont accueillie en stage tout au long de mes études, en particulier au Dr
Bidaud, vétérinaire à Remiremont dans les Vosges.

Aux vétérinaires qui m'emploieront tout au long de ma carrière, qu'ils me pardonnent mes
erreurs de jugement et mon impétuosité.

A ma Maman pour m'avoir poussée à travailler dans mes jeunes années et pour son écoute dans les périodes de déprime,

A mon Papa pour sa générosité et pour avoir toujours cru en moi alors que je doutais,

A mon frère Valérian pour les moments de complicité et la disponibilité lors des « SOS ordi en détresse »,

Et à ma sœur Maud pour son calme à toute épreuve et qui je n'en doute pas parviendra avec brio à exaucer son rêve qui a été le mien.

Je vous remercie tous pour m'avoir permis d'arriver jusqu'ici,
pour m'avoir supportée dans les deux sens du terme depuis toutes ces années, surtout lors des périodes fatidiques des concours et des partiels...
Veuillez accepter ici ma démonstrative affection.

A Mami Thérèse pour les bons souvenirs d'enfance,

A Papi Félicien pour m'avoir donné l'amour des animaux,

A Mami Louise et Papi Charles qui je suis sûre auraient été fiers de moi,

Vous avez été, vous êtes et vous serez toujours là à mes côtés et dans mon coeur pour me soutenir.

A Annie-Claude, Isa, Sandy, Zou, Nono, Tutu, Auré et Caro,

un grand merci à vous tous pour ces années inoubliables dans cette école, de soirées en week-end de ski.

En espérant que l'on ne se perde pas de vue malgré l'éloignement.

A toute ma famille et mes amis pour le soutien et les bons moments passés et à venir.

SOMMAIRE :

Sommaire	1
Liste des tableaux, photos et figures	2
Liste des abréviations	4
Introduction	5
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	6
I. Définitions	6
II. Importance des cétozes	7
III. Epidémiologie descriptive	9
IV. Expressions cliniques des cétozes	11
1. Forme hypoglycémique	
2. Forme normo- ou hyperglycémique	
3. Lésions	
V. Modifications biologiques	17
1. Biochimie sanguine	
2. Hématologie	
3. Dosages dans l'urine et le lait	
VI. Etiologie et physio-pathologie	30
1. Particularités du métabolisme énergétique des ruminants	
2. Endocrinologie de la régulation des flux de nutriments et de la mobilisation des réserves en début de lactation	
3. L'événement commun aux cétozes : la crise énergétique du début de lactation	
4. L'élément déclencheur dans l'orientation vers un type ou l'autre de cétoze	
DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES CLINIQUES	54
I. Objectifs	54
II. Matériel et méthodes	54
1. Animaux recrutés	
2. Enregistrements épidémio-cliniques	
3. Prélèvements et analyses de laboratoire	
III. Résultats	61
IV. Discussion	65
1. Analyse de chaque paramètre et de leurs corrélations	
2. Discussion générale	
a) Les tests de détection	
b) Principaux profils épidémio-cliniques et biologiques observés	
c) Difficultés rencontrées lors de l'expérimentation	
3. Application au traitement et à la prévention	
Conclusion	94
Bibliographie	95
Annexes	103

LISTE DES TABLEAUX, PHOTOS ET FIGURES :

Tableaux :

Tableau 1 : Tableau comparatif des paramètres épidémiocliniques des deux types de cétose

Tableau 2 : Tableau comparatif des paramètres biochimiques des deux types de cétose

Tableau 3 : Glycémie des plasmas de vaches laitières "saines" conservés à température ambiante et centrifugés puis congelés à intervalles définis

Tableau 4 : Paramètres épidémiologiques recueillis chez les 12 vaches céto-siques retenues

Tableau 5 : Examen clinique des douze vaches céto-siques examinées

Tableau 6 : Résultats hématologiques et biochimiques des vaches céto-siques prélevées

Tableau 7 : Valeurs moyennes des activités enzymatiques et des concentrations plasmatiques en différents composés dans deux groupes de concentration normale (0,06-0,35 mmol/L) et élevée (0,36-1,05 mmol/L)

Tableau 8 : Valeurs moyennes des activités enzymatiques et des concentrations plasmatiques en différents composés dans deux groupes de concentration moyenne à haute (0,85 à 1,7 mmol/L) et très élevée (>1,7) en béta hydroxybutyrate

Tableau 9 : Coefficients de corrélation de rang de Spearman des différents paramètres biochimiques dosés

Photos :

Photo 1 : Image au microscope optique grossissement 4*10 d'une coupe de foie de la vache 12 colorée à l'hémalun-éosine : dégénérescence graisseuse centrolobulaire.

Photo 2 : Image au microscope optique grossissement 10*10 d'une coupe de foie de la vache 12 colorée à l'hémalun-éosine : zone centrolobulaire.

Figures :

Figure 1 : La convergence hépatique des voies métaboliques du glucose, des acides aminés glucoformateurs et des acides gras au niveau du cycle de Krebs

Figure 2 : Régulation hormonale des flux de nutriments

Figure 3 : Schéma récapitulant les étapes et facteurs aggravants conduisant à l'hypoglycémie

Figure 4 : Schéma des mécanismes menant à la cétogenèse

Figure 5 : Métabolisme des lipides au sein d'un hépatocyte

Figure 6 : Synthèse des triglycérides à partir de l'acétyl Coa stimulée par l'insuline lors de balance énergétique positive chez les non-ruminants

Figure 7 : Cétogenèse à partir des AGNE et des AGV chez les ruminants

Figure 8 : Les voies métaboliques des AGNE dans le foie

Figure 9 : Schéma explicatif des mécanismes de la cétose de type I

Figure 10 : Schéma explicatif des mécanismes de la cétose de type II

Figure 11 : Effets de la durée du tarissement sur les risques de cétose

Figure 12 : Représentation graphique des valeurs de la glycémie (en mmol/L) en fonction de la concentration en bêta hydroxybutyrate (en $\mu\text{mol/mL}$) chez les vaches céto-siques prélevées

Liste des abréviations

ACT = CAT = AcylCarnitines Transférases.

AGL = Acides Gras Libres = AGNE = Acides Gras Non Estérifiés.

AGV = Acides Gras Volatils.

ALAT = Alanine AminoTransfèrease = SGPT = Sérum Glutamate Pyruvate Transaminase.

ASAT = ASpartate AminoTransfèrease = SGOT = Sérum Glutamate Oxaloacétate Transaminase.

ATP = Adénosine Tri Phosphate.

bhb = béta hydroxybutyrate.

C = atome de carbone.

CAT = Carnitine Acyl Transfèrease.

CPT 1 = Carnitine PalmytoylTransfèrease 1.

EDTA = Ethylène Diamine Tétracétate.

ENVL = Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

FAD = Flavine Adénine Dinucléotide (forme oxydée).

FADH = Flavine Adénine Dinucléotide réduite.

GD = Glutamate Déshydrogénase.

GGT = Gamma GlutamylTransfèrease.

GH = Growth Hormone = Hormone de croissance = Somatotropine.

HDL = High Density Lipoprotéines.

LDL = Low Density Lipoprotéines.

NAD = Nicotinamide Adénine Dinucléotide (forme oxydée).

NADH = Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.

NADPH = Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit

NEC = Note d'Etat Corporel (échelle de 1=très maigre à 5=obèse).

PDI = Protéines digestibles dans l'intestin (en grammes).

TB = Taux butyreux du lait.

TP = Taux Protéique du lait.

UI = Unités Internationales.

VLDL = Very Low Density Lipoproteins = lipoprotéines de faible densité.

Introduction :

Jusqu'à présent, la cétose de la vache laitière a toujours été considérée comme une réaction physiopathologique à l'hypoglycémie résultant d'un bilan énergétique négatif : c'est la cétose de jeûne. Cette théorie hypoglycémique est notamment exposée par Bruss [13].

Cependant, on voit apparaître sur le terrain des troubles qualifiés de cétose normo- ou hyperglycémique avec lipomobilisation intense.

La question restant posée alors est celle de l'origine de ces cétozes puisque ces animaux reçoivent à priori un régime riche en précurseurs du glucose essentiellement basé sur l'ensilage de maïs.

L'objectif de notre travail a été de vérifier par des observations épidémiocliniques et biologiques faites sur des cas spontanés, si ces deux types de cétose étaient effectivement identifiables.

Il semblerait en effet important de connaître la physiopathologie spécifique à chacune d'entre elles puisque les applications au traitement et à la prophylaxie qui en découlent pourraient s'avérer être différentes.

Nous rendons compte de cette étude en indiquant dans une première partie les éléments de la littérature permettant de caractériser sur le plan épidémioclinique et physiopathologique chacune des deux formes de l'affection.

Dans la seconde partie, nous présentons les conditions de réalisation de notre travail, puis nous en discutons les résultats et en déduisons des applications thérapeutiques et préventives.

PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Définitions

La cétose de la vache laitière est un trouble du métabolisme énergétique survenant le plus souvent au pic de lactation, parfois dès la mise-bas.

Elle est due soit à une hypoglycémie consécutive à un déficit nutritionnel en précurseurs pour la néoglucogenèse (cétose de jeûne), soit à un excès de développement de la masse grasse périphérique chez les vaches laitières hautes productrices à l'origine d'une lipolyse répondeant mal à l'action de l'insuline (cétose normo- ou hyperglycémique).

La première est spontanément curable avec l'amaigrissement de l'animal et la réduction du lait produit. En revanche, la seconde fera plus souvent l'objet de complications : hépatose et parésie puerpérale, non involution utérine et métrite.

L'état de cétose peut faire suite à diverses causes [96]:

- Il peut être secondaire à une insuffisance d'ingestion : sous-consommation de la ration qui est cependant correctement pourvue en énergie. On l'explique par l'effet du bâtiment, l'effet de l'éleveur sur ses animaux, la présence d'une carence azotée ou d'une carence en fibres, ou par une pathologie qui déprime l'appétit comme une mammite, une réticulopéritonite traumatique, un déplacement de la caillette...
- La densité énergétique de la ration par ailleurs distribuée à volonté peut être trop faible. Dans ce cas, la glycémie s'avère inférieure à 0,40 g/L (soit 2,2 mmol/L). De même, l'alimentation peut être déficitaire en azote dégradable, l'urémie est alors inférieure à 0,15 g/L (soit 5,35 mmol/L).
- Au contraire, il peut y avoir un déficit en fibres : la glycémie est alors supérieure à 0,65 g/L (3,58 mmol/L).
- Enfin, la cétose peut faire suite à une exacerbation du catabolisme des lipides, comme lors de stress par exemple.

D'autres termes sont également employés pour désigner la cétose : acétonémie, fièvre de la vache, dyspepsie post-partum, ou encore cétose hypoglycémique.

La cétose hypoglycémique ou cétose de type 1 concerne des vaches laitières ayant un déficit énergétique cumulé trop important au pic de lactation qui a lieu en général 3 à 4 semaines après vêlage. Ces animaux sont le plus souvent très maigres [48] et nous retrouvons fréquemment associées une diminution du taux protéique du lait (TP) et de la fécondité.

On peut également observer l'apparition de cétose secondairement à une autre pathologie susceptible de provoquer des douleurs ou un mal-être comme un état fébrile, ce qui déprime l'appétit.

Jusqu'à une période récente, on a toujours considéré que cétose était synonyme d'hypoglycémie, cependant, de nombreux auteurs admettent aujourd'hui que cette maladie

s'avère être beaucoup plus complexe qu'il n'y paraît avec la découverte de cas de cétose normo- voire hyperglycémique, encore appelée cétose de type 2.

Cette dernière se développe préférentiellement chez les vaches fortes laitières qui arrivent grasses au vêlage suite à une mauvaise gestion du tarissement. Cela explique ainsi sa dénomination fréquente de « syndrome de la vache grasse ».

On observe une lipomobilisation exacerbée suite à un stress [31], ce type de cétose serait alors le plus souvent fortement lié à une stéatose hépatique.

Une des hypothèses avancées pour expliquer la survenue de cétooses normo- ou hyperglycémiques serait la présence d'un signal lipolytique non identifié (indépendant de la concentration sanguine en glucose) pour que la lipolyse comble la demande de la glande mammaire en AGNE [59].

Les signes cliniques se déclarent en général dans les 15 jours qui suivent la mise-bas et sont d'apparition aiguë, au contraire de la cétose de type 1 qui a un caractère plus progressif [32].

II. Importance des cétooses

➤ Importance médicale :

Le pronostic médical pour les cétooses primitives hypoglycémiques est généralement favorable puisque l'évolution se fait en général vers la guérison dans 80 à 90% des cas en deux à quinze jours [11] suite à la réduction de la production laitière, donc des pertes en glucose.

Cependant, beaucoup d'études ont montré que l'état de cétose est un facteur de risque pour d'autres maladies du post-partum, comme les mammites, le déplacement de caillette, l'acidose... car elle a entre autre une incidence sur les fonctions immunitaires de l'animal qu'elle déprime. Il est toutefois difficile de définir si ces pathologies sont une cause ou une conséquence de l'état de cétose [22 ; 23].

Beaucoup d'auteurs déclarent que les corps cétoniques et en particulier le bêta hydroxybutyrate sont déprimeurs de l'immunité [93 ; 90]. Le mécanisme qui est responsable de l'altération des défenses immunitaires lors de cétose n'est pas encore clairement connu. D'autres travaux nuancent ces dires et déclarent que les effets des corps cétoniques sur la réplication lymphocytaire sont négligeables à des concentrations voisines de celles présentes chez des vaches cétoosiques [102].

Le « syndrome de la vache grasse » est caractérisé par une faible réponse à la thérapeutique des affections associées comme par exemple : une métrite ne guérissant pas malgré une antibiothérapie adaptée et aboutissant à la mort de l'animal, un déplacement de caillette ne répondant pas à une correction chirurgicale ou demandant l'administration de traitements complémentaires, une convalescence prolongée, des paraplégies rebelles, des non délivrances, un œdème mammaire, un retard d'involution utérine... [44 ; 32 ; 77]

Des maladies, dont la résolution n'aurait pas posé de difficulté majeure chez des vaches saines, comme une métrite ou une non délivrance, peuvent devenir chroniques. On aboutit alors à la réforme de l'animal ou au décès de certains animaux à foie surchargé en graisses, même si un traitement adapté est mis en place. [102]

On a remarqué en effet que chez certains bovins souffrant de stéatose hépatique sévère, la vitesse d'élimination des endotoxines du plasma pouvait être divisée par 14 ou 16. Cela pourrait contribuer, en plus de l'immunodéficience, à rendre ces vaches encore plus sensibles aux infections. Ainsi, les endotoxémies subcliniques peuvent devenir de véritables maladies de complication lors de stéatose hépatique. [102]

L'évolution n'est pas toujours mortelle, mais la guérison s'accompagne très souvent d'un amaigrissement important [11]. Par conséquent, le pronostic de ce syndrome sera toujours réservé.

➤ Importance économique :

Le pronostic économique sera souvent peu favorable.

- Ceci, surtout suite à la perte de production de lait tant sur la quantité globale produite que sur le taux protéique et le taux de lactose (il est synthétisé à partir du glucose circulant). En réalité, le taux butyreux (TB) est maintenu car les acides gras libres et les corps cétoniques contribuent à l'élaboration des lipides du lait qui sont surtout des acides gras à longue chaîne à 18 atomes de carbone (C18) et plus. Par contre, on assiste à une chute du taux protéique (TP) suite au déficit énergétique marqué.

Lors de cétose, on observe alors ce rapport: $TB / TP > 1.5$.

La perte immédiate est de 4 à 10 Kg de lait par jour lors de cétose clinique et de 1 à 7 Kg par jour lorsqu'elle est subclinique [32].

On observe un aplatissement du pic de lactation chez les animaux touchés : on estime la perte entre 2 et 2,7 Kg de lait au pic, et entre 200 et 230 Kg sur toute une lactation si aucun traitement n'est réalisé [32].

On soupçonne l'évolution de cétooses subcliniques au sein d'un troupeau lorsque les performances obtenues s'avèrent être bien en deçà de celles auxquelles on s'attendait. Même si la plupart des animaux guérissent, ils ne retrouveront jamais une courbe de lactation normale et on risque de voir apparaître d'autres cas au sein du même élevage ou des risques de récurrences chez un même animal [11].

- De plus, comme lors de cétose subclinique, on voit fréquemment apparaître une altération significative des performances de reproduction [27 ; 30 ; 32] démontrées par quelques études dont celle de Cook et coll. [17] et Butler et coll. [15] : retard des premières chaleurs, chaleurs silencieuses, moins bonne réussite lors de l'insémination... Cela contribue ainsi à une augmentation de l'intervalle entre deux vêlages.

D'ailleurs, des corrélations positives entre le taux d'acétone dans le lait en début de lactation et la réduction de fertilité ultérieure [17 ; 60], ainsi qu'entre le taux de bêta hydroxybutyrate sanguin et le fait que les vaches restent plus longtemps « vides » [60] ont été trouvées.

Cook et coll. [17] ne savaient pas si la survenue d'une cétose en début de lactation avait un impact suffisamment négatif sur la fertilité pour que les tests de détection de cétose puissent être utilisés pour prédire la fertilité sur le terrain. Selon Koller et coll. [60], les concentrations dans le lait et le plasma en corps cétoniques semblent être de bons indicateurs de l'allongement du temps entre le vêlage et l'insémination fécondante.

La relation entre la stéatose hépatique et la diminution de la fertilité n'est pas certaine mais pourrait être reliée à une chute de la production de la progestérone. Les vaches atteintes de lipidose hépatique auraient une réduction de la cholestérolémie; or le cholestérol est nécessaire dans la synthèse de la progestérone par le corps jaune. [44]

- Le tout est associé aux frais vétérinaires pour le traitement des cétozes cliniques (la cétoze en elle-même est rarement fatale, sauf dans le cas de stéatose hépatique sévère).

- De même, des pertes peuvent être enregistrées suite à la mort d'animaux dans le cas du « syndrome de la vache grasse » : qui est en général sporadique, mais qui peut devenir enzootique au sein d'un même lot d'animaux élevés dans des conditions similaires. La morbidité peut alors atteindre 50 à 90% [11], la mortalité étant difficile à définir au vu des multiples complications possibles.

- Enfin, comme nous l'avons déclaré ci avant, il semblerait que la survenue d'une cétoze augmente également le risque de mammite et favorise l'apparition de maladies intercurrentes qu'il faut également traiter [23].

➤ **Importance zootechnique :**

Si l'on veut éviter le risque d'apparition de cétoze au sein d'un troupeau, il est nécessaire de bien gérer la conduite d'élevage.

En réalité, à aucun moment cette dernière ne doit être négligée, tant chez la vache laitière que chez la génisse. Il faut tenir compte de beaucoup de paramètres clés en même temps : alimentation adaptée au stade physiologique de l'animal (quantité, qualité, additifs éventuels...), mise en lot, durée de tarissement, transitions alimentaires, bâtiment correctement agencé (température, aération, pas de concurrence à l'auge...).

La maîtrise de tous ces éléments à la fois n'est pas chose aisée et il arrive parfois à l'exploitant d'en délaissier un au profit d'un autre qu'il considère comme plus essentiel.

III. Epidémiologie descriptive

Dans beaucoup de cas, la cétoze se développe secondairement à une autre affection: d'où le nom de cétoze secondaire. Dans d'autres cas, elle sera un facteur prédisposant à des maladies. On explique ceci par le fait qu'une hyper-cétonémie est connue pour diminuer les fonctions immunitaires de l'animal, comme il l'a déjà été précisé ci-dessus.

Toutefois, la survenue de cétoze lors d'une lactation n'augmente pas le risque de voir apparaître une cétoze à la lactation suivante. [48]

La forme hypoglycémique (cétoze de type 1) opère sur des vaches maigres et carencées au pic de lactation.

Celle normo- ou hyperglycémique (cétoze de type 2) touche des animaux en excellent état d'engraissement voire franchement obèses qui n'ont subi aucune restriction alimentaire en fin de lactation ou pendant la période de tarissement (surtout si les vaches tarées sont maintenues avec les vaches en lactation [71]).

La cétose hypoglycémique touche les vaches laitières hautes productrices, principalement de race Prim'Holstein et qui ont en majorité entre 5 et 8 ans.

Elle surviendrait surtout lors de la 3^{ème} lactation qui est la plus productrice [48]; tandis que certains ont remarqué que la prévalence de la cétose serait maximale au quatrième vêlage [78]. D'autres en revanche signaleraient une prévalence de plus en plus importante avec le nombre de lactations [23]. Enfin, selon d'autres publications, l'âge a peu d'influence sur le risque de cétose [48].

On rencontre le « syndrome de la vache grasse » en général chez des vaches multipares de tous âges, mais quelquefois chez des génisses ayant reçu un aliment trop énergétique pendant les 6 à 12 mois précédant le part. [11]

La cétose de type 1 survient surtout dans le mois qui suit la mise-bas, c'est-à-dire au maximum de la production lactée. La période à risque se situe surtout entre le 10^{ème} jour et la quatrième semaine après la mise bas. Parfois jusqu'à 6 semaines post-partum dans un contexte d'élevage intensif.

Les vaches laitières sont plus susceptibles de développer une cétose pendant les troisième et quatrième semaines de lactation [33 ; 23]. Toutefois, de récentes études suggèrent qu'il existerait un autre pic dans les deux premières semaines de lactation [23].

Le pic le plus précoce correspondrait en réalité à la cétose normo- ou hyperglycémique, et le second à la cétose hypoglycémique.

La survenue de cette maladie semble dépendre de l'exercice physique : la cétose sévit très rarement chez des animaux en pâture, mais plutôt chez des animaux enfermés à l'étable durant les mois d'hiver et les premiers mois du printemps car il s'effectue chez eux très peu de cétolyse musculaire, [11 ; 23].

Selon les troupeaux, cela touche entre 2 et 20 % de l'effectif des bovins laitiers situés dans la tranche des 6 semaines post-partum . Le pourcentage augmente lors de cétose subclinique (jusqu'à plus de 30%). [11 ; 37 ; 32]

- 10% des cas apparaissent la 1^{ère} semaine.
- 70 % pendant les quatre premières semaines.
- 100% dans les 6 semaines suivant la mise-bas.

La cétose clinique est un caractère ayant une faible héritabilité génétique [48], mais le premier mois de lactation, la production laitière dépend uniquement du patrimoine génétique et non de l'alimentation. Ainsi, les vaches à haut potentiel en quantité produite et en taux de matières grasses par litre (sélectionnées génétiquement) ont une aptitude à donner la priorité à la production laitière par rapport à leurs réserves corporelles.

Cette priorité est, sur le plan hormonal, la traduction d'une forte sécrétion d'hormone de croissance (GH) et d'une insulïnémie faible. Elles auront alors plus de risque de se trouver en déficit énergétique et donc de développer une cétose. [23]

Cependant, les aspects génétiques semblent jouer un rôle mineur comparé à l'importante influence des facteurs de conduite d'élevage et environnementaux [26].

IV. Expressions cliniques des cétozes

Au niveau clinique, on distingue différents types allant de la forme subclinique, en général non détectée par l'éleveur puisque ne s'accompagnant pas de signes cliniques flagrants, jusqu'au « syndrome de la vache grasse », forme beaucoup plus grave de cétoze pouvant conduire à une issue fatale.

Le signe le plus fréquemment rencontré chez les vaches cétoziques est la perte d'appétit [65].

1. Forme hypoglycémique

Cette cétoze survient surtout à proximité du pic de lactation chez des vaches laitières hautes productrices. Elle fait suite à un dérèglement qui peut avoir plusieurs origines.

➤ La Cétoze primaire ou cétoze lactogénique :

Elle correspondrait à un type de la cétoze de disette décrite par Kronfeld [62]: la cétoze primaire. Celui-ci distingue en effet deux types dans la cétoze de disette : la cétoze primaire faisant suite à une insuffisance d'apport énergétique de la ration et la cétoze secondaire (exposée plus loin) où la sous-nutrition est due à une chute de l'appétit suite à une maladie primaire.

Elle concorde également avec la cétoze de type 1 (par analogie au diabète sucré insulino-dépendant de type 1 avec hypo insulinémie rencontré chez l'homme [46]) exposée par Holtenius et coll. [51].

On distingue en général la cétoze de dépérissement de la cétoze nerveuse, mais en fait, ces syndromes sont les deux modalités d'une variété de manifestations dans lesquelles ils sont souvent associés à des degrés différents de prédominance.

Les signes dominants sont:

- Des troubles du comportement alimentaire avec diminution de l'ingestion et un appétit sélectif.
- Une chute de la production lactée
- Un amaigrissement rapide et précoce. D'ailleurs dans les deux premiers mois de lactation, une vache produisant 45L de lait par jour utilise jusqu'à 2 Kg de graisses de réserve et jusqu'à 350 g de protéines corporelles par jour [11].
- Des troubles nerveux plus ou moins accusés comme un état de torpeur avec un désintérêt pour le milieu extérieur, une salivation excessive, des mâchonnements, l'animal se met aussi à l'écart du troupeau... L'existence fréquente d'une hypoglycémie lors de cétoze peut expliquer ces troubles ; mais on rencontre également parfois un état d'acidose associé qui pourrait aussi intervenir dans l'apparition de ces signes [11].
- Une température rectale qui se trouve dans les limites de la normale.

- Des fréquences respiratoire et cardiaque normales ou légèrement abaissées et une diminution de la fréquence ruminale qui marquent un ralentissement des grandes fonctions.
- Une odeur d'acétone, encore décrite comme une odeur de "pomme reinette" est parfois décelée dans le lait, l'urine, ou l'air expiré par l'animal suite à l'élimination des corps cétoniques

La guérison est souvent spontanée en 10-30 J dans 80% des cas [83].

On distingue en général la cétose de dépérissement de la cétose nerveuse, mais en fait, ces deux syndromes sont les deux modalités d'une variété de manifestations dans lesquelles ils sont souvent associés avec des degrés différents de prédominance.

La cétose de dépérissement est la plus fréquemment rencontrée chez la vache laitière. Elle débute par des troubles du comportement alimentaire comme un appétit capricieux et sélectif: la vache délaisse en premier lieu les concentrés, puis l'ensilage et se tourne vers les fourrages grossiers, cela peut mener au pica avec ingestion de fumier de préférence aux aliments habituels. En réalité, lors d'hypoglycémie chez les bovins, l'appétit n'est pas stimulé à la différence des monogastriques. La température reste dans les limites de la normale. Suit alors la phase d'état avec une chute progressive mais constante de la production laitière (jusqu'à 25% de la production [78]) associée à une chute du taux protéique du lait (TP). Ceci s'explique par la priorité donnée au métabolisme glucidique et énergétique sur le métabolisme protéique. Lors de déficit énergétique par insuffisance d'apport alimentaire, la néoglucogenèse ne pouvant utiliser un précurseur spécifique (propionate), va utiliser des acides aminés glucoformateurs qui seront alors en quantité insuffisante pour les synthèses des protéines, notamment du lait : d'où une baisse du taux protéique [29]. Cependant, le taux butyreux (TB) reste maintenu car les corps cétoniques, peuvent être utilisés comme précurseurs pour la synthèse d'acides gras au niveau mammaire [29]. En parallèle, la motricité du réticulo-rumen se ralentit, tant en amplitude qu'en nombre de contractions, menant à la stase digestive qu'il faut différencier de la constipation. L'animal produit alors des bouses dures et foncées recouvertes de mucus. Après 24 ou 48h d'évolution, la température est toujours normale, mais nous observons l'apparition de symptômes généraux avec une modification du comportement : abattement, hypotonie, somnolence avec parfois des crises d'excitation. L'amaigrissement est très rapide du fait de la lipolyse et de la protéolyse. Cela est d'autant plus visible si les animaux étaient en excellent état d'embonpoint. Les vaches perdent beaucoup plus rapidement de poids que lors d'une simple diminution d'appétit. Les troubles nerveux sont inconstants dans la cétose de dépérissement : ataxie, amaurose partielle.

La cétose nerveuse ou acétonémie tétaniforme hypoglycémique [3] est caractérisée par des signes qui apparaissent le plus souvent soudainement, évoluent sous formes d'épisodes de une à deux heures et réapparaissent à intervalles réguliers. En général, une crise se déclenche toutes les huit-douze heures. Se sont des crises de "delirium" avec marche en cercle (quelquefois jusqu'à la crise convulsive) ou une attitude de stupeur. On observe de l'hypermétrie et une ataxie locomotrice, des attitudes anormales comme une position de « self-auscultation » ou un « pousser au mur », une amaurose, des mugissements, un léchage intense de la peau ou des objets (quelquefois jusqu'à l'automutilation), des mouvements de mastication avec hypersalivation, une hyperesthésie, de l'agressivité, des fasciculations musculaires...

Environ 10 à 15 % des animaux développant une cétose clinique montrent des symptômes nerveux [53 ; 87].

➤ Les cétooses secondaires :

Elles sont dues à une exacerbation du catabolisme des lipides associée à une baisse d'appétit d'origine diverse: douleur (ex: réticulopéritonite traumatique) ou maladie infectieuse avec élévation de la température centrale (lors de mammite, métrite, pyélonéphrite, indigestion gastrique, déplacement de caillette...)

D'ailleurs, des études ont montré que le risque de cétose secondaire est multiplié par 23,6 après une parésie post-partum, et par 16 après une rétention placentaire [27].

Les symptômes classiques de la cétose s'ajoutent à ceux de l'affection qui a entraîné secondairement l'apparition d'un état cétosique.

➤ Les cétooses subcliniques :

Dans le cas d'une cétose subclinique, peu de symptômes sont décelables par l'éleveur, si ce n'est une diminution de production et souvent une élévation du TB du lait [23].

En effet, on constate une élévation de la concentration sanguine en corps cétoniques sans expression clinique majeure [23]: elle correspondrait ainsi à un stade précoce de cétose primaire.

La cétose subclinique serait plus courante que la cétose clinique à proprement parler [23].

Différentes études ont montré qu'elle est fréquente chez un grand nombre de vaches laitières hautes productrices entre 2 et 7 semaines post-partum, avec des prévalences variant de 7 à 34% [78 ; 23]. Emery et coll. (cités par Duffield [23]) déclarent même que 50% des vaches laitières passeraient par un épisode de cétose subclinique en début de lactation.

Il suffit alors à ce moment-là d'une très faible perturbation nutritionnelle ou métabolique pour voir ces vaches basculer vers la cétose clinique : elles commencent d'abord à perdre l'appétit, puis la cascade des autres symptômes de la cétose clinique s'enchaînent.

Comme il l'a été mentionné auparavant pour les cétooses cliniques, la cétose subclinique revêt surtout une importance économique puisqu'on observe en général des problèmes d'infertilité [27] : anoestrus, suboestrus qui sont apparemment dus soit à un problème ovarien retardant l'apparition de l'oestrus, soit à une endométrite.

On soupçonne l'intervention du facteur de croissance insuline-like 1 (IGF-1) qui stimule le fonctionnement ovarien en agissant sur la granulosa chez les bovins et qui stimulerait également la production de stéroïdes. La concentration sanguine de cette hormone est sous la dépendance des statuts énergétiques et protéiques de l'animal ; ainsi sa concentration se trouve abaissée lors de déficit énergétique et elle augmente dès qu'il s'améliore, s'accompagnant alors d'une augmentation de la progestéronémie [102].

Ces problèmes de reproduction sont accompagnés, comme lors de cétose clinique, d'une diminution de la production lactée de 1 à 9% (soit environ 1 à 1.5 Kg/J), et d'une chute du TP du lait [78 ; 101]. La perte sur une lactation entière atteindrait 300 à 450 Kg [23].

Il a même été trouvé une association entre la présence d'une cétose subclinique et la survenue de mammites [68 ; 23].

⇒ En réalité, il est difficile d'estimer le coût exact des formes subcliniques puisque de telles maladies ne sont parfois même pas détectées par l'éleveur. Il en résulte une mésestimation de leur coût réel, tandis que les cétozes d'expression clinique voient leur coût surévalué. [68].

2. Forme normo- ou hyperglycémique

Elle peut également prendre le nom d'hépatonéphrose puerpérale, de cétose diabétogénique ou encore plus couramment de « syndrome de la vache grasse » :

Ce type de cétose a le plus souvent lieu dans l'immédiat post-partum, généralement entre 5 et 35 jours après la mise bas [11]. Elle touche des animaux obèses et fait partie d'un syndrome plus global de stéatose hépatique lié à une lipomobilisation excessive qui peut faire suite, chez des vaches laitières hautes productrices, à une balance énergétique négative associée à un stress alors que l'animal reçoit une ration ajustée à ses besoins.

Il semblerait que ce type de cétose coïncide à la cétose spontanée exposée par Kronfeld [62] et à la cétose de type 2 (par analogie au diabète sucré de type 2 de l'obèse qui est non insulino-dépendant [46]) décrite par Holtenius et coll. [51].

Les symptômes cliniques se déclarent habituellement après la mise-bas, mais parfois ils sont évidents avant le vêlage [38].

Dans ce dernier cas, l'apparition de signes cliniques dus à une stéatose hépatique peut avoir lieu juste avant le vêlage chez des vaches gestantes de jumeaux dont on a fortement réduit la ration pendant les six dernières semaines de gestation afin de limiter le risque de dystocie suite à un état d'embonpoint trop important. Néanmoins, cette affection s'avère être sporadique (1% d'animaux atteints) mais toujours de pronostic fort sombre (100% de mortalité). [11]

Quant au « **syndrome de la vache grasse** », il survient la plupart du temps à la fois brutalement et immédiatement en post-partum, dans les 15 jours après le part en général.

Il peut de ce fait participer à l'apparition d'une fièvre de lait suite à l'action hypocalcémiante et hypomagnésiémiante des enzymes lipolytiques [11 ; 71].

Ce syndrome correspond à une forme d'expression clinique plus grave de la cétose de lactation et se rencontre, comme nous l'avons précisé auparavant, chez des vaches en état d'embonpoint excessif au vêlage. Leur Niveau d'Etat Corporel (NEC) atteint ainsi la note de 4 ou plus sur une échelle s'étendant de 1 à 5 [38 ; 71 ; 86]. C'est le cas par exemple d'une vache de race Prim' Holstein pesant plus de 680 Kg [11].

Il faut cependant noter que la perte de poids peut être très rapide une fois la maladie installée, ce qui fait qu'au moment où l'on est amené à intervenir, l'animal peut présenter un état corporel normal [38].

Deux types de symptômes sont habituellement rencontrés [11]:

- En hyper : hyperesthésie, excitabilité, «tics» répétés inlassablement, tremblements, fasciculations musculaires, agressivité, incoordination musculaire, amaurose.
- Ou à l'inverse en hypo avec à l'extrême une forme comateuse grave.

Ces vaches ne sont en général pas en décubitus permanent au début à moins que la maladie soit associée à une fièvre de lait [44].

Les signes cliniques présents s'accompagnent presque toujours d'une cétonurie, ce qui montre que les mécanismes métaboliques entre la cétose dite « classique » et le « syndrome de la vache grasse » sont proches. [38 ; 44]

Cliniquement, on observe pour la forme aiguë un animal qui, 24 à 48 heures après vêlage, présente des signes peu caractéristiques : de l'apathie avec parfois un décubitus et des tremblements, et de l'anorexie suite à un arrêt de la motricité gastro-intestinale. Ceci chez de très bonnes laitières en surpoids. La production laitière est diminuée et un état fébrile est noté les premiers jours.

L'évolution se fait en 7 à 10 jours vers l'hypothermie puis la mort malgré les traitements qui ont pu être entrepris. [11 ; 32]

Pour la forme subaiguë, on observe des signes plus discrets.

Ce type de maladie avec une stéatose hépatique sévère prédispose en fait la vache à de multiples affections du péri-partum, tant métaboliques, qu'infectieuses puisque nous avons souligné ci-dessus la présence d'un certain déficit immunitaire chez ces animaux [50].

Ainsi, la vache peut présenter secondairement un déplacement de la caillette, une fièvre de lait, une indigestion, une rétention placentaire, une métrite (très fréquente), des affections podales, ou encore une mammite.... Cela explique les difficultés rencontrées dans le traitement de cette maladie. [38 ; 102 ; 71 ; 44]

La mortalité peut dépasser 25% des animaux atteints si un traitement adapté n'est pas rapidement mis en place et si les maladies intercurrentes ne sont pas traitées [71].

Dans un élevage où l'on a déjà observé un ou plusieurs cas d'expression clinique de ce syndrome, il est fort probable que les autres animaux en début de lactation souffrent d'une forme atténuée (subclinique) de la maladie durant les trois ou cinq semaines qui suivent le part.

La clinique ne fait qu'apporter une suspicion puisque le "syndrome de la vache grasse" ne présente pas de signes pathognomoniques. Ainsi, seul le recours au laboratoire permet un diagnostic de certitude grâce à des analyses sanguines et/ou à la réalisation d'une autopsie ou d'une biopsie hépatique lorsque cela est possible.

3. Lésions

Du point de vue lésionnel, on assiste dans le cas du « syndrome de la vache grasse » à une stéatose hépatique, puis à une véritable dégénérescence graisseuse du foie et des reins, d'où une autre dénomination de ce syndrome: hépatonéphrite puerpérale [11]. Il s'agit d'une maladie métabolique, les lésions sont donc peu nombreuses.

Des triglycérides s'accumulent surtout dans le foie et en quantité importante. Chez une vache saine, la proportion de triglycérides au sein du tissu hépatique ne dépasse pas 5% du poids du foie frais [32]. Il est néanmoins nécessaire de savoir qu'une infiltration lipidique moyenne à modérée (15 à 30%) est très fréquemment observée dans le foie des vaches laitières hautes productrices en proche post-partum sans pour autant observer de signes cliniques [71 ; 44 ; 32].

➤ **Au niveau macroscopique :**

On constate une abondance des réserves graisseuses en de multiples endroits : tissu sous-cutané, plèvres, péritoine, péricarde, épiploon, graisse péri rénale, muscles (graisse inter et intramusculaire)... On observe également une hypertrophie des surrénales due à une infiltration graisseuse du cortex. [11]

La lésion la plus spécifique et la stéatose hépatique qui fait suite à une accumulation de triglycérides [44]. Le foie présente une hypertrophie marquée, des bords mous, il est friable à la manipulation et il est également décoloré. La décoloration varie entre une couleur plus pâle que la couleur normale lors de stéatose modérée, à une coloration jaune orangée en cas de stéatose hépatique sévère. La tranche de section montre la dégénérescence graisseuse de l'ensemble du parenchyme marquée par une coloration jaune safran. Cette infiltration graisseuse fait qu'un échantillon de cet organe mis dans un récipient rempli d'eau flotte. [11]

➤ **Les lésions microscopiques :**

Elles sont observées dans le **foie**, les **reins** et le **cœur**.

Les hépatocytes qui ont perdu leurs réserves en glycogène sont remplis de grandes vacuoles lipidiques surtout dans la région centrolobulaire. Elles proviennent de la fusion de plus petites gouttelettes et elles repoussent en général le noyau vers la périphérie de la cellule.

On observe également de plus petites vacuoles dans la région périportale (périphérique).

L'infiltration lipidique semble en effet commencer dans l'aire centrale du lobule et progresser vers la périphérie.

Cet envahissement lipidique des hépatocytes augmente leur volume, diminue celui des organelles, réduit le réticulum endoplasmique granuleux et quelquefois altère la structure mitochondriale. [44 ; 59]

Ceci marque la dégénérescence graisseuse du foie. Si l'on a fusion des hépatocytes envahis par les graisses, on peut avoir formation de véritables kystes graisseux [102], et cela peut aller jusqu'à la nécrose qui abouti à plus ou moins long terme à une fibrose des parties du foie touchées [11]. Cette augmentation du volume des cellules hépatiques peut provoquer une compression des vaisseaux sinusoides.

Si la biopsie ou l'analyse histo-pathologique sont réalisées à un stade beaucoup plus avancé, on peut même observer des zones de fibrose qui ont remplacé les zones de nécrose [102].

On peut également constater la présence de ces vacuoles au sein des cellules épithéliales du rein et entre les fibres myocardiques du cœur [11].

Cette stéatose hépatique abouti à une insuffisance hépatobiliaire qui explique en partie les symptômes observés: troubles digestifs, ictère, troubles rénaux (néphrose suite à l'augmentation de la concentration sanguine en toxiques), et troubles liés directement à l'intoxication endogène: troubles de l'appétit, asthénie, ataxie et décubitus.

Tableau 1 : Tableau comparatif des paramètres épidémiocliniques des deux types de cétose :

		Cétose de type I	Cétose de type II
Critères épidémiologiques	Période de survenue	pic de lactation : 3-4 semaines post-partum	Souvent dans les 15 jours post-partum
	Age de survenue	surtout entre 5 et 8 ans	n'importe quel âge
	Mode de survenue des signes cliniques	Progressif	Aigu (suite à un stress)
	État corporel au vèlage	bon état ou vache maigre	obésité
	Tarissement	normal voire écourté	allongé
Critères cliniques	Chute de production	importante	importante
	Baisse de l'appétit	importante	importante
	Température corporelle	normale	augmentée au début, puis normale voire diminuée
	Pica	fréquent	rare
	Stase digestive	présente	présente
	Complications du part (métaboliques ou infectieuses)	possibles	plus nombreuses, plus graves (décubitus)
	Gravité	+ à ++	++++
	Evolution spontanée	souvent favorable en 10-30 jours	souvent défavorable (mortalité), sinon convalescence longue
	Lésions	stéatose hépatique faible à modérée	stéatose hépatique et rénale importante, abondance des réserves graisseuses

V. Modifications biologiques

Les signes cliniques s'accompagnent d'hyper cétonémie, de cétonurie, d'importantes concentrations sanguines en AGNE, et quelquefois d'hypoglycémie.

Les différentes concentrations de ces produits ne sont bien souvent pas corrélées directement avec l'intensité des signes cliniques, d'où la difficulté d'établir des échelles de valeurs permettant éventuellement de juger à travers ces mesures de la gravité de l'atteinte chez un animal donné ou dans un troupeau [48].

Si on ne peut pas détecter la présence de corps cétoniques dans les urines ainsi que dans le lait, l'hypothèse de cétose peut être écartée. Par contre, la présence d'une hypoglycémie, d'une cétonémie et d'une cétonurie n'est pas suffisante pour poser un diagnostic de cétose primaire. [1]

En effet, tout facteur capable d'entraîner une diminution voire un arrêt de l'alimentation de la vache laitière en début de lactation est susceptible de provoquer une cétose secondaire au jeûne.

Lors de stéatose hépatique (lésion dominante du « syndrome de la vache grasse »), on observe des perturbations structurelles et fonctionnelles du foie, ce qui engendre des conséquences cliniques et biochimiques [59]: diminution du taux d'albumine sanguine, augmentation des enzymes mitochondriales dans le sang comme l'ASAT suite à des dégâts mitochondriaux.

1. Biochimie sanguine

Il s'avérerait inutile de réaliser des dosages dans l'immédiat post-partum (moins de 3 jours) : on trouve en effet des valeurs ininterprétables car très variables.

De plus, il y aurait présence d'une hémodilution chez les vaches laitières en début de lactation, surtout les très fortes productrices et chez celles traitées à la GH.

Cela conduit à une diminution globale des valeurs de tous les paramètres. [93]

En outre, l'intérêt des mesures biochimiques sanguines semble particulièrement limité lors de cétooses cliniques : il existe d'autres méthodes tout aussi sûres et moins onéreuses, comme la détection de rejets importants de corps cétoniques dans l'urine ou dans le lait [84].

➤ Glycémie :

Il est nécessaire de toujours tenir compte de la production laitière et du stade physiologique de la vache dans l'interprétation d'une valeur de glycémie [96 ; 101].

En effet, on assiste en début de lactation (pendant les deux premiers mois) à une diminution d'environ 10% du taux de glucose sanguin chez une vache laitière. La teneur en glucose du sang serait minimale dans le courant de la deuxième semaine après mise-bas [20] et remonterait en général dès la troisième semaine puisque la production laitière n'augmentant plus et l'ingestion s'accroissant, le bilan énergétique redeviendrait alors positif [87].

Les valeurs normales de la glycémie sont donc [4 ; 5 ; 96]:

- En début de lactation : de 0,4 à 0,55 g/L soit 2,1 à 3,1 mmol/L.
Radigue [76] considère dans un article récent que les valeurs usuelles sont situées entre 0,5 et 0,6 g/L (2,75-3,3 mmol/L) en début de lactation, mais cela semble un peu élevé.
- Après 100J (>13 semaines) de lactation : de 0,6 à 0,75 g/L soit 3,3 à 4,13 mmol/L.

La glycémie est considérée fréquemment comme un indicateur du statut énergétique. Cependant, de fortes variations de la néoglucogenèse et de l'utilisation du glucose ne se traduisent pas obligatoirement par des variations importantes de la glycémie [11].

La glycémie n'est interprétable que si le niveau azoté est suffisant ; cela correspond à une urémie supérieure à 0,30 g/L (5,8 mmol/L environ) pour les vaches laitières en début de lactation [97].

Il existe également des facteurs indépendants de l'animal et inhérents à tout prélèvement qui sont susceptibles d'intervenir [91]:

- le type d'anticoagulant utilisé dans le tube de prélèvement : les tubes à fluorure de sodium limitent la consommation du glucose par les hématies.
- le délai de récupération du sérum après la prise de sang : il existe en effet une dégradation du glucose par les globules rouges tant que l'échantillon n'a pas été centrifugé et séparé.
- la température de conservation des échantillons avant analyse.

Pour la cétose hypoglycémique (*annexe 1*), il est en général noté que les cas cliniques sont associés à des valeurs de glycémie inférieures à 35 mg/dL (soit 1,93 mmol/L) [48] pour certains, entre 20 et 40 mg/dL (1,1-2,2 mmol/L) [99] voire en dessous de 45 mg/dL (2,475 mmol/L) pour d'autres [99].

L'hypoglycémie est corrélée avec de nombreux troubles (amaigrissement, sous-production, infertilité, stéatose hépato-rénale, faible TP) dont la cétose.

Dans les cas de cétose, la diminution de la glycémie a lieu bien avant l'expression des premiers signes cliniques, d'où une détection précoce possible. [96]

Cependant, une hypoglycémie observée chez un ruminant adulte peut faire suite à une entérite aiguë d'origine toxique, à une mammite colibacillaire, à une septicémie, ou à un syndrome d'occlusion intestinale [11].

Il conviendra donc d'être vigilant dans notre examen clinique afin d'être en mesure d'éliminer ces différentes pathologies.

On peut cependant observer des glycémies subnormales voire normales chez des vaches en cétose depuis plusieurs jours, ce qui montre que l'hypoglycémie n'est pas la seule cause de la maladie, même si celle-ci en est une manifestation très fréquente.

Lors de cétose secondaire, la glycémie est toujours supérieure à 0.4 g/L (2,2 mmol/L) et dépasse souvent 0.5 g/L (2,75 mmol/L).

Lors de « syndrome de la vache grasse », la glycémie n'est pas modifiée de façon significative : selon les auteurs, elle est soit abaissée, soit normale [59].

Comme nous l'avons précisé auparavant, il y aurait une certaine insulino-résistance, et donc une hyper-insulinémie associée à une hyperglycémie. Cependant, l'hyperglycémie et l'hyper-insulinémie menant à l'insulino-résistance ne seraient présentes que pendant la période précédant les signes cliniques [80 ; 81]. Ainsi, cela expliquerait que l'on trouve des glycémies normales chez des vaches suspectées de développer une cétose de type 2.

➤ **Insulinémie :**

L'insuline est une hormone à la fois « glucorégulatrice » et « liporégulatrice ».

Elle diminue la concentration en corps cétoniques (ils stimuleraient d'ailleurs sa sécrétion).

Ceci, en augmentant leur utilisation, en limitant le relargage d'AGNE par le tissu adipeux, en diminuant la captation des AGNE par le foie et en empêchant le transport des AGNE dans les mitochondries hépatiques (lieu de la cétogenèse) par inhibition de l'activité de la CPT 1.

Elle stimulerait donc la synthèse de triglycérides hépatiques. [47 ; 46]

On remarque que, indépendamment de la balance énergétique, l'insulinémie diminue en début de lactation. Cette chute est accentuée lorsque la balance devient négative et les vaches en cétose de type 1 auraient une insulinémie inférieure aux autres vaches situées au même stade physiologique. [56 ; 47]

Beaucoup d'auteurs s'accordent pour déclarer que l'hypoglycémie présente lors de cétose mène très souvent à une diminution de l'insulinémie, ce qui facilite le basculement de la synthèse de lipides vers leur dégradation au sein du tissu adipeux [20 ; 88], mais cela ne semble pas toujours être le cas comme le déclarent Hamada et coll. [41].

Il semblerait en effet qu'une vache souffrant de cétose de type 2 soit en normo- ou hyperinsulinémie associée à une insulino-résistance.

➤ **Urémie:**

L'urée sérique est, chez une vache en bonne santé, un indicateur de l'équilibre alimentaire entre apport azoté et énergétique des protéines de la ration (elle permet de vérifier l'équilibre PDIN/PDIE de la ration) et de la capacité de la biomasse du rumen à bien transformer l'azote alimentaire en composés azotés microbiens [92 ; 93] : elle reflète la balance énergie/protéines. En effet, il est souvent difficile de connaître avec certitude les conditions d'alimentation, notamment : lors de mauvaise connaissance des ingrédients de la ration (valeur nutritive réelle, composition exacte...) ou lorsque les animaux sont en pâture.

La mesure de l'urémie permet ainsi d'évaluer les facteurs de risque de cétose.

Les valeurs usuelles de l'urémie chez les vaches en début de lactation sont de: 2,8 à 8,8 mmol/L [1] soit 200 à 400 mg/L environ. Le taux d'urée sanguine est le même que le taux d'urée dans le lait [101].

L'urémie s'interprète en fonction de la glycémie et on considère que le rapport glycémie/urémie doit être voisin de 2 en début de lactation chez une vache laitière saine (raisonnement en g/L) [101].

Il faut également tenir compte du tableau clinique présenté par l'animal : en effet, un animal en hyperthermie ou atteint d'une néphrite voit son taux d'urée sanguine modifié [101].

La mesure du métabolisme azoté, notamment en début de lactation doit être faite à partir de l'urée sanguine. Sa valeur est fréquemment diminuée lors d'atteinte hépatique comme la stéatose, l'accumulation de triglycérides dans les hépatocytes diminuant le taux d'uréogénèse [49].

➤ **AGL = AGNE (annexe I):**

Le degré d'élévation du taux d'AGNE par rapport à la normale permet de juger de la lipomobilisation et donc du déficit énergétique instantané.

Leur concentration est augmentée dans l'urine, le sang et le lait lors d'état cétosique.

Il est en général noté que les cas cliniques sont associés à des concentrations en AGNE supérieures à 1000 μ Eq/L [48]. Ils sont surtout très augmentés dans le « syndrome de la vache grasse » [11].

Beaucoup d'études ont montré que le paramètre sanguin mettant le mieux en évidence une stéatose hépatique est la concentration en AGNE [38], excepté une étude expérimentale de 1995 dont parle Jean-Blain [56] qui montrerait qu'il n'existe pas de corrélation entre la concentration en AGL dans le sang et l'importance de la stéatose hépatique.

Cependant, des augmentations des AGNE, même si elles s'avèrent être moins importantes, sont également rencontrées lors de beaucoup de maladies du post-partum, et pas seulement lors de cétose et de stéatose hépatique : déplacement de caillette à gauche, fièvre de lait et rétention de placenta [104].

Des bovins déclenchant une cétose clinique ont montré des valeurs hautes en AGL longtemps avant le déclenchement des signes cliniques [20] ; d'où une détection précoce possible, tout comme avec la glycémie.

➤ **Enzymes témoins de la fonction hépatique:**

Dans les cas de « syndrome de la vache grasse », il a été noté qu'un certain nombre de témoins de la fonction hépatique indiquent une atteinte hépatocytaire et une insuffisance biliaire [11 ; 32 ; 72]:

- Augmentation de l'activité de l'ASAT (= Aspartate-Amino-Transférase = SGOT) , ce qui indique une « souffrance » des hépatocytes.
- De l'OCT (Ornithine Carbamyl Transférase)
- De la LDH (Lactate DésHydrogénase)
- De la GD (Glutamate Déshydrogénase)
- Et de la SDH (Sorbitol DésHydrogénase)

Les activités de l'OCT, de la GD et de la SDH ne sont cependant pas mesurées par les analyseurs courants, et celles de l'ASAT et de la LDH présentent un problème de spécificité [32 ; 63].

En effet, l'ASAT est présente dans les mitochondries et le cytosol des hépatocytes, mais également dans ceux de plusieurs autres types de cellules, notamment musculaires [91]. C'est pourquoi, l'ASAT s'avère être un paramètre peu spécifique du foie puisqu'il peut signer à la fois une lésion hépatique et/ou musculaire [25 ; 4 ; 10 ; 19].

La valeur de l'activité de l'ASAT augmente avec la perte d'intégrité des membranes cellulaires, souvent suite à un état d'anoxie, à la présence de toxines, à un processus d'inflammation ou à des problèmes d'ordre métabolique (dont la cétose fait partie) [12].

Les enzymes hépatiques chez les vaches cétosiques sont habituellement plus élevées que chez des vaches tariées, mais sont encore situées dans les valeurs usuelles [71].

Les valeurs sériques moyennes de l'ASAT sont variables selon les auteurs et les publications : environ 90 UI/L pour Tremblay [91], 47 UI/L pour Brugère-Picoux et coll. [12], 30 à 56 UI/L pour Kuiper [63]...

Les études menées pour montrer l'utilité de doser les enzymes hépatiques pour aider au diagnostic de stéatose hépatique se sont révélées pour la plupart infructueuses.

Dans une étude de Cebra et coll.[16], il a été trouvé qu'une valeur élevée de l'activité de l'ASAT (plus de deux fois supérieure aux valeurs usuelles) possède une sensibilité de 83% et une spécificité de seulement 62% en ce qui concerne la stéatose sévère.

Ainsi, on déclare en général que c'est seulement lors de stéatose hépatique très avancée (donc lors d'importants dommages hépatiques) que l'on constate une élévation de son activité [38 ;

44 ; 89]. Les auteurs admettent en général que des valeurs dépassant les 100 UI/L sont compatibles avec l'existence d'un foie gras. [38]

On considère alors, en l'absence de lésions musculaires, que l'ampleur des variations de l'activité de l'ASAT sérique est corrélée au nombre d'hépatocytes touchés [91] et elle semble être un indicateur très sensible des désordres du foie, même lorsqu'ils sont subcliniques [59]. De même, seule l'activité sérique de l'ASAT serait significativement corrélée au degré d'infiltration en triglycérides du foie (stéatose hépatique) [59 ; 54]. En effet, les autres dosages d'enzymes hépatiques et tests de la fonction hépatique ont seulement montré une faible corrélation avec le degré d'infiltration en triglycérides et un pouvoir prédictif bas. [38]

➤ GGT:

La plupart des cellules ont une activité GGT. Toutefois, l'activité catalytique de la GGT est d'abord d'origine hépatique : elle augmente lors de cholestase [25], quelquefois lors de problèmes pancréatiques, mais pas lors d'atteintes rénales. Elle peut aussi se trouver élevée lors de traitement aux corticoïdes ou à certains anthelminthiques comme les benzimidazoles [19].

Sa mesure dans le sang est le test le plus sensible des désordres hépatobiliaires chez les vaches adultes [19]. De plus, une élévation de l'activité de la GGT paraît être chez les bovins très spécifique d'une insuffisance hépatique [84]. En effet les lésions hépatiques sont fréquemment accompagnées d'un gonflement des cellules qui peuvent comprimer les canalicules biliaires et causer alors une cholestase [25] qui peut être mise en évidence par une élévation de l'activité de la GGT plasmatique (lésion des voies excréto-biliaires) [4]. Cependant l'induction de cette hormone nécessite un délai de quelques jours après le début de l'agression [25].

L'indication principale de cette mesure chez les vaches laitières hautes productrices consisterait en l'établissement d'un pronostic (dépendant de l'importance de son élévation) lors de stéatose hépatique [19 ; 67].

Les valeurs normales se situent en général pour la plupart des auteurs entre 5 et 25 UI/L [1 ; 58 ; 5]. Toutefois, Radigue [77] signale une stéatose hépatique dès 20 UI/L, tandis que Salat [82] la suspecte seulement à partir de 40 UI/L.

➤ Triglycérides :

Les triglycérides contenus dans les VLDL et les chylomicrons sont principalement responsables de la valeur de la triglycéridémie.

Celle-ci se situe en moyenne entre 0,17 et 0,51 mmol/L (*source : laboratoire de biochimie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon*).

Sa valeur sérique varie en fonction de plusieurs facteurs [91]:

- l'apport alimentaire (sous forme de chylomicrons),
- l'importance de la lipomobilisation des graisses de réserve,
- et la synthèse de lipoprotéines par le foie, essentiellement les VLDL.

↳ Son dosage permettra donc une évaluation de ces trois paramètres.

La stéatose hépatique est caractérisée en général par une accumulation de triglycérides dans le foie, une concentration sérique élevée en AGNE et également par une réduction de la concentration sérique en triglycérides. Cela suggère une réduction du rendement du foie en ce qui concerne la synthèse des lipoprotéines [38], mais seulement suite à un épuisement des réserves adipeuses [4 ; 5].

➤ **Cortisol :**

Il est admis que l'hypoglycémie lors de cétose provoque une augmentation de la concentration basale en cortisol. Le cortisol stimule alors la protéolyse musculaire et la néoglucogenèse hépatique à partir des acides aminés glucoformateurs ainsi libérés.

De plus, ce cortisol pourrait concourir à la sévérité et/ou à la durée de l'immunosuppression dans la période du post-partum, puisque les glucocorticoïdes sont connus pour induire une baisse des taux d'anticorps et du nombre de polynucléaires éosinophiles [102].

Une vache saine possède une cortisolémie entre 15 et 19 $\mu\text{mol/L}$ (soit 0,54-0,68 $\mu\text{g/dL}$) [58]. Le temps de demi-vie du cortisol est bref (de quelques minutes à quelques heures).

➤ **Bilirubinémie :**

La bilirubine est synthétisée puis rejetée via la bile par le foie suite au catabolisme de l'hémoglobine et de la myoglobine [84].

Pour certains, le taux de bilirubine totale dans le sang est un indicateur très sensible des désordres hépatiques, même lorsqu'ils sont subcliniques [59]. Pour d'autres [10], ce paramètre ne semble pas avoir une valeur diagnostique importante chez les bovins. Il peut cependant se trouver augmenté lors d'hémolyse (ex : anémie hémolytique) ou de problème hépatique (notamment cholestase) [63].

Sa valeur serait augmentée chez les vaches atteintes de cétose de type 2 avec stéatose hépatique sévère. Cependant, même si une forte augmentation signe une insuffisance hépatique, elle ne permet pas de déclarer s'il y a lésion hépatique ou non [84].

Les valeurs normales de bilirubine totale sanguine chez une vache laitière se situent entre 0,17 et 8,55 $\mu\text{mol/L}$ (soit 0,01-0,5 mg/dL) pour Kaneko [58] et en dessous de 0,3 $\mu\text{mol/L}$ (0,017 mg/dL environ) pour Aubadie-Ladrix [5]. Un ictère peut apparaître pour des valeurs de bilirubinémies de l'ordre de 10-15 $\mu\text{mol/L}$ [4].

Dans une étude de Dale et coll. [20], la bilirubinémie est en moyenne élevée tout au début de la lactation, puis elle suit une lente diminution avec l'avancement de la lactation.

De même, Busato et coll. [14] ont constaté une augmentation parallèle du taux d'AGNE et de la bilirubine totale pendant les périodes de balance énergétique négative.

Cette élévation pourrait être expliquée par la présence d'une stéatose hépatique pendant cette période de début de lactation. D'ailleurs la valeur élevée de la concentration en AGNE au même moment appuie cette thèse. Le mécanisme évoqué serait une réduction de l'élimination de la bilirubine par le foie suite à la compétition avec les AGNE pour les systèmes de transport hépatique. [20 ; 14]

Dans la première étude, il n'a pas été trouvé de relation significative entre la bilirubinémie et la balance énergétique chez les vaches à appétit normal. En revanche, on a remarqué une augmentation significative du taux de bilirubine sanguine chez les animaux à appétit diminué. [20].

Pehrson [72] a montré que la concentration en bilirubine, tout comme l'activité de l'ASAT, est augmentée chez les bovins cétosiques. Kauppinen [59] a trouvé une corrélation positive et significative entre la concentration plasmatique en acétoacétate et la bilirubinémie totale chez les vaches en cétose clinique uniquement.

Cependant, sa spécificité s'avère faible : Cebra et coll. [16] ont trouvé la spécificité d'une valeur anormalement élevée de bilirubinémie très faible : de l'ordre de 8% pour une stéatose hépatique importante.

➤ Corps cétoniques sanguins (*annexe 1*):

Il faut être vigilant quant à l'interprétation des concentrations en corps cétoniques puisqu'elles peuvent varier en fonction de la méthode employée et du laboratoire qui a réalisé les mesures. Cette concentration est le résultat d'un équilibre entre leur production dans le foie et le rumen, et leur utilisation par les tissus périphériques [78].

Pour une détermination quantitative de la concentration dans un échantillon de sérum ou de plasma, il vaudra mieux mesurer le taux de béta hydroxybutyrate qui est non modifié par le stress (à la différence de la glycémie [5]) et qui donne une bonne évaluation de la gravité de la cétose. En effet, l'acétoacétate est présent en quantité moindre dans le sang et est plus difficile à doser que le béta hydroxybutyrate car il est plus volatile, donc très instable.

Par contre, en présence de rations riches en sucre de betterave ou en mélasse, il sera important de doser également l'acétoacétate puisqu'il est apporté en quantité non négligeable par ces deux composés [102].

D'autre part, il est important de ne pas effectuer les prélèvements sanguins à la veine mammaire car la glande mammaire tend à extraire du béta hydroxybutyrate et à relarguer de l'acétoacétate, ce qui fausserait les valeurs de ces deux corps cétoniques [23 ; 5].

On constate couramment lors de cétose clinique une concentration en corps cétoniques (comprenant à la fois l'acétone, l'acétoacétate et le béta-hydroxybutyrate) supérieure à 30 mg/dL (environ 2,9 mmol/L), les concentrations en béta-hydroxybutyrate seul dépassant le plus souvent 25 mg/dL (2,4 mmol/L) [48].

Dans le cas d'une cétose secondaire, la cétonémie est rarement supérieure à 50 mg/dL (environ 4,85 mmol/L).

➤ **Autres dosages:**

L'albuminémie semble diminuer avec l'importance de la stéatose hépatique. Ceci est dû à une diminution de la synthèse hépatique [11].

Un état d'acidose métabolique peut également être rencontré [84].

2. Hématologie

➤ **Cellules sanguines :**

La numération des cellules sanguines est réalisée tout d'abord afin d'aider dans le diagnostic du type de cétose (primaire ou secondaire).

Cette mesure est également destinée à rechercher d'éventuelles modifications hématologiques en relation avec l'état de cétose :

- On observe en général une lymphopénie et une neutropénie relatives suite à l'hypoglycémie présente lors de cétose de type 1. Mais une lymphopénie peut aussi être observée lors de stress, de traitement aux corticostéroïdes, d'infection virale aiguë, d'endotoxémie sévère, de septicémie, de péritonite ou de pleurésie aiguë, ou lors de salmonellose. Une neutropénie peut être remarquée lors de septicémie (suite à une mammite, une métrite, une péritonite ou une pleurésie aiguës) et d'endotoxémie, mais également dans les 12 premières heures d'un processus inflammatoire [34].
- Lors de « syndrome de la vache grasse » il est fréquemment noté une leucopénie (environ 2500/mm³ au lieu de 4000-12000/mm³) avec déplétion lymphocytaire et neutrophilie [11 ; 71 ; 102]. Mais une administration de corticostéroïdes, le stress ou une infection bactérienne peuvent également entraîner une neutrophilie [34].

Cette leucopénie pourrait expliquer que les vaches atteintes soient plus sujettes aux complications infectieuses, d'autant plus que l'on observe fréquemment une immunodéficience souvent présente avant le vêlage [102].

La glycémie n'est pas le reflet du bilan énergétique car sa valeur peut très rapidement fluctuer. Par contre, on pourrait considérer la valeur de la concentration sanguine en hémoglobine comme le reflet du bilan énergétique cumulé.

➤ **Hématocrite :**

Il augmente au-dessus de 40% lors d'hémoconcentration, c'est-à-dire lors d'état de choc, lors de maladie aiguë infectieuse ou métabolique, de déshydratation. Il diminue en dessous de 26% lors d'hémodilution (anémie: suite à des pertes sanguines, ou à une insuffisance de l'érythropoïèse) [10 ; 63 ; 97].

Les causes de l'anémie sont multiples [94]:

- Carences : sous-nutrition azotée, déficit énergétique, carence en vitamines A et E, carence minérale (fer, cuivre, zinc, cobalt).
- Dysfonctionnements métaboliques. En effet, l'activation du métabolisme des acides gras entraîne la formation d'ions peroxydes qui peuvent abîmer les membranes cellulaires dont celles des hématies. De même, la stéatose hépato-rénale peut entraîner une diminution de la synthèse d'érythropoïétine par le rein.
- Parasites (surtout distomatose).
- Maladies hémolytiques.

↳ Ainsi, l'anémie peut être corrélée avec des cas de cétose avec stéatose hépatique [94 ; 93].

Cette anémie peut s'avérer néfaste puisque elle provoque une chute de l'intensité des métabolismes (notamment au niveau hépatique) par diminution de l'apport en O₂ aux cellules par les hématies, une moins bonne résistance à l'acidose (le globule rouge joue un rôle pour limiter le phénomène d'acidose grâce à l'anhydrase carbonique), une plus grande vulnérabilité face aux infections... [94]

Mais avant de conclure à une anémie, il faut tout de même garder en tête que l'on observe physiologiquement chez la vache laitière une chute de l'hématocrite après la mise bas. Cette chute s'effectue jusqu'à un minimum qui correspond au moment du pic de déficit énergétique qui est associé à un déficit protéique conséquent avec un TP du lait bas et une note d'état corporel minimale. Toutefois dans ces cas, l'hématocrite ne descend pas en dessous de 28%. [94 ; 93 ; 54]

Comme pour les autres paramètres, les valeurs moyennes de l'hématocrite varient selon les auteurs :

Pour Vagneur [94] et Aubadie-Ladrix [5], les valeurs moyennes pour une vache tarie sont comprises entre 32 et 36 %, tandis que celles pour une vache en début de lactation se situent entre 28 et 32 %.

Dans le cadre de notre étude expérimentale, nous retiendrons les valeurs plus larges et tout aussi récentes données par Vandeputte [99]: 24-42%.

Enfin, il ne faut jamais comparer les valeurs d'hématocrites qui n'ont pas été mesurés avec les mêmes dispositifs [94].

➤ **Protéines totales :**

La mesure des protéines totales plasmatiques comprend à la fois les albumines, les globulines et le fibrinogène [93].

La plupart des protéines plasmatiques (sauf les immunoglobulines) sont synthétisées dans le foie. Cependant, lors d'atteinte hépatique, la diminution de ce paramètre est longue à se mettre en place et elle ne sera significative que lors de nécrose hépatique avancée.

La diminution de ce taux (inférieur à 65 g/L) est souvent liée à une diminution du taux d'albumine [12 ; 34 ; 93].

Comme pour l'hématocrite, le taux de protéines totales augmente (à plus de 80 g/L) en cas d'hémoconcentration qui a lieu dans la majorité des cas lorsque l'animal présente une

déshydratation (état de choc) ou lors d'élévation du taux de γ -globulines suite à un processus infectieux ou inflammatoire aigu ou chronique (ex : abcès, boiterie, mammite...). Le taux dépasse alors souvent les 100 g/L. [10 ; 12 ; 63 ; 84]

Des mesures peuvent montrer une fausse augmentation de la protéinémie lors de d'ictère ou d'hyperlipémie [99], c'est pourquoi il faut toujours comparer le résultat de la mesure de la protéinémie avec l'hématocrite [93].

3. Dosages dans l'urine et le lait

Lorsque l'on dépasse un certain seuil, les corps cétoniques sont rejetés par voie urinaire, pulmonaire et dans le lait [32].

Ce seuil est variable selon les auteurs et les publications [32]. Certains le définissent à 1 mmol/L pour la cétonémie, d'autres à 1,2 mmol/L en considérant la concentration en bêta hydroxybutyrate sanguin

Les tests sur le lait ou l'urine sont réalisés à l'aide de tests semi-quantitatifs basés sur la vision d'un changement de coloration.

Les réactifs doivent être stockés à l'abri des moisissures afin d'éviter les faux négatifs.

La différence de concentration en corps cétoniques entre l'urine et le lait fait que le test sur l'urine est plus sensible mais moins spécifique que celui sur le lait [48]. En effet, la détection de corps cétoniques (acétone et acétoacétate) dans le lait est un signe plus sûr de cétose clinique que celle dans l'urine [87].

➤ Corps cétoniques urinaires :

Les corps cétoniques sont librement filtrables dans le glomérule rénal. L'excrétion rénale et la réabsorption des corps cétoniques sont approximativement proportionnelles à leur taux de filtration (ou à la concentration plasmatique si le taux de filtration glomérulaire est constant). Il existe très certainement des parties du néphron (au-delà du tubule proximal) qui sont moins perméables aux corps cétoniques qu'à l'eau car lorsque les taux plasmatiques sont substantiellement élevés, la concentration urinaire excède la concentration plasmatique [13].

Ainsi, lors de cétose, on peut trouver des concentrations en corps cétoniques urinaires 2 à 4 fois supérieures à celles du sang [48 ; 23]. Cependant, la concentration en corps cétoniques urinaires dépend également de la quantité d'urine émise : donc, lorsqu'un grand volume d'urine est produite, la dilution des corps cétoniques est plus importante et leur concentration s'en trouve diminuée.

Il est possible de détecter une cétonurie qui dépasse un certain seuil grâce à l'utilisation de bandelettes urinaires. Ces dernières détectent en général l'acétoacétate, et quelquefois l'acétoacétate et l'acétone. Il est nécessaire de recueillir l'urine à analyser par cathétérisme vésical, afin d'éviter au maximum toute contamination qui pourrait être à l'origine de faux positifs ou de faux négatifs.

La réaction de la plage corps cétoniques est fondée sur le virage d'un indicateur coloré : le nitroprussiate de potassium [9].

Il faut savoir qu'une urine normale peut contenir quelques corps cétoniques [63], ainsi, une réaction d'une croix sur la bandelette urinaire n'est pas le signe d'une cétose. En cas de cétose secondaire, on a remarqué que la vitesse de virage des bandelettes réactives urinaires est moins rapide (1-2 secondes lors de cétose) et que la coloration est moins prononcée que lors de cétose primaire [1 ; 75 ; 76].

La concentration en corps cétoniques urinaires (acétoacétate) lors de cétose survenant à proximité du pic de lactation est souvent très élevée (80 à 160 mg/dL, soit 7,84 à 15,68 mmol/L) ; tandis que cette même concentration lors de cétose à proximité du part (« syndrome de la vache grasse ») est moins élevée (20 à 40 mg/dL, soit 1,96 à 3,92 mmol/L) [48]. En cas de doute, il est possible de diluer les urines récoltées au 1/20^{ème} pour Kuiper [63] ou au 1/10^{ème} pour Duncan et coll. [25]: si la bandelette détecte encore une cétonurie, la présence d'une cétose est confirmée.

Cependant, nous avons précisé que la concentration en corps cétoniques urinaires dépend de la quantité d'urines émises. Des résultats faussement positifs sont donc possibles [99]. De même, des résultats faussement négatifs peuvent être rencontrés en cas de multiplication bactérienne [9].

➤ **Dosages dans le lait :**

○ **Evolution des taux :**

En ce qui concerne le lait, nous avons déclaré que l'observation d'un rapport TB/TP qui dépasse 1,5 est très évocateur d'un état de cétose. Ceci est dû au fait que l'on observe une stagnation voire le plus souvent une augmentation du TB avec une proportion importante d'acides gras à chaîne longue [95]. En parallèle, le TP du lait diminue (les protéines étant prioritairement utilisées pour la néoglucogenèse)

Le TB est maintenu car on observe une mobilisation des réserves lipidiques ; or les corps cétoniques (notamment le béta hydroxybutyrate) et les AGL contribuent à la synthèse des lipides du lait [23].

Il faut cependant souligner que cette mobilisation ne peut se faire que lorsqu'il reste encore des réserves, c'est-à-dire chez des animaux en état corporel satisfaisant. Ainsi, chez des animaux extrêmement maigres où lorsque un déficit énergétique marqué dure depuis un certain temps, on peut assister en second lieu à une diminution de ce TB par épuisement des réserves [27]. De même, lorsqu'une mauvaise transition en début de lactation provoque un état d'acidose, il en résulte fréquemment une forte diminution de l'ingestion, ce qui provoque une cétose secondaire de sous-nutrition énergétique. Dans ce cas-ci également, on peut voir une diminution du TB [27].

Il faut savoir par contre que le rapport TB/TP représente un mauvais test de détection de la cétose subclinique avec une sensibilité et une spécificité de seulement 58% et 69% [23].

○ **Concentration en corps cétoniques:**

Dans le lait, les taux en corps cétoniques sont moins variables que dans l'urine et il existe une bonne corrélation avec la cétonémie [48 ; 23]. De même, il existe beaucoup moins de variations journalières que dans l'urine ou le sang [99].

La concentration en acétone dans le lait représente 95% de l'acétonémie, tandis que celle en acétoacétate correspond à 45% de la concentration sanguine en acétoacétate, et que celle en bêta hydroxybutyrate représente seulement 10 à 15% de sa concentration sanguine [23].

L'évaluation semi quantitative de l'excrétion de corps cétoniques dans le lait se réalise en routine grâce à un test au nitroprussiate de potassium. Il détecte l'acétoacétate et l'acétone qui est le corps cétonique prédominant dans le lait [17]. L'excrétion d'acétoacétate est moins stable cependant que celle du bêta hydroxybutyrate.

Plus récemment, une bande test permettant de détecter le taux de bêta hydroxybutyrate dans le lait a été développée; chaque test coûte entre 3 et 4 Euros [99].

Si l'on désire employer d'autres méthodes de mesures, on peut souligner que le dosage de l'acétone dans le lait possède les avantages d'être à la fois sensible, spécifique, et avec une bonne valeur prédictive positive pour identifier les vaches céto-siques. D'ailleurs, il a été démontré dans une étude de Cook et coll. [17] que le dosage de l'acétone dans le lait était plus fiable que le dosage du bêta hydroxybutyrate dans le lait pour détecter une cétose.

Tableau 2 : Tableau comparatif des paramètres biochimiques des deux types de cétose :

		Cétose de type I	Cétose de type II
Biochimie sanguine	Glycémie	normale ou diminuée	augmentée (avant les signes cliniques) ou normale
	Insulinémie	diminuée	augmentée (avant les signes cliniques) ou normale
	Urémie	normale à diminuée	diminuée
	AGNE sanguins	augmentés	très augmentés
	Corps cétoniques sanguins	très augmentés	augmentés
	Activité des enzymes témoins de la fonction hépatique	augmentée	très augmentée
Hématologie	Leucopénie avec déplétion lymphocytaire et neutrophilie	rarement	souvent
Dosages dans l'urine et le lait	Cétonurie	très élevée	élevée

VI. Etiologie et physiopathologie

1. Particularités du métabolisme énergétique des ruminants

➤ Néoglucogenèse intense :

La plupart des glucides alimentaires sont transformés en Acides Gras Volatils (AGV) dans le rumen : acétate (C₂), propionate (C₃) et butyrate (C₄).

Ainsi, la quantité de glucose exogène absorbée lors de la digestion est très faible. Elle représente seulement 1% de l'énergie totale absorbée dans le cas d'une ration composée de fourrages. Cette proportion augmente avec la quantité de concentrés riches en amidon. Elle résulte de la digestion enzymatique dans l'intestin grêle de l'amidon non dégradé dans le rumen mais serait pour la plus grande partie consommée par les viscères abdominaux. Ce glucose apporté par l'alimentation ne représenterait alors pas plus de 25% du besoin total en glucose de l'organisme. [56 ; 45]

Cela s'explique par la particularité du métabolisme énergétique des ruminants : la plupart du glucose disponible chez les ruminants est synthétisé à 93% par l'intermédiaire du phénomène de néoglucogenèse qui est elle à 85% hépatique et à 8% rénale [11 ; 46 ; 32].

Les précurseurs principaux (60 à 80%) de la néoglucogenèse (*figure 1*) sont le propionate surtout qui provient de la digestion ruminale des glucides [40], et l'acide lactique qui est issu de la transformation partielle du propionate ruminal par la muqueuse ruminale, et pour une part minime du lactate musculaire d'origine endogène [45 ; 32].

Si l'on considère à la fois les AGV ruminiaux et les AGNE provenant de la lyse du tissu adipeux, le propionate est le seul acide gras capable de servir pour la néoglucogenèse [46].

Il existe d'autres précurseurs, qui ont une part plus modérée dans ce phénomène, comme le glycérol (<10% [32]). Il faut souligner que les molécules de carbone composant les acides gras libres (AGL) provenant de l'hydrolyse des triglycérides ne peuvent pas être transformées en glucose, tandis que le glycérol issu de cette même hydrolyse peut l'être [45].

Certains acides aminés qualifiés de glucoformateurs peuvent également intervenir dans la néoglucogenèse : 10 acides aminés sur les 20 existants possèdent cette propriété [29].

Ils sont issus de la digestion des protéines ou de la mobilisation des protéines corporelles (muscles squelettiques). Ce sont principalement l'aspartate, l'alanine, la glutamine et la sérine pour lesquels le captage hépatique est intense [66].

Ainsi, le tissu adipeux n'est pas le seul organe de stockage de l'énergie : les muscles stockent également des précurseurs potentiels du glucose [45].

Le métabolisme des acides aminés glucoformateurs abouti soit à un élément du cycle de Krebs, soit au pyruvate. La conversion des acides aminés en glucose a surtout lieu dans le foie, mais également pour une petite part dans les reins [22].

Le glucose intervient à différents niveaux et dans différentes fonctions dans l'organisme d'une vache laitière [29]:

- Fourniture d'énergie à l'ensemble des tissus de l'organisme (en particulier mamelle et fœtus).

- Transformation en lactose et exportation dans le lait.
- Transformation en glycérol pour former des triglycérides (graisses corporelles ou du lait).
- Utilisation pour la synthèse des acides gras dans les graisses corporelles uniquement (pas celles du lait).

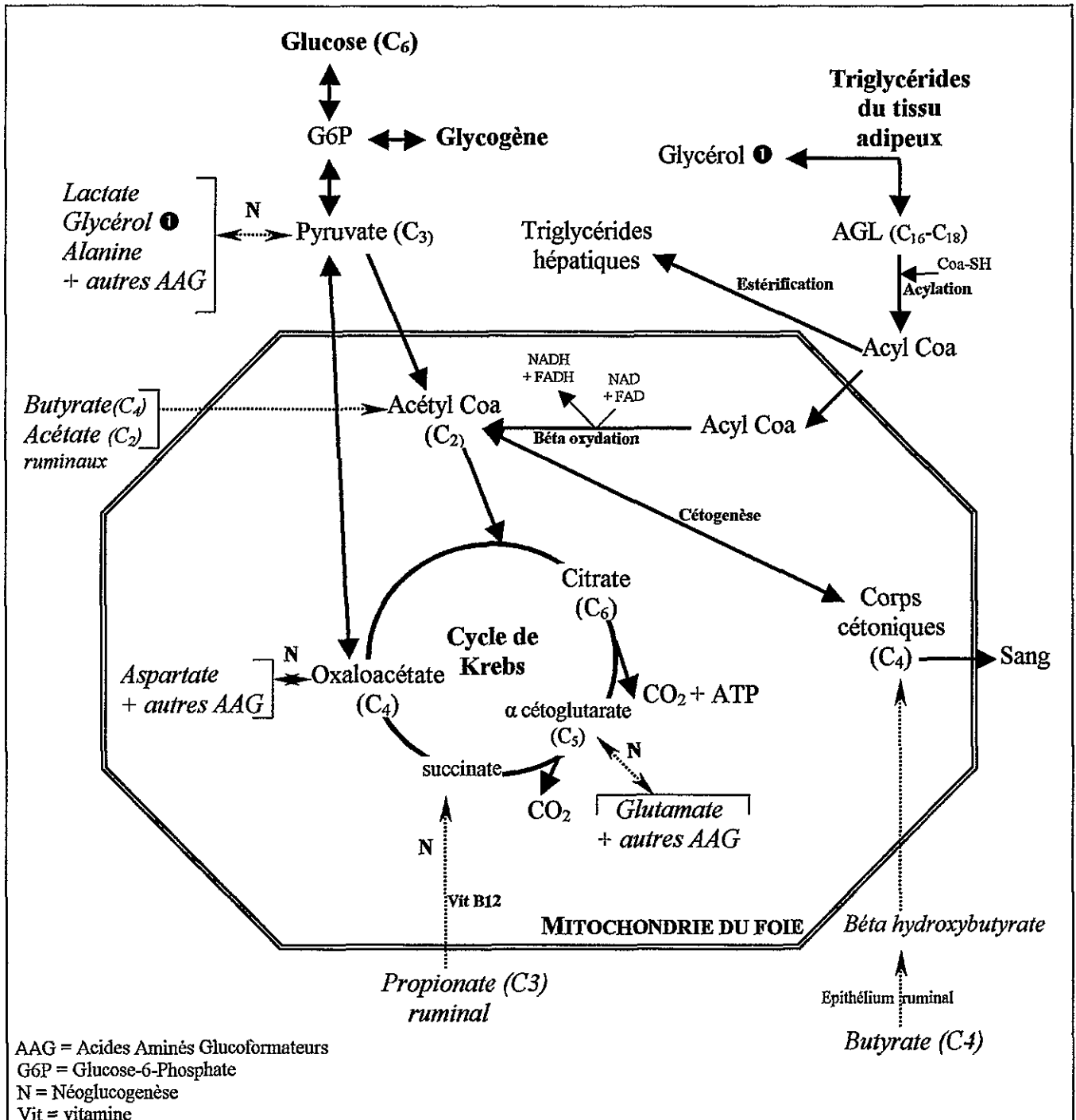


Figure 1 : La convergence hépatique des voies métaboliques du glucose, des acides aminés glucoformateurs et des acides gras au niveau du cycle de Krebs (inspiré de [45]) :

Lorsque l'on observe le cycle de Krebs (*figure 1*), nous nous apercevons que l'acétyl Coa (C₂) ne peut apporter aucun carbone à l'oxaloacétate puisqu'ils sont tous deux perdus sous forme de CO₂ au cours du déroulement du cycle de Krebs. L'acétyl Coa n'est donc pas un substrat de la néoglucogenèse : il est impossible de produire du glucose à partir des acides gras libres à nombre pair d'atomes de carbone libérés par le tissu adipeux [47 ; 46].

Les fonctions des voies de la glycogénolyse, de la néoglucogenèse, et de l'oxydation des AGL sont d'oxyder partiellement des complexes carbonés en les transformant en molécules simples à deux atomes de carbone (C₂). (*figure 1*).

Le rôle majeur du cycle de Krebs (= cycle de l'acide citrique) est de terminer le processus d'oxydation en formant du CO₂ à partir des composés à deux atomes de carbone en permettant la formation d'ATP, de FADH et de NADH. L'ATP est une source directe d'énergie pour les cellules, tandis que le NADH et le FADH sont une forme de stockage de l'énergie sous forme de potentiel redox : ils sont destinés à être ré oxydés respectivement en NAD et FAD par passage à travers la chaîne de transporteurs d'électrons de la membrane interne mitochondriale avec formation à chaque fois de molécules d'ATP supplémentaires. [45]

On remarque aisément sur la *figure 1* que la bêta oxydation, la cétogenèse ainsi que le cycle de Krebs se déroulent dans les mitochondries, tandis que la néoglucogenèse et la production de triglycérides à partir des acides gras a lieu dans le cytosol de l'hépatocyte [45].

➤ Origine des acides gras libres circulants :

La ration alimentaire traditionnelle des ruminants contient très peu de graisses préformées [45]. De plus, la synthèse d'acides gras à partir de l'acétyl Coa provenant du catabolisme des glucides est négligeable. Enfin, la lipoprotéine lipase hépatique qui rend possible l'hydrolyse des lipoprotéines sanguines à apoprotéine B a une activité très faible chez les ruminants. Ainsi, la source principale d'acides gras se compose en grande majorité des AGNE (ou AGL) plasmatiques issus de la mobilisation des graisses de réserve (tissu adipeux). [56 ; 40 ; 45 ; 47 ; 44]

2. Endocrinologie de la régulation des flux de nutriments et de la mobilisation des réserves en début de lactation

La répartition des nutriments entre les tissus corporels et la production de lait est appelée partage des nutriments. Elle est sous la dépendance d'un contrôle hormonal relativement strict.

Les hormones de l'homéorrhèse permettent l'atteinte et le maintien d'un état physiologique donné. On parle par exemple d'homéorrhèse lorsque la régulation hormonale dirige préférentiellement les nutriments vers la mamelle [29 ; 30].

Sur des vaches en début de lactation, la priorité est donc donnée à la production laitière par rapport aux besoins métaboliques tissulaires : l'organisme privilégie donc la synthèse mammaire de lactose à partir du glucose. Cet effet est appelé effet somatotropinique car il est essentiellement dû à l'action d'une hormone : la somatotropine, encore appelée hormone de

croissance ou « Growth Hormone » (GH). En effet, l'utilisation du glucose par la glande mammaire n'est pas soumise à l'influence de l'insuline [46].

Au contraire, en fin de lactation, la production laitière n'est plus prioritaire : on observe donc une diminution de la production s'il s'avère y avoir une sous-alimentation. [29 ; 93]

Les perturbations hormonales au vêlage destinées à orienter le métabolisme vers la synthèse de lait, favorisent la mobilisation des réserves du tissu adipeux (*figure 2*) [36]:

- augmentation de la concentration en somatotropine (GH) qui potentialise l'action lipolytique de l'adrénaline
- diminution de l'insulinémie qui démarre en fin de gestation. L'insuline est la principale hormone frein de la lipolyse. En parallèle, la concentration en glucagon reste stable ou augmente légèrement [21] d'où une diminution du rapport insuline/glucagon
- augmentation de la concentration en stéroïdes circulants
- diminution des concentrations des hormones thyroïdiennes : thyroxine (T4) et triiodothyronine (T3), ce qui réduirait les besoins en métabolites des tissus périphériques [36]. Cependant même si les hormones thyroïdiennes, la leptine et le cortisol semblent avoir une action sur le métabolisme et l'adaptation à la balance énergétique négative, leurs rôles ne sont pas aussi importants que ceux de l'insuline, des catécholamines et de l'hormone de croissance (GH) [46].
- diminution des concentrations en prolactine et en hormone lactogène placentaire dans le sang qui démarre comme l'insuline un peu avant le part [45].

⇒ Ces variations viseraient à stimuler une augmentation du relargage des AGNE du tissu adipeux dans la circulation [38 ; 102], mais les rôles exacts de ces différentes hormones sont moins bien établis chez les ruminants que chez les monogastriques [47].

De même, on remarque que la concentration en glucocorticoïdes sériques augmente avant le part et que celle des hormones thyroïdiennes diminue après la mise-bas. Ces modifications stimulent le relargage d'acides aminés à partir des muscles ; ils sont alors disponibles pour la néoglucogenèse. [102 ; 45]

Tous ces changements sont destinés à permettre à la vache de produire davantage de lait.

Presque toutes les vaches ont une balance énergétique négative [46] et donc des concentrations en AGNE élevées en tout début de lactation, avec un pic une à deux semaines après le part. Cela semblerait lié à la faible concentration en insuline à ce moment. Cependant, celles qui vont développer une cétose ont des concentrations plus de trois fois plus élevées en AGNE. [33]

On pense que cette mobilisation lipidique a pour principale cause le déclin de l'ingestion de matière sèche [6].

L'élévation de la concentration en corps cétoniques a été soupçonnée d'être impliquée dans ce déclin [79]. Cependant, l'élévation de la cétonémie suit en général une élévation des AGNE (*annexe 1*) et il a été trouvé des concentrations similaires en corps cétoniques chez des vaches saines, sans pour autant avoir une diminution de l'ingestion [33].

On a alors pensé que le déclin de l'appétit devait être relié à des changements endocriniens qui ont lieu à la mise bas [6]. Le pic en oestrogènes juste avant le part [36] a été suspecté d'en être la cause [77] sans qu'aucune étude n'ait réussi à affirmer ou infirmer cette hypothèse [38].

On a également émis des hypothèses sur les rôles de peptides et de métabolites agissant directement au niveau central ou par l'intermédiaire de récepteurs périphériques et informant le cerveau sur le statut énergétique de l'animal [33].

Le Corticotropine-Releasing Factor (CRF) diminue l'appétit. Il est ainsi envisageable que le stress de la cétose puisse provoquer une libération de ce CRF, qui diminuerait alors l'appétit [33].

En réalité, on connaît encore très mal les mécanismes et les différents facteurs qui pourraient intervenir dans la diminution de l'appétit chez les vaches cétosiques.

Il est cependant certain que dans ces cas, les récepteurs de la satiété doivent être stimulés de façon erronée [33], d'autant plus qu'un état d'hypoglycémie ne stimule pas l'appétit chez les bovins. [11]

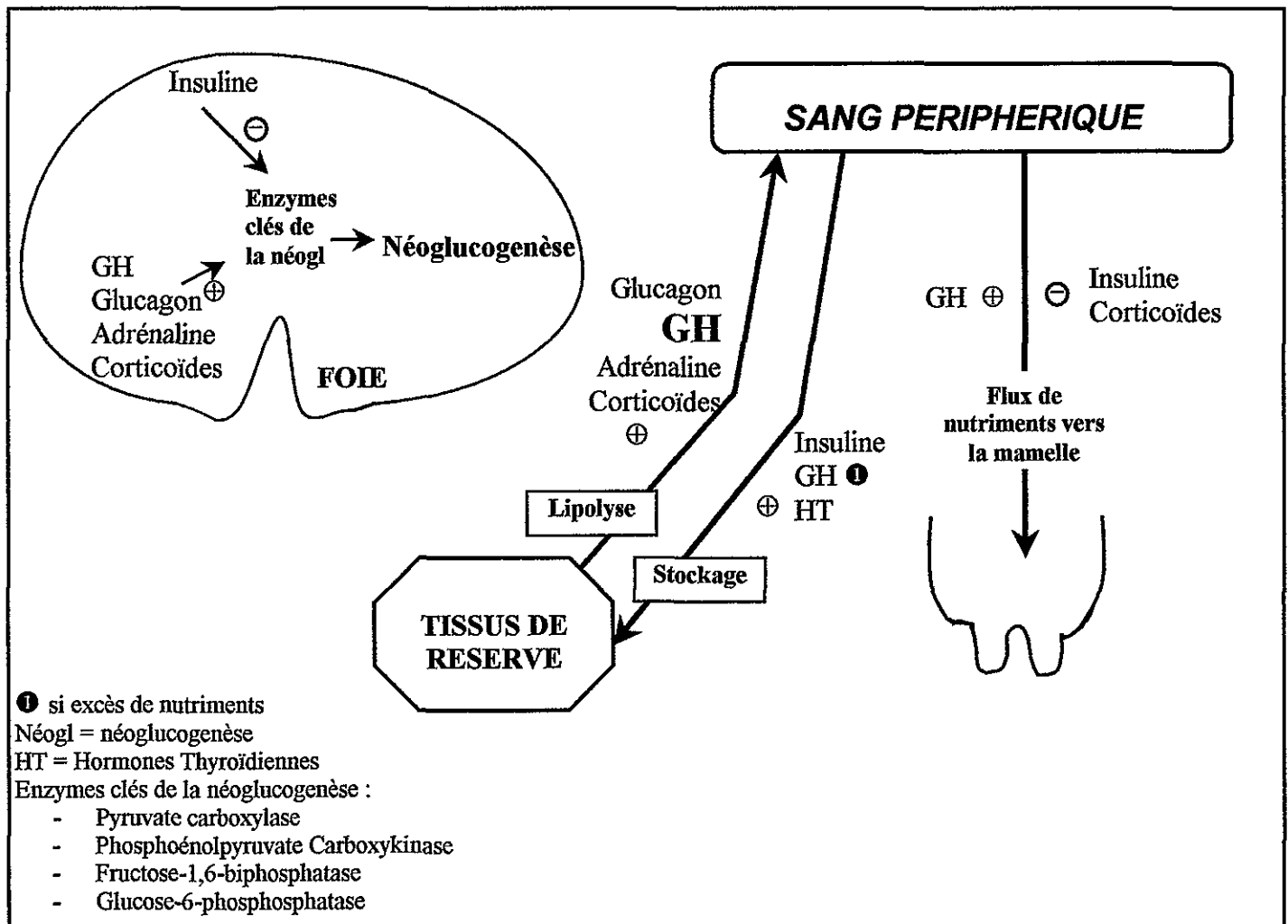


Figure 2 : Régulation hormonale des flux de nutriments (d'après [29]) :

En outre, nous savons que l'insulinémie est faible chez les vaches laitières hautes productrices et qu'il existe une relative insulino-résistance en début de lactation : l'insuline perdrait en fait son contrôle sur la glycémie et sur l'accumulation de triglycérides hépatiques [45 ; 49 ; 57].

Mills et coll. [65] ont observé que sa concentration diminue de 40% dans les jours qui suivent le part chez des animaux qui vont ensuite déclarer une cétose clinique, puis qu'elle reste relativement stable à cette concentration les 30 jours suivants.

C'est pourquoi il semblerait que ce soit la chute importante de la glycémie qui puisse être responsable de l'augmentation de la libération des AGNE du tissu adipeux lors de cétose, plutôt que la diminution du taux d'insuline. En effet, lors de la survenue de la cétose proprement dite, la concentration plasmatique de cette dernière montre peu de fluctuations [65]. Cette thèse est étayée par le fait que l'augmentation de la concentration plasmatique en glucose limite la mobilisation adipeuse [45].

L'hormone de croissance (GH) possède des actions globalement opposées à celles de l'insuline (*figure 2*) : elle favorise le prélèvement des nutriments circulants par la mamelle pour la synthèse de lactose et elle aide à épargner le glucose en participant à la stimulation de la mobilisation des réserves adipeuses, sauf lorsque les apports alimentaires sont excédentaires. Elle possède donc un intérêt majeur pour l'étude de la cétose puisqu'elle s'avère être l'hormone de l'homéorhèse et sa libération est forte aux stades précoces de la lactation, surtout chez les vaches laitières hautes productrices. [29 ; 93]

Elle est d'ailleurs soupçonnée d'être un facteur prédisposant dans l'initiation de la cétose [61]. En effet, on a remarqué que sa concentration augmentait lorsque l'animal commence à mobiliser ses réserves lors de l'installation d'une balance énergétique négative.

Cependant, certaines études ont trouvé des concentrations basses chez les vaches en cétose clinique par rapport à d'autres vaches laitières saines [33].

En fait, il semblerait que la cétose et la stéatose hépatique sévère ne se développent pas suite à l'apparition d'une balance énergétique négative, mais plutôt suite à un défaut dans la régulation des mécanismes permettant l'adaptation de l'organisme à cette négativation de la balance énergétique [46]. En effet, nous avons déjà déclaré qu'une balance énergétique négative est présente chez la plupart des vaches laitières hautes productrices lors des premières semaines de lactation, alors qu'il n'y a que quelques animaux qui développent une cétose

3. L'événement commun aux cétozes : la crise énergétique du début de lactation

Lors du démarrage de la lactation, l'animal se trouve dans une situation de forte demande énergétique pour la production de lait qui prend alors le pas sur les autres fonctions métaboliques de l'organisme. Il en résulte une lipomobilisation intense avec libération d'AGL qui peuvent servir de carburant pour certains tissus ou entrer dans les mitochondries hépatiques et être transformés en corps cétoniques.

Ces derniers peuvent alors être utilisés comme source d'énergie par le cœur, la mamelle, les muscles... La formation et le relargage de béta hydroxybutyrate est d'ailleurs un moyen par lequel le foie peut exporter du pouvoir réducteur (hydrogène) aux tissus périphériques pour la combustion et la génération d'énergie [13].

Il est répandu d'avoir une vache en déficit énergétique pendant les 2 voire 6 premières semaines de sa lactation. Pendant cette période, le niveau d'ingestion ne suit pas le rythme rapide d'augmentation de la demande en énergie pour la production de lait [48].

➤ Balance énergétique négative :

Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, l'événement initial dans la pathogénie de toutes les formes de cétose est donc le passage à une balance énergétique négative accompagné d'une mobilisation des AGNE libérés par le tissu adipeux.

Chez une vache laitière produisant 9000 Kg de lait par lactation, on observe un doublement du métabolisme énergétique dans les premiers jours de lactation et un triplement entre les besoins de fin de gestation et ceux à un mois de lactation [56].

De plus, l'augmentation des besoins en glucose est de 266% et l'augmentation de la demande en acides aminés est de 191% entre la fin de la gestation et les premiers jours de lactation [6].

Chez les vaches laitières hautes productrices, 60 à 80% du glucose consommé par l'animal chaque jour est utilisé pour la synthèse de lait [45] (2 molécules de glucose sont nécessaires pour former une molécule de lactose [93]).

En effet au vêlage, le glucose est exporté massivement et prioritairement vers la mamelle dans le but de produire du lactose et de fournir du NADPH (par la voie des pentoses) pour la production laitière [29]. Pour produire 20 Kg de lait, une vache a besoin de 1,53 Kg de glucose dont 1 Kg de précurseur de lactose du lait [11 ; 32 ; 45 ; 93].

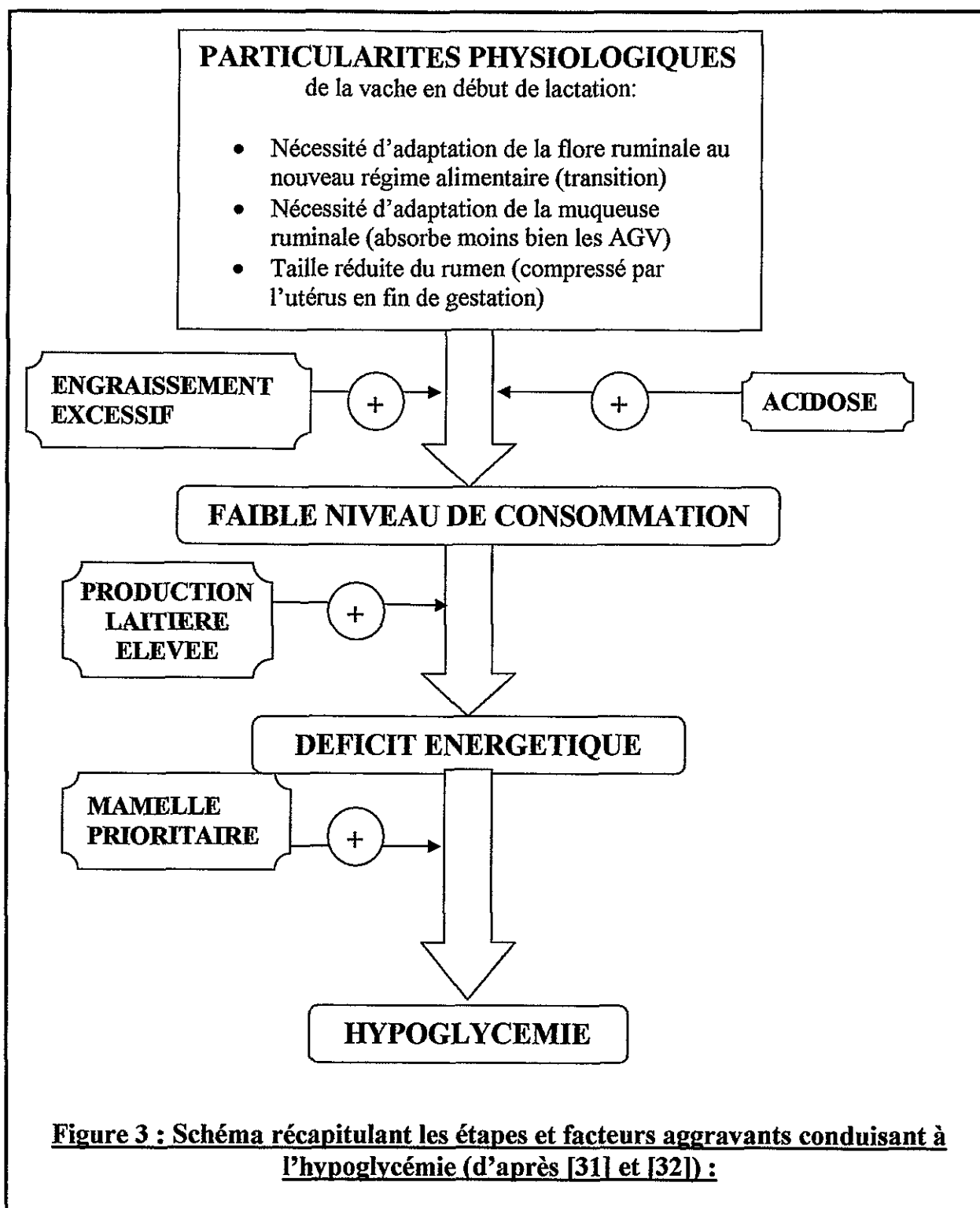
Or, la vache n'absorbera par l'alimentation que 600g maximum par jour de glucose qui s'ajouteront aux 300g de réserves sous forme de glycogène hépatique et musculaire. Ainsi, pour répondre à ses importants besoins en énergie, le bovin aura recours à la néoglucogenèse [32].

En parallèle, il y a paradoxalement une diminution de l'ingestion (dont l'origine est discutée ci avant) qui s'opère en fin de gestation et en tout début de lactation. La diminution représente 30 à 50% de l'ingestion pendant la période de tarissement. Les multipares ont un déclin plus marqué que les primipares [8 ; 37] et les vaches obèses présentent une chute plus importante de l'ingestion au vêlage. Cette baisse d'ingestion est aggravée par une reprise d'appétit lente : il est seulement à son maximum vers 10-12 semaines [32].

Cependant, le foie ne possède des réserves en glycogène pour restaurer la glycémie que pour une demi journée. Ainsi, après une demi journée de jeûne, les réserves sont épuisées [58]. Il en résulte une faible glycémie suite à l'important prélèvement mammaire de glucose qui n'est pas compensé par une hausse suffisante de l'ingestion de précurseurs du glucose. De plus, il faut savoir que la chute de la glycémie ne fait pas pour autant réduire la production de lait puisque le taux de synthèse du lactose est constant pour des valeurs de glycémie comprises entre 1,1 et 4,4 mmol/L (soit 20-80 mg/dL) : cela indique que même dans des conditions d'hypoglycémie, la synthèse de lait est maximale [58].

Cette hypoglycémie est d'autant plus importante qu'elle est associée à des facteurs aggravants comme une production laitière très importante, une acidose (problème de transition alimentaire entre la ration de tarissement et celle de début de lactation), un engraissement excessif...

(figure 3)



En outre, il semblerait que la capacité de néoglucogénèse du foie chez les vaches céto-siques soit abaissée : l'activité ou le nombre des enzymes de la néoglucogénèse seraient diminués. Ceci aggraverait l'hypoglycémie [33 ; 45].

Mills et coll. [66] ont remarqué que cette capacité diminuait de 35% lors de l'apparition des signes cliniques de cétose chez des vaches nourries avec un régime destiné à induire une cétose.

Suite à l'apparition de cette hypoglycémie, on assiste alors à [45]:

- une chute de l'insulinémie (hormone hypoglycémiant)
- une augmentation du taux des hormones hyperglycémiantes: glucagon, GH et adrénaline.

↳ D'où une activation de la LHS (Lipase Hormono-Sensible) du tissu adipeux périphérique, ce qui stimule la lipolyse et permet la libération des triglycérides de ce tissu adipeux qui sont la forme de stockage des acides gras dans l'organisme. Du glycérol et des AGNE sont alors libérés dans le torrent circulatoire (*annexe 1*).

Dans leur étude, Busato et coll. [14] ont remarqué que les vaches qui perdaient le plus en Note d'Etat Corporel (> 0,75 point) dans les deux premiers mois de lactation étaient celles qui produisaient le plus de lait. Cela laisse à penser que la mobilisation des réserves graisseuses serait utilisée comme source d'énergie pour la production de lait.

⇒ En péri-partum, la vache est donc en hypoglycémie, donc elle dégrade ses triglycérides du tissu adipeux [45].

➤ Conséquences de la balance énergétique négative :

Nous avons vu ci-dessus que, suite à la négativation de la balance énergétique, les triglycérides sont dégradés en glycérol (précurseur du glucose) et en acides gras non estérifiés précurseurs d'acétyl CoA dans le torrent circulatoire.

Les AGNE voyagent ainsi liés à l'albumine pour être non toxiques et le glycérol se dissout librement dans le sang. Ainsi, la concentration maximale sans danger en AGNE plasmatiques est liée à l'albuminémie : s'ils sont relargués dans le plasma en excès, la capacité de liaison à l'albumine va être dépassée et les AGNE non liés pourront causer des dommages sur les cellules endothéliales. [38 ; 13]

Une fois relargués dans la circulation, les AGL peuvent être extraits afin d'être utilisés comme source énergétique par de nombreux tissus : glande mammaire, foie, rate et muscles. Ces derniers les oxydent complètement en CO₂, cela permet alors d'épargner le glucose par l'utilisation d'une source d'énergie « alternative ». Cependant, de par l'importante proportion de sang qui traverse le foie, et de par son importante capacité d'extraction, il capte une large proportion des AGNE circulants (au moins 25%). [56 ; 45 ; 46 ; 32]

Les AGL ainsi libérés sont transformés en Acyl Coa (ex : palmytoyl Coa) par acylation avec formation d'une liaison thioester (réaction d'activation) dans les hépatocytes (*figure 1*). Ces acyl Coa entrent dans les mitochondries hépatiques et subissent ensuite une réaction de bêta oxydation (1ère étape de l'oxydation des acides gras) qui voit se former des molécules d'acétyl Coa (C₂). Cette réaction consiste en la division des acides gras à longue chaîne (16 atomes de carbones pour le palmitate et 18 pour le stéarate) en unités à deux atomes de carbone (C₂) avec formation de NADH à partir du NAD et de FADH à partir de FAD (*figures 1 et 7*) [45].

L'oxaloacétate pour l'initiation du cycle de Krebs ne peut être produit qu'à partir de la voie métabolique des carbohydrates ou des acides aminés glucoformateurs [45].

Or, l'oxaloacétate est utilisé prioritairement pour produire du glucose par néoglucogenèse en cas de déficit énergétique. Ainsi, au vu du déficit en oxaloacétate, le cycle de Krebs ne peut pas tourner [41] (figure 4).

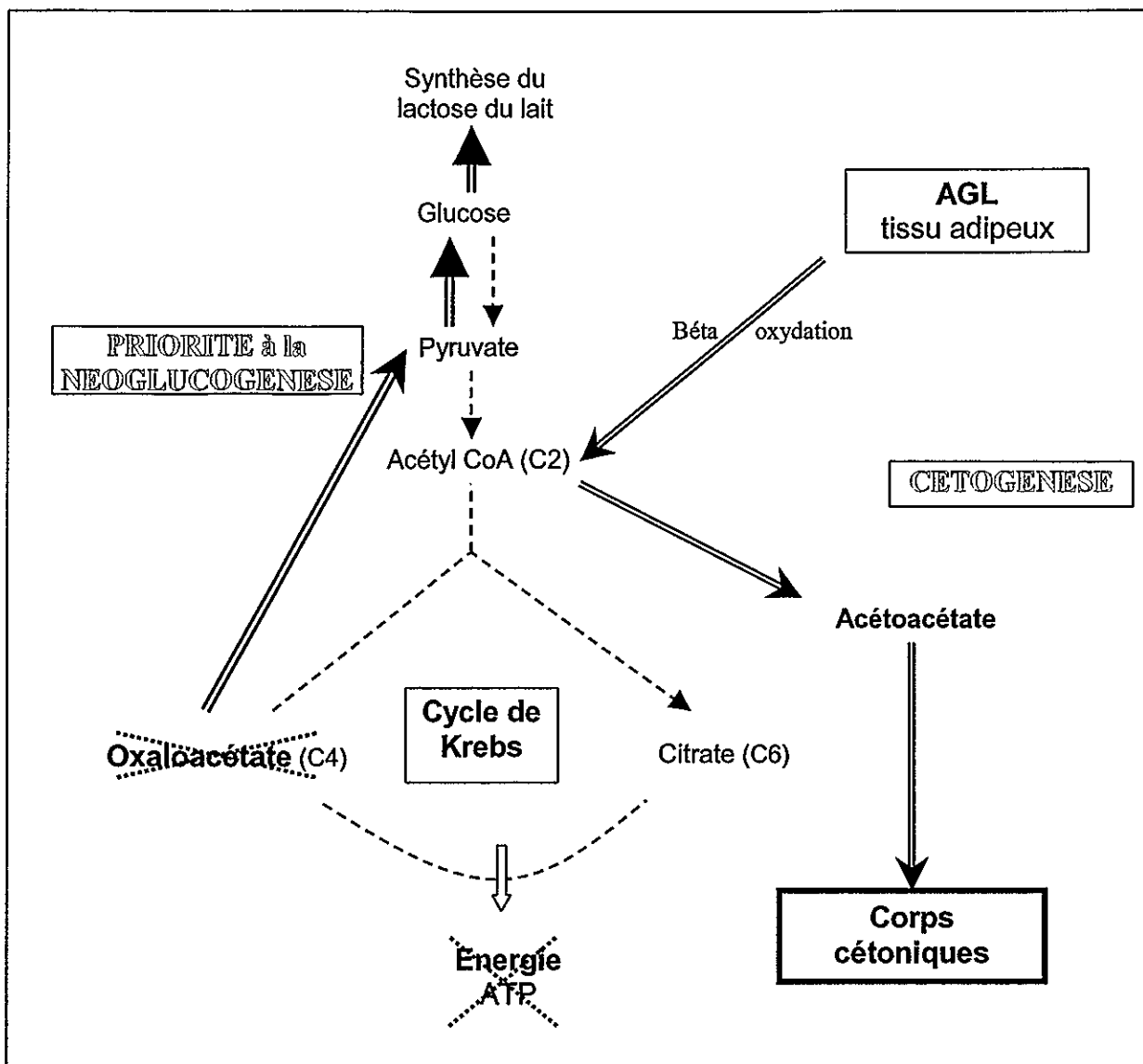


Figure 4 : Schéma des mécanismes menant à la cétogenèse :

Par conséquent, l'acétyl CoA ainsi produit ne peut intégrer ce cycle puisqu'il n'y a pas d'oxaloacétate avec lequel il puisse se lier; il est alors dirigé vers la voie des corps cétoniques qui est une voie d'économie de l'énergie (figures 1, 4 et 5).

En effet, comme nous l'avons précisé ci-dessus, les corps cétoniques peuvent être utilisés chez les ruminants par les tissus (muscles striés squelettiques et cardiaque, mamelle, reins ou utérus) comme carburant pour produire de l'ATP en épargnant le glucose. Comme ils sont plus solubles, ils entrent beaucoup plus facilement dans les cellules que les acides gras auxquels ils se substituent.

La cétogenèse a lieu uniquement dans le foie. C'est comme si le foie effectuait une « prédigestion » de ces acides gras pour les rendre plus facilement utilisables par les tissus périphériques. En effet, beaucoup de tissus ont une plus grande capacité à utiliser les corps

cétoniques plasmatiques que les AGNE. Toutefois, les corps cétoniques ne peuvent pas se substituer au glucose dans la synthèse du lactose. [13 ; 45 ; 47 ; 56 ; 102]

En réalité, du fait du non fonctionnement du cycle de Krebs, le relais de la production d'énergie sous forme de coenzymes réduits (permettant ultérieurement la production d'ATP) est pris par la réaction de bêta oxydation. Cependant pour qu'elle fonctionne, il est nécessaire qu'il y ait en permanence des molécules de Coa-SH disponibles. Cela n'est possible que grâce à la voie des corps cétoniques (*figure 7*).

➤ Régulation de la néoglucogenèse et de la cétogenèse:

Lorsque l'oxaloacétate est disponible en quantité suffisante, les acétyl Coa s'y lient et entrent ainsi dans le cycle de Krebs afin de produire de l'énergie et la cétogenèse hépatique s'avère être minimale (*figure 1*).

On a tout d'abord soupçonné l'oxaloacétate d'être le facteur de lien entre la néoglucogenèse et la cétogenèse car lorsqu'il y a un déficit en glucose circulant, l'oxaloacétate est majoritairement utilisé pour en produire par néoglucogenèse et n'est plus disponible pour faire tourner le cycle de Krebs [45 ; 49].

Les acétyl Coa sont donc surtout dirigés vers la voie de la cétogenèse (*figures 1 et 4*).

⇒ La néoglucogenèse favoriserait donc la cétogenèse par l'intermédiaire de l'oxaloacétate [71].

Mais on s'est aperçu que cela ne pouvait expliquer entièrement ce lien entre la néoglucogenèse et la cétogenèse.

Des recherches plus récentes semblent indiquer que la translocation des acyl Coa à travers la membrane mitochondriale soit un autre point important de régulation de la cétogenèse (*figure 5*) [46 ; 67].

En effet, les acyl Coa provenant des AGNE du sang doivent entrer dans la mitochondrie pour être oxydés en acétyl Coa [47]. Or, la membrane interne de la mitochondrie est imperméable à l'acyl Coa [13]. Il y a donc intervention d'un système de transporteur. Ce transport est régulé directement et indirectement par la disponibilité en glucose grâce à des facteurs endocriniens et métaboliques: lors d'importante demande en glucose (glycémie basse) et d'accroissement de l'intensité de la néoglucogenèse, ce transport est stimulé (*figure 5*).

Cela expliquerait la variation en parallèle de l'intensité de la néoglucogenèse et de la cétogenèse. [45]

Ces systèmes de transport qui permettent aux acyl Coa de pénétrer dans les mitochondries des hépatocytes sont des enzymes nommées AcylCarnitines Transférases (CAT = ACT) (*figure 5*).

Il en existe de deux types :

- Les CAT 1 (ou ACT 1) qui transforment les acyl Coa dans le cytosol de l'hépatocyte en acylcarnitines, seules capables de traverser la paroi mitochondriale. La principale est la Carnitine PalmytoylTransférase 1 (CPT 1).

- Et les CAT 2(ou ACT 2) qui captent ces acylcarnitines et les retransforment en acyl Coa une fois à l'intérieur de la mitochondrie. [13 ; 56]

↳ Ces deux enzymes régulent l'entrée des acides gras dans les mitochondries.

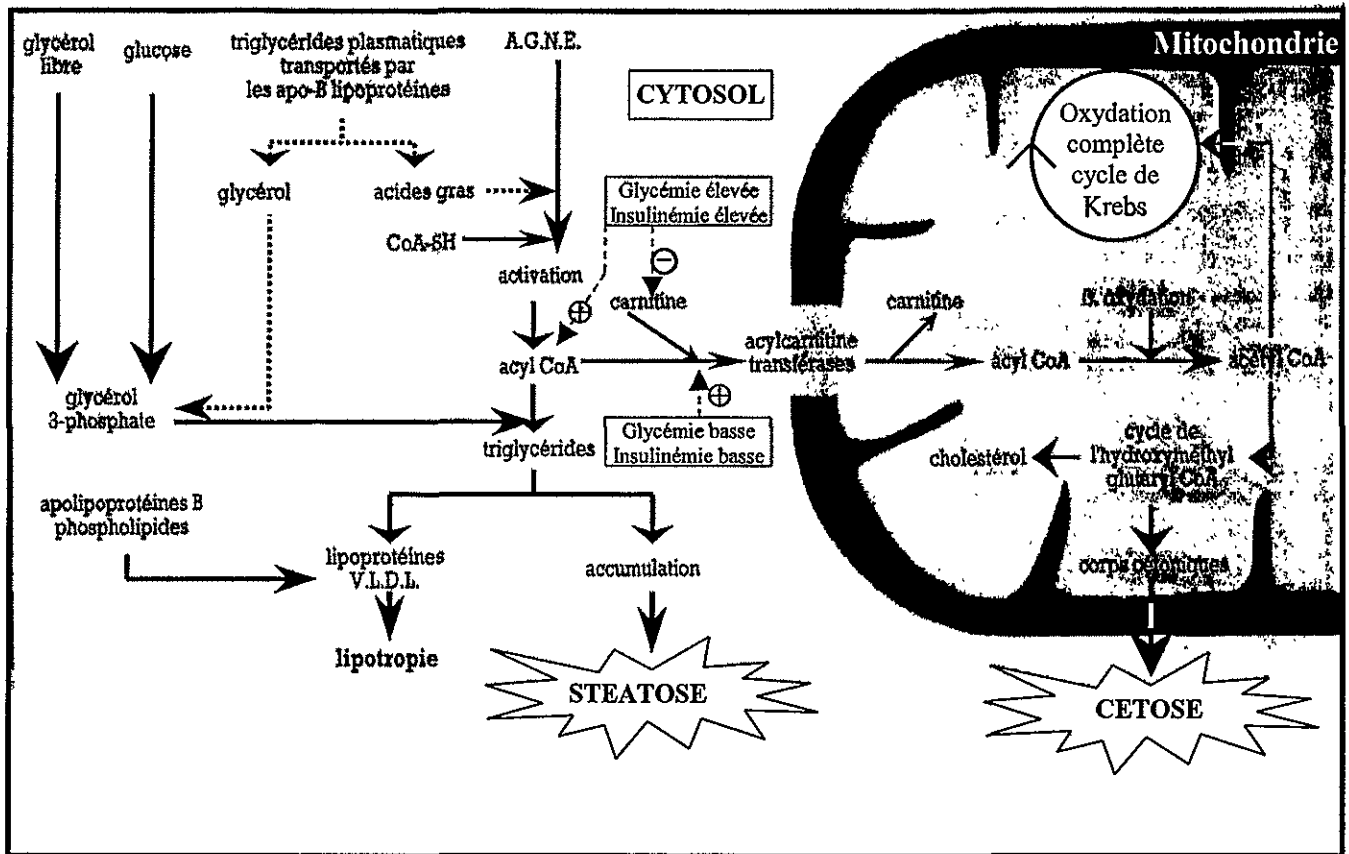


Figure 5 : Métabolisme des lipides au sein d'un hépatocyte (d'après [56]) :

⇒ Chez les animaux non ruminants (comme le rat), la CAT1 voit son activité inhibée par un métabolite intermédiaire : le malonyl Coa [41 ; 47 ; 55].

Ainsi, lorsque la disponibilité en glucose est maximale, beaucoup plus de glucose que la vache n'a besoin entre dans le cycle de Krebs : il en résulte un surplus de production énergétique et une accumulation intra mitochondriale des intermédiaires du cycle de Krebs dont le citrate. Ce dernier en excès sort de la mitochondrie et est alors transformé en malonyl Coa, inhibiteur de la CAT1, et donc inhibiteur de l'entrée des Acyl Coa dans les mitochondries. Les acyl Coa n'ont alors d'autre choix que de subir une estérification en triglycérides [46].

De plus, dans les cas de balance énergétique positive, l'insuline agit sur une enzyme : l'acétyl Coa carboxylase (qui a un rôle dans la synthèse des acides gras) dont elle stimule l'activité catalytique, stimulant ainsi la synthèse des acides gras. Il y a alors production de malonyl Coa (figure 6).

Ainsi, quand l'organisme s'oriente vers la synthèse avec une concentration importante en malonyl Coa dans l'hépatocyte, aucun acyl Coa n'entre dans la mitochondrie, la cétogenèse est alors inhibée. Par contre, dans le cas où l'on a une balance énergétique négative (moindre disponibilité en glucose), on assiste à une chute de l'insulinémie et à une hausse du taux de glucagon, d'où une diminution de la concentration en malonyl Coa, ce qui permet à la CAT 1 d'être à nouveau active. L'oxaloacétate étant non disponible, l'acétyl Coa ne peut pas entrer dans le cycle de Krebs, il subit alors une oxydation incomplète en corps cétoniques.

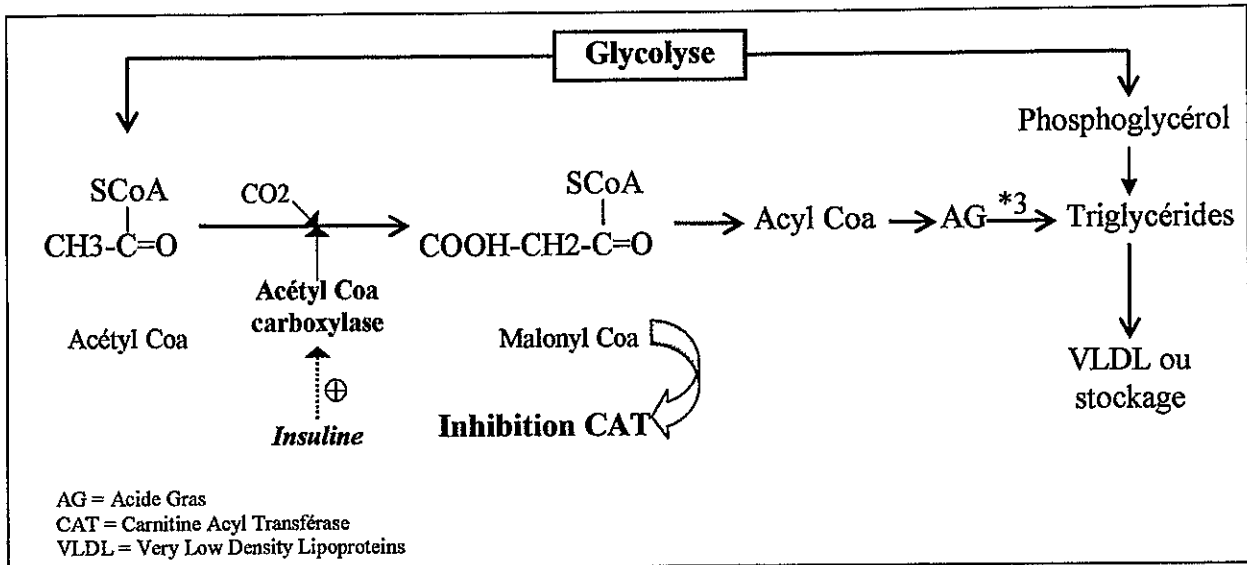


Figure 6 : Synthèse des triglycérides à partir de l'acétyl Coa stimulée par l'insuline lors de balance énergétique positive chez les non ruminants : (voie négligeable chez les ruminants [86])

⇒ On s'est interrogé sur l'existence éventuelle d'un rôle similaire du malonyl Coa chez les ruminants [47]. Il semblerait chez eux qu'il joue un rôle moins important que chez les autres espèces comme le rat, même si c'est également un inhibiteur de la CAT 1 hépatique chez les ruminants [65].

Par contre, le propionate (précurseur majeur de la néoglucogenèse) influencerait chez les ruminants la biodisponibilité en glucose, donc le taux de transport des acyl Coa dans la mitochondrie et par conséquent la cétogenèse. En effet, le propionate inhiberait la CAT 1 par l'action d'un de ses métabolites : le méthylmalonyl Coa qui empêcherait la pénétration des acyl Coa dans les mitochondries hépatiques. [13 ; 45 ; 49]

↳ Pour résumer, on peut déclarer que l'hypoglycémie stimule la synthèse des corps cétoniques au niveau cellulaire comme on vient de le décrire, mais également à l'échelle du corps tout entier par l'intermédiaire de régulations métaboliques et hormonales (insuline, cortisol...). D'autre part, Busato et coll. [14] ont remarqué que le pic de concentration en bêta hydroxybutyrate apparaissait décalé d'approximativement une semaine (parfois plus : *annexe I*) par rapport au pic de concentration en AGNE, appuyant le fait que l'accentuation de la cétogenèse soit une conséquence d'une augmentation de la mobilisation graisseuse.

Les trois corps cétoniques principaux ainsi formés sont : l'acétoacétate, l'acétone et le bêta hydroxybutyrate qui est le corps cétonique le plus important en quantité [18].

L'acétoacétate provient directement de l'oxydation partielle des AGNE dans les mitochondries du foie (*figure 7*) [45].

Il donne du bêta hydroxybutyrate dans le cytosol de la cellule hépatique par une réaction de réduction (hydrogénation) grâce à l'enzyme 3-hydroxybutyrate déshydrogénase en présence de NADH. Cette conversion dans le cytosol plutôt que dans la mitochondrie est spécifique des ruminants. L'acétone, quant à lui, est synthétisé lentement et spontanément également à partir de l'acétoacétate. [45]

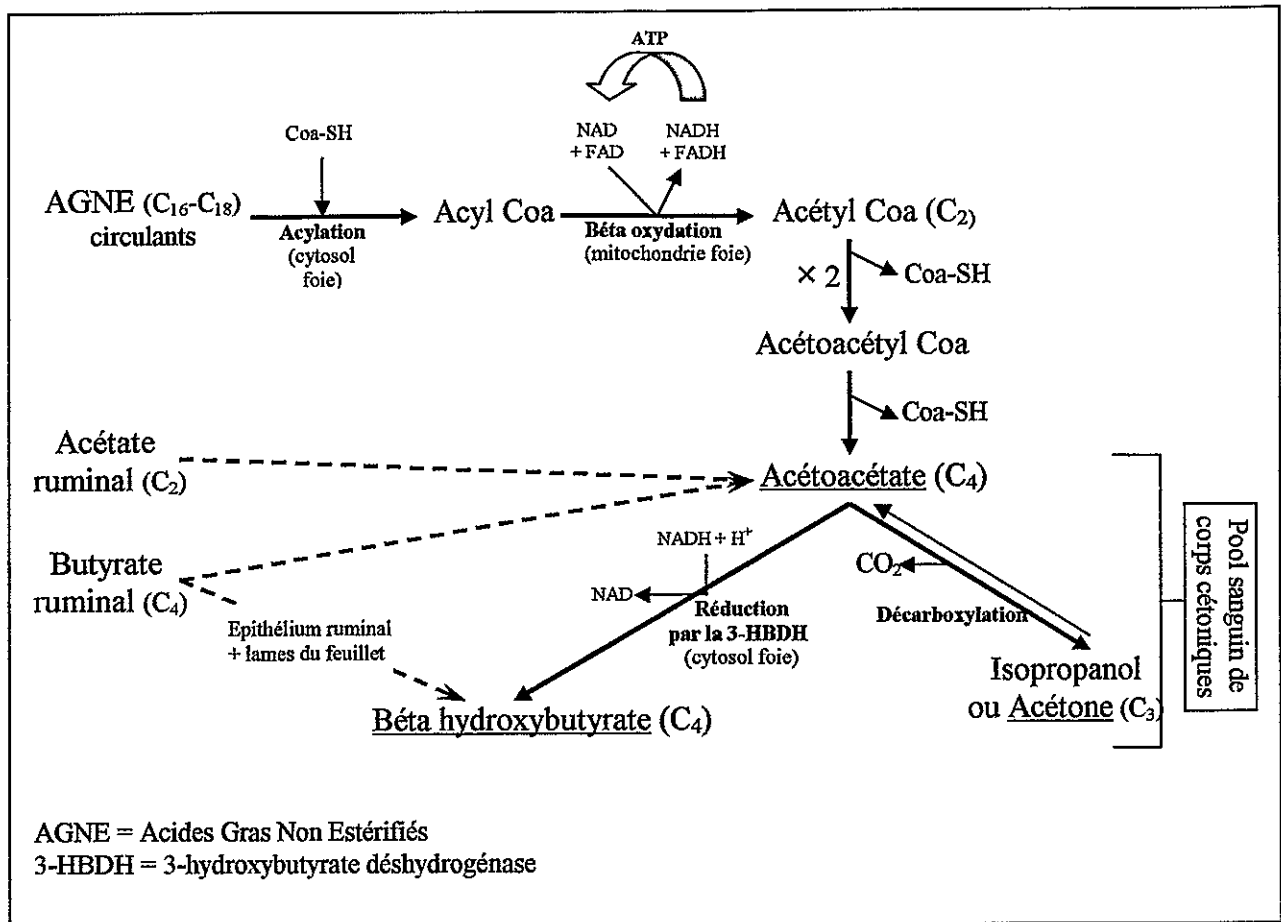


Figure 7 : Cétogenèse à partir des AGNE et des AGV chez les ruminants :

En plus d'être formés par la transformation des acides gras, ces corps cétoniques peuvent provenir d'acides gras volatils produit par les micro-organismes ruminiaux: l'acétate (C₂) et le butyrate (C₄).

Une grande partie de ce dernier (au moins 50%) est converti en bêta hydroxybutyrate lors de son passage à travers l'épithélium ruminal, et pour une part moins importante lors du passage à travers les lames du feuillet (figure 7). [13 ; 45 ; 56]

Cela explique que certains auteurs comme Kronfeld [62] décrivent la possibilité d'apparition d'une cétose dite « cétose alimentaire » suite à l'ingestion en quantité trop élevée d'un ensilage (ex : ensilage de maïs) ou d'une ration contenant beaucoup de betteraves.

Ce type d'alimentation est en effet générateur d'une proportion importante en butyrate [1].

Néanmoins, cette origine ne paraît pas prépondérante en début de lactation, surtout lorsque les teneurs en corps cétoniques deviennent élevées [87].

Ainsi, il est normal chez les ruminants d'avoir toujours une concentration plasmatique minimale en corps cétoniques qui s'élève à 40-50 mg/L (soit environ 0,5 mmol/L).

Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, ils peuvent alors être utilisés par les tissus périphériques [18 ; 56]. Cependant, lors d'hyper cétogenèse, la vitesse de production des corps cétoniques dépasse leur vitesse d'utilisation par ces tissus.

Ils s'accumulent alors dans l'organisme jusqu'à ce que leur quantité soit tellement importante que se déclarent les premiers signes cliniques de cétose [33].

Chez des vaches saines, de hautes concentrations en corps cétoniques inhibent le relargage des AGNE du tissu adipeux, de la même façon qu'elles limitent la libération des acides aminés glucoformateurs à partir du muscle.

Le mécanisme impliqué est hormono-dépendant : les corps cétoniques stimulent la sécrétion d'insuline, mais les corps cétoniques ont également une action directe sur les adipocytes. Ce système serait défaillant chez les vaches cétosiques chez qui on trouve des valeurs de cétonémie et de concentrations en acides gras toutes deux élevées. Le processus menant à cette défaillance n'est actuellement pas élucidé à notre connaissance [59].

Pour finir, il semblerait que la céto-genèse hépatique soit réduite lors de dommages au foie : une étude de Flatt et Quail mentionnée par Kauppinen [59] montre une réduction de 80% de la concentration en corps cétoniques dans le sang de rats affamés auxquels on a distribué du tétrachlorure de carbone pour provoquer des dommages au foie.

De même, il a été démontré que les vaches atteintes de stéatose hépatique avaient une réduction de l'activité de leur carnitine palmytoyltransférase, limitant ainsi la possible utilisation par oxydation des AGNE sanguins par les mitochondries hépatiques, aggravant alors la stéatose [67].

Cependant, nous ignorons si les dommages au foie fréquemment observés lors de cétose sont une conséquence de la cétose ou inversement [59].

➤ Mécanismes menant à la stéatose hépatique:

Le foie élimine habituellement l'excédent d'AGL qui lui arrive du sang par l'« emballage » des triglycérides (forme de « stockage » des AGL) dans une enveloppe de cholestérol, phospholipides et de protéines spécifiques. Le tout forme les VLDL (Very Low Density Lipoproteins).

Mais les triglycérides formés dans le foie à partir des AGNE plasmatiques ne sont pas incorporés directement dans les VLDL. Ils sont stockés temporairement dans un pool cytosolique et doivent être hydrolysés par une lipase hépatique pour que le transfert dans des microsomes et leur incorporation ultérieure dans les VLDL soit possible [49].

Lors de leur stockage dans le foie, 90% des triglycérides se présentent sous forme de gouttelettes d'inclusions cytoplasmiques qui forment ainsi une sorte de « pool lent » en permanent échange avec un « pool rapide » qui est composé des triglycérides microsomaux qui vont participer à la confection des VLDL avec entre autres l'apoprotéine B100. Ces VLDL vont ensuite être relargués dans le torrent circulatoire.

Les acides gras provenant de la lyse des triglycérides qu'elles contiennent peuvent être extraits et utilisés comme source d'énergie par beaucoup de tissus, dont la glande mammaire pour la synthèse des acides gras du lait [31 ; 44 ; 45 ; 46].

Cependant, comme nous l'avons mentionné dans la partie concernant les « particularités du métabolisme énergétique des ruminants », la capacité de réexcrétion sous forme de triglycérides emprisonnés dans les VLDL est limitée chez les ruminants [56 ; 71], que le foie soit stéatosé ou non.

Les sont causes complexes et encore mal connues aujourd'hui :

- carence en facteurs lipotropes d'origine alimentaire : un manque de phospholipides ou de leurs précurseurs (choline et/ou méthionine) a été évoqué mais jamais prouvé [13 ; 44 ; 71 ; 86].
- défaut de synthèse des apoprotéines d'origine génétique, notamment l'apoprotéine (ou apolipoprotéine) B100 dont la vitesse de synthèse serait un facteur limitant de la production des VLDL [31 ; 49 ; 86], ou l'apoprotéine A [71]. D'ailleurs, la synthèse de l'apoprotéine B est encore plus altérée si l'animal est atteint de stéatose, aggravant donc le problème [102]. Les plus basses concentrations en lipoprotéines sont rencontrées dans les sérums des vaches ayant les stéatoses hépatiques les plus sévères [71].
- Réduction de l'activité de la protéine microsomale de transfert [86].
- Les mêmes hormones qui activent l'enzyme lipase hormono-sensible (LHS) du tissu adipeux et qui inhibent la lipogenèse, inhiberaient également la production de VLDL [71].

D'autre part, la transformation des triglycérides en lipoprotéines est un processus très long. En conséquence, le facteur majeur intervenant dans l'accumulation des triglycérides dans le foie est une brusque élévation de la concentration circulante en AGNE.

Or, les AGNE en concentration importante dans les tissus s'avèrent avoir une certaine toxicité. Ils sont ainsi captés par le foie. Mais lorsque leur taux d'entrée dans le foie excède la capacité du métabolisme hépatique à utiliser ces graisses, les cellules du foie stockent les acides gras sous forme de vacuoles non toxiques, mais néfastes pour les hépatocytes si elles ont une trop grosse taille et/ou si elles sont en nombre trop important. [44 ; 45 ; 102]

Le stockage de graisse dans les cellules hépatiques en fin de gestation et tout début de lactation est un processus physiologique chez les vaches laitières haute performance (15 à 30% du poids du foie est alors constitué de graisses) [57 ; 71 ; 86]. Il s'ensuit en temps normal une décroissance de la concentration en triglycérides débutant 7 jours après le part, ce qui n'est pas le cas lors de cétose [102].

Quand une balance énergétique négative est continuellement présente, les AGNE du tissu adipeux sont relargués pendant toute cette période. Il y a ainsi développement d'un foie gras. On a remarqué que la perte de tissus graisseux était accentuée chez les animaux qui s'étaient engraisés avant le part, à moins que la capacité d'ingestion et la qualité ainsi que la quantité des nutriments apportés en post-partum soient suffisants [14].

Il est donc admis que l'accumulation de triglycérides hépatiques est en général proportionnelle à la concentration plasmatique en AGNE [65].

Pourtant, on a remarqué que, bien que les vaches primipares aient souvent un taux d'AGNE plus élevé que les multipares, les premières voient moins de triglycérides s'accumuler dans leur foie. Ainsi, nous sommes en mesure de déclarer que le degré de stéatose ne dépend pas uniquement de l'importance du relargage d'AGL. [56]

D'autre part, il a été remarqué dans une étude de Mills et coll. [65] où l'on a induit une cétose artificiellement, que la vache qui n'a pas déclaré de cétose n'avait pas non plus subit d'accumulation de triglycérides hépatiques, alors que sa concentration plasmatique en AGNE, bien que faible, n'était pas nulle ; il a donc été déduit que le degré d'infiltration lipidique du foie serait plutôt relié à l'importance du déficit énergétique.

4. L'élément déclencheur dans l'orientation vers un type ou l'autre de cétose

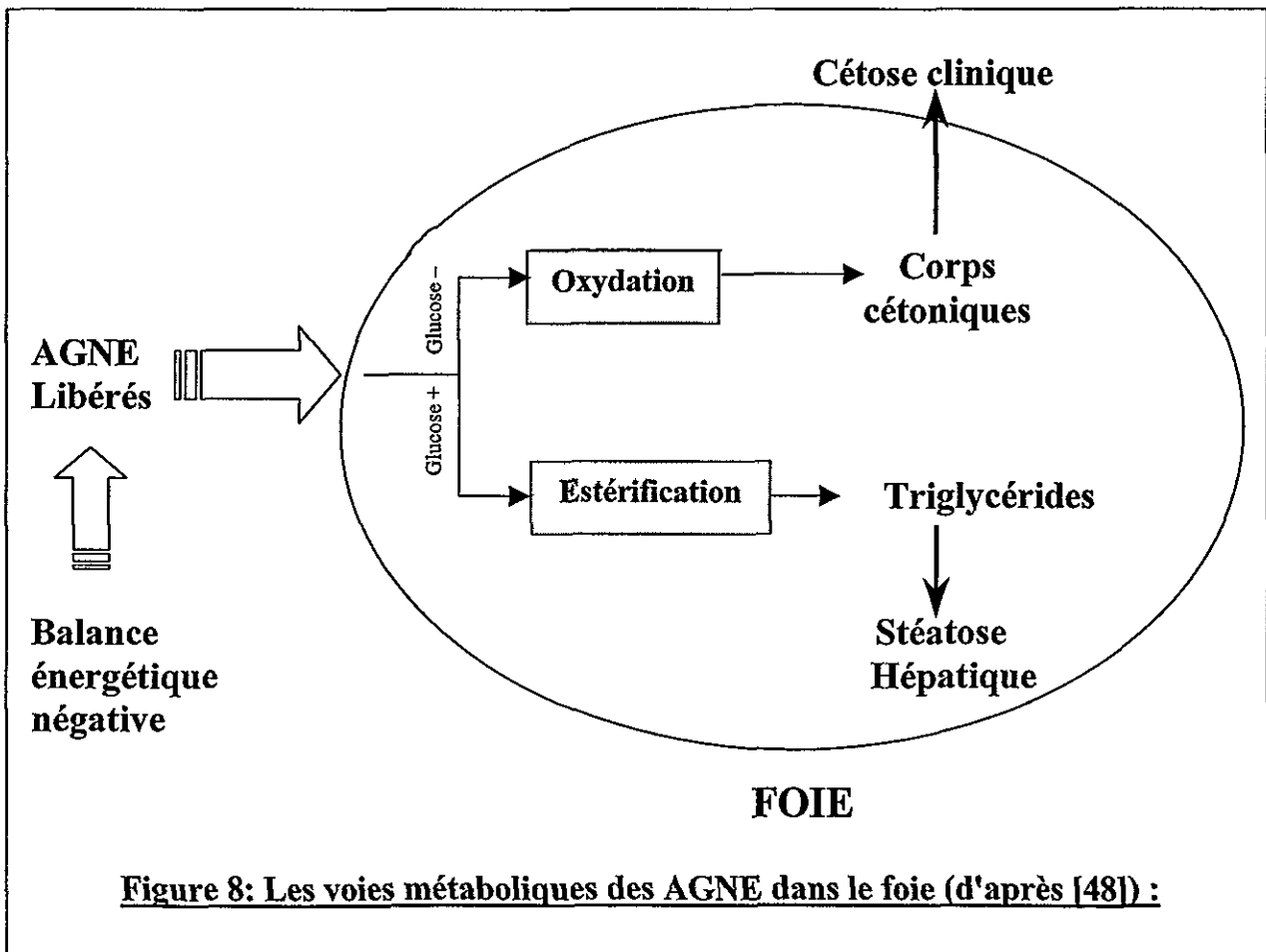
Les principales perturbations métaboliques observées: l'hypoglycémie et l'hyper cétonémie ont certainement toutes deux des rôles dans l'expression clinique de la cétose.

Malgré tout, lors d'études expérimentales de la cétose chez la vache laitière, il n'a pas toujours été facile de déterminer ce qui déclenche des signes cliniques permettant le passage d'une cétose subclinique à une cétose clinique.

Dans beaucoup de cas, la sévérité des signes cliniques est proportionnelle au degré d'hypoglycémie. Ceci, associé à la rapide réponse à l'injection parentérale d'un soluté glucosé, laisse suggérer que l'hypoglycémie est le facteur prépondérant.

Mais dans la plupart des études, le taux de corps cétoniques sanguins est également approximativement corrélé à la sévérité des signes cliniques [78].

La survenue d'une cétose serait en fait déterminée par le sort au niveau métabolique des AGNE libérés, ce qui nous permet d'ores et déjà de penser qu'il existe plusieurs types de cétooses dépendant de l'utilisation hépatique qui sera faite de ces AGNE. [48]



Le schéma de la *figure 8* décrit deux voies métaboliques potentielles pour les AGNE au sein du tissu hépatique.

Il est fort probable que la biodisponibilité en glucose soit un facteur important déterminant la prédominance d'une voie par rapport à l'autre [48]:

- Lorsque la disponibilité en glucose est moindre, l'oxydation des AGNE en corps cétoniques serait favorisée, prédisposant ainsi à l'apparition d'une **cétose de type 1**.
- A l'inverse, quand la disponibilité en glucose augmente avec une balance énergétique négative, on aurait surtout une estérification de ces AG, et donc une accumulation dans les hépatocytes de vacuoles lipidiques : **cétose de type 2**.

Ainsi, la biodisponibilité en glucose, associée à la balance énergétique négative et à la mobilisation des AGNE à partir des réserves du tissu adipeux, est un facteur important à prendre en compte dans la pathogénie de la cétose clinique.

Plusieurs facteurs déterminent la biodisponibilité en glucose [48]:

- L'importance de la néoglucogenèse
- La disponibilité en substrat pour la néoglucogenèse
- La capacité du glucose à pénétrer dans les cellules (récepteurs)

↳ En fonction du facteur le plus défavorablement affecté, l'animal sera plus à même de développer un type métabolique de cétose plutôt qu'un autre.

Cependant, il semblerait qu'il existe une différence de sensibilité du tissu adipeux aux hormones lipolytiques : ainsi, les vaches les plus grasses seraient les plus sensibles à la lipolyse et auraient une réponse exacerbée avec relargage massif d'AGNE dans la circulation sanguine [39 ; 100 ; 44]. Cette différence de sensibilité du tissu adipeux pourrait donc également orienter le développement vers un type de cétose donné (cétose de type 2).

➤ **Cétose de type I (ou cétose lactogénique) : cétose de jeûne hypoglycémique classique:**

Les cas se développant à proximité du pic de lactation font partie du premier type métabolique de cétose: dans ces cas, il apparaît que la disponibilité en substrat pour la néoglucogenèse est tout simplement trop faible pour répondre à l'importante demande pour la production de lait, d'où une diminution en glucose disponible.

En effet, suite à la mise bas, les besoins énergétiques de la vache pour la production de lait s'accroissent de manière très importante, mais la capacité d'ingestion reste à un niveau relativement bas : comme il l'a été précisé ci-dessus, l'appétit n'est pas stimulé lors d'hypoglycémie chez les ruminants (ceci reste encore inexpliqué à notre connaissance [11]).

De plus, le pic de production a lieu aux alentours de la troisième semaine, alors que la capacité d'ingestion maximale n'est atteinte que 7 à 8 semaines après la mise-bas [33].

La balance énergétique devient alors négative au moment du pic de plus grande demande énergétique et cela active différents facteurs pour pallier au déficit (notamment en glucides disponibles). On assiste alors en réponse à une glycogénolyse, avec diminution du taux d'insuline et stagnation ou augmentation (discutée) du taux de glucagon, et à une lipomobilisation à partir du tissu adipeux. Une grande quantité d'AGL est relarguée dans le sang [11].

Le métabolisme hépatique s'oriente ensuite vers une voie catabolique (*figure 9*): la priorité est donnée à la dégradation des AGNE. Ils subissent une bêta oxydation dans le foie avec production d'acétyl-Coa et de NADH qui entraînera secondairement la formation d'ATP, comme cela a déjà été expliqué précédemment [31].

Or, le glucose disponible est déficitaire car il est utilisé prioritairement pour la synthèse de lactose du lait. Il n'y a donc pas non plus d'oxaloacétate pour permettre la réutilisation des acyl Coa dans le cycle de Krebs, ni de NADPH pour permettre la synthèse d'acides gras. La seule issue possible de ces acétyl Coa est alors la céto-genèse: la céto-se développe [11]. Au niveau biochimique, il n'existe aucune voie capable de transformer les lipides en glucose ; donc à aucun moment le déficit glucosé ne sera comblé: d'où une exacerbation de la mobilisation des acides gras et accumulation de corps cétoniques dans le courant circulatoire [31].

↳ Ainsi, l'hypoglycémie aggrave la céto-se, mais aussi l'hypoglycémie.

Il est donc facilement compréhensible que le seul traitement pour stopper cette cascade soit d'administrer des précurseurs de la néoglucogenèse afin de relancer le cycle de Krebs (qui va consommer l'acétyl CoA produit) [59].

Il existerait cependant une rétro-inhibition des corps cétoniques sur le relargage des AGNE dans la circulation. Elle serait due à l'action de l'insuline qui possède une action anti-lipolytique [56].

Ce type de céto-se fait partie de la céto-se classiquement décrite dans les anciens manuels vétérinaires.

Il est caractérisé par une hypoglycémie associée à une hypoinsulinémie, d'où un rapport insuline sur glucagon faible. L'activité de la CAT 1 est alors importante et les acyl Coa sont majoritairement oxydés dans les mitochondries, ce qui implique une céto-genèse importante. Tout ceci explique les grandes concentrations en corps cétoniques rencontrées et le fait que la stéatose hépatique résultant de l'estérification des AGNE soit faible à modérée. [46]

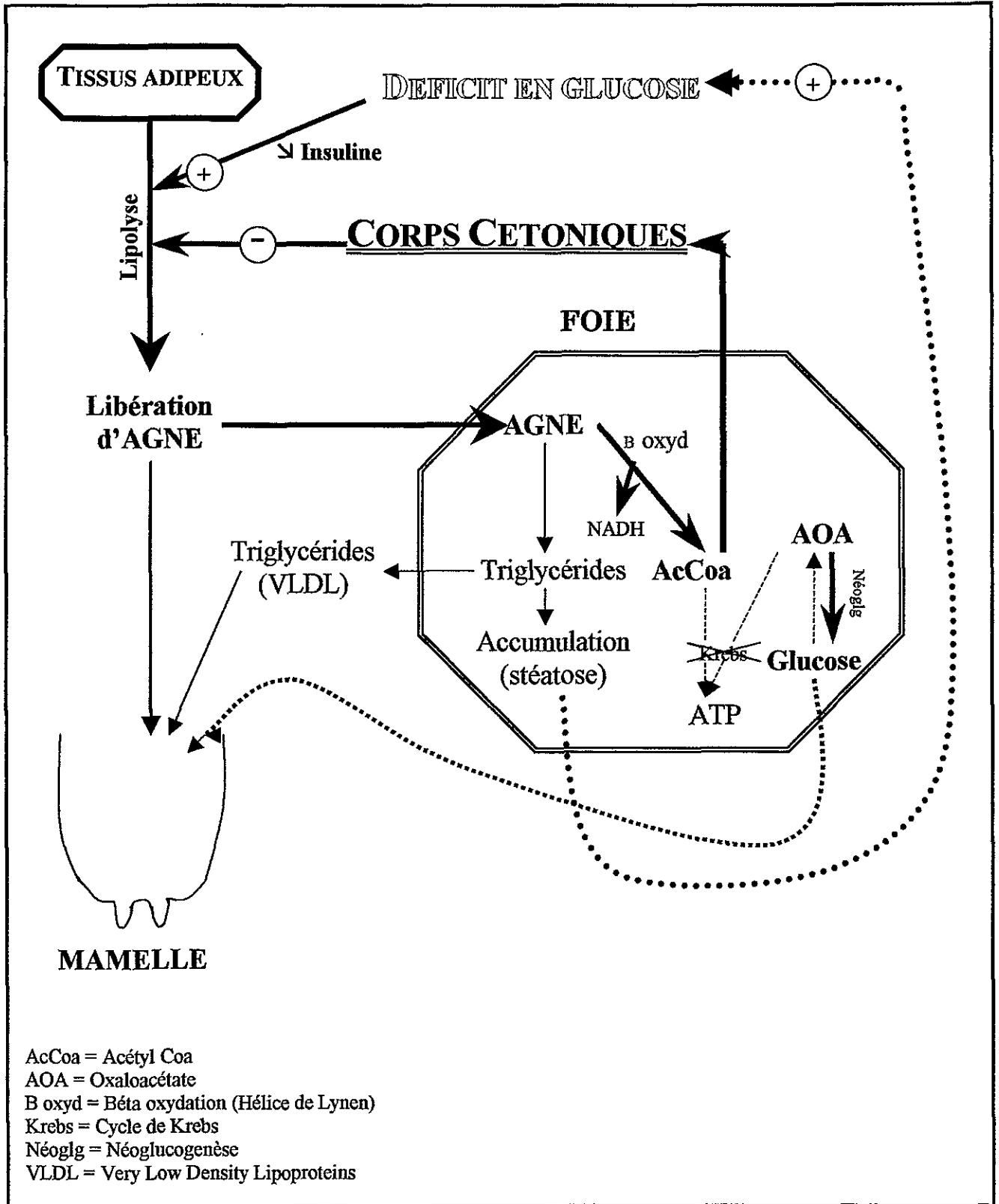


Figure 9: Schéma explicatif des mécanismes de la cétose de type 1 (d'après Enjalbert F. [31]) :

➤ Cétose de type II : cétose normo- ou hyperglycémique:

Au contraire du cas précédent, l'activité de néoglucogénèse est affectée. Ces cas de cétose surviennent dans les 15 jours suivant le part.

En réalité, l'accumulation de triglycérides hépatiques commence habituellement avant le vêlage et atteint une concentration maximale dans la période de l'immédiat post-partum ; c'est à ce moment en général qu'apparaissent les premiers signes cliniques [38 ; 44].

Ce type de cétose est connu pour répondre favorablement à l'administration expérimentale de glucagon. Cela semble montrer que la réduction de la néoglucogénèse joue un rôle dans la physiopathologie de ce type de cétose. [46 ; 48]

On rencontre ce type de syndrome après un stress chez des vaches très grasses [31].

En fait, beaucoup d'éleveurs peuvent faire passer sans trop de problèmes le cap du début de lactation à des vaches obèses, jusqu'à ce qu'un jour, un facteur environnemental de stress s'ajoute (comme par exemple : un temps chaud et humide [38]).

L'expression de ce désordre métabolique est souvent clinique.

Dans la cétose de type II, la stéatose est dominante et peut se développer très rapidement : en 48 heures, la proportion en triglycérides hépatiques peut augmenter de moins de 5% du poids sec du foie à plus de 25% dans les cas de lipomobilisation massive à partir du tissu adipeux [38 ; 44].

Dans ce type de cas, on considère que l'enchaînement métabolique conduisant à la cétose est le suivant: suite à un stress (maladie, inconfort...) chez une vache en état d'embonpoint excessif, on observe une libération brutale et importante d'hormones lipolytiques.

Diverses agressions entraînant la libération d'hormones du stress mettent en jeu l'hormone lipolytique. Par exemple le stress peut faire suite à une exposition au froid. Cependant, une étude réalisée en Finlande [85] n'a pas montré de différence significative entre la fréquence de survenue de cétose primaire ou secondaire chez des animaux élevés dans des stabulations libres où la température est fonction de celle du milieu extérieur par rapport aux stabulations libres où la température reste constante.

Plus les animaux sont gras, plus ils seraient sensibles à l'action des hormones lipolytiques [31 ; 44 ; 46]. De plus, l'insulinorésistance serait un facteur supplémentaire expliquant pourquoi l'obésité augmenterait la sensibilité adipeuse chez ces vaches, puisque l'action antilipolytique de l'insuline serait alors inefficace.

Certains déclarent même que l'obésité serait le résultat d'une insulinorésistance chez les ruminants et les autres espèces [46].

Les corps cétoniques exercent une rétroaction négative sur le relargage des AGNE par suppression de la lipolyse adipeuse. Cependant, lorsque le tissu adipeux est très sensible, les feedback négatifs sur le relargage des AGNE, n'ont aucune action (*figure 10*). [46].

Ces derniers entrent alors dans le foie où ils sont stockés temporairement dans un pool cytosolique. Puis ils sont hydroxylés par une lipase hépatique et transférés aux microsomes qui sont à leur tour incorporés aux VLDL (Very Low Density Lipoproteins) [50].

Or, nous rappelons de nouveau que chez les ruminants, la capacité de synthèse des VLDL est limitée [29]. D'autre part, l'insuline inhibe la transcription de la protéine de transfert des triglycérides dans les microsomes. A travers cela, elle inhibe l'assemblage de l'apolipoprotéine B [50].

⇒ Ainsi, quand la quantité d'acides gras arrivant au foie et la synthèse de triglycérides excède la capacité du foie à oxyder les acides gras ou à hydroxyler et exporter les triglycérides sous forme de VLDL, le métabolisme hépatique s'oriente vers une voie anabolique.

Les AGNE subissent alors une estérification puis le foie stocke les triglycérides qui s'accumulent dans des vacuoles d'où développement d'une stéatose hépatique [50]. L'ampleur et la rapidité de la perte de poids suite au vêlage contrôlent l'émergence et la sévérité de la stéatose hépatique [45 ; 44]. D'autant plus que les animaux en état d'embonpoint excessif ont souvent un appétit de plus en plus réduit en fin de gestation et souffrent souvent d'inappétence peu après la mise bas, ce qui les prédisposerait à la stéatose hépatique [102].

Certains déclarent que cette stéatose provoquerait une altération de l'aptitude du foie à la néoglucogenèse : jusqu'à -75% selon Ferre et Aubadie-Ladrix [32].

Ceci entraînerait une diminution de la disponibilité en glucose et enfin la déviation vers l'oxydation de ces AGNE au profit de la production de corps cétoniques: c'est à ce moment que se déclare la cétose clinique [48]. Selon Kauppinen [59], Morrow et coll. ont d'ailleurs déclaré que la cétose serait une complication de la stéatose hépatique dans le cas du « syndrome de la vache grasse ».

Par contre, d'autres ont démontré qu'il n'existait pas de corrélation in vitro entre la capacité de néoglucogenèse du foie et la surcharge de ces hépatocytes en triglycérides [50 ; 66].

Apparemment, une importante stéatose n'est pas toujours associée à des altérations graves du métabolisme hépatique et le fait que la néoglucogenèse hépatique soit diminuée lors de stéatose hépatique est discutée : il s'avérerait donc nécessaire d'effectuer plus de recherches in vivo [46].

Le degré de stéatose serait moins impliqué dans les troubles du fonctionnement hépatique que la déplétion des hépatocytes en glycogène : ce dernier jouerait un rôle de « protecteur » de l'hépatocyte contre la stéatose.

En effet, on a observé que les expressions cliniques les plus graves des stéatoses hépatiques étaient rencontrées lorsque la teneur en glycogène des hépatocytes était très basse. [102]

Comme il été souligné précédemment, une vache avec un foie stéatosé est moins résistante et donc plus sujette à des agressions toxiques et nutritionnelles. Cela explique les nombreuses complications de cette maladie que l'on rencontre, rendant le traitement d'autant plus complexe.

En résumé, ce syndrome est caractérisé par une normo- ou une hyperglycémie associée à une normo- ou une hyper-insulinémie et une insulino-résistance. L'activité de la CAT 1 est réduite, ce qui empêche les acyl Coa d'entrer dans les mitochondries. L'estérification de ces derniers en triglycérides est donc majoritaire et une stéatose hépatique sévère se développe. Le taux d'AGNE plasmatiques est extrêmement élevé, mais la cétogenèse est réduite, donc la cétonémie est moins élevée que précédemment.

Il faut noter toutefois que l'on peut observer l'apparition d'une hypoglycémie en fin d'évolution de ce syndrome, lorsque la vache a épuisé l'ensemble de ses réserves corporelles. [46]

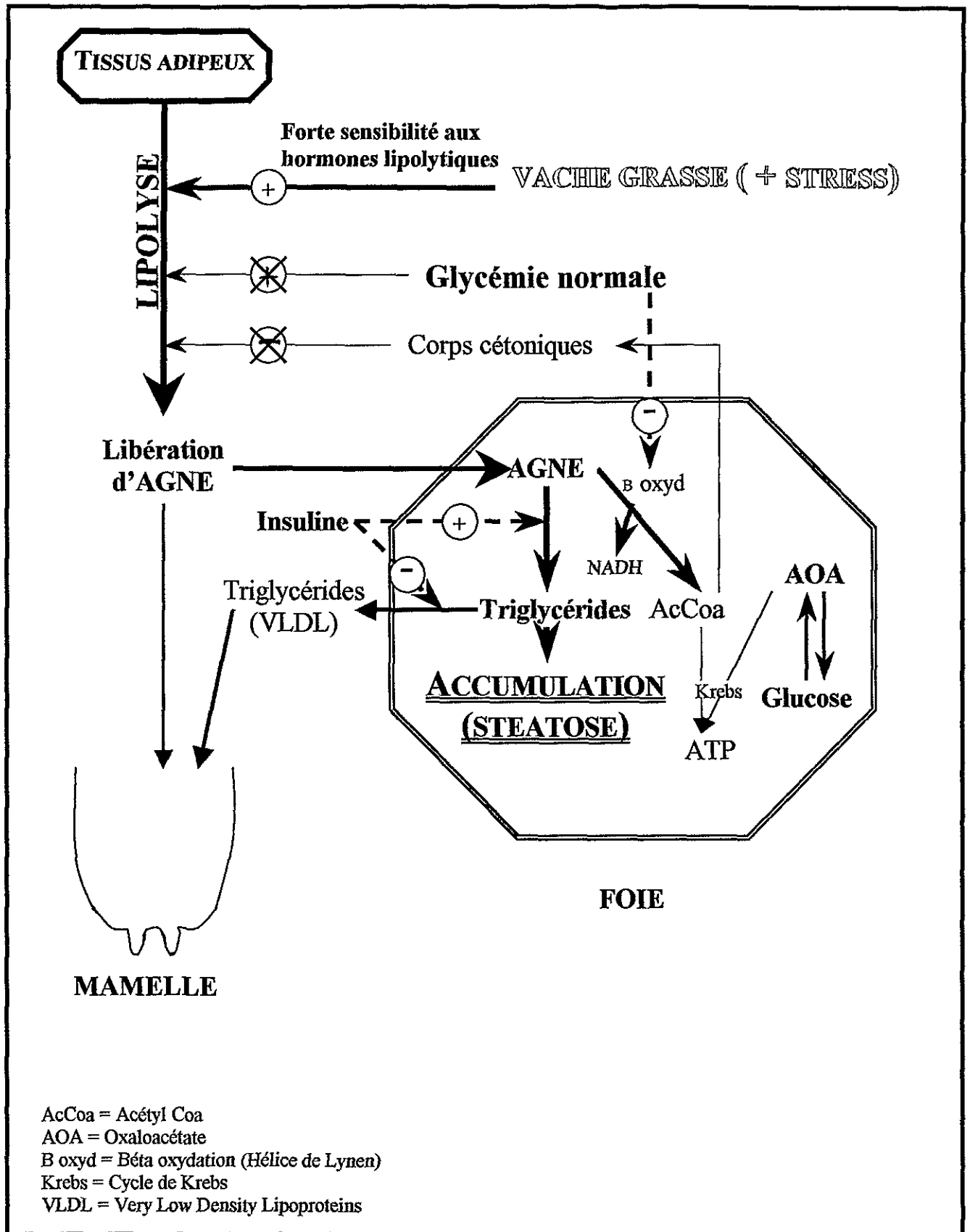


Figure 10 : Schéma explicatif des mécanismes de la cétose de type II (d'après Enjalbert F. [31]) :

Au cours de cette première partie, nous nous sommes efforcés de distinguer les deux types de cétose du point de vue épidémiologique, clinique et biochimique.

L'une survient essentiellement chez des vaches laitières sous alimentées au pic de production laitière. Elle répondrait rapidement et favorablement à la correction de l'alimentation vers un régime riche en précurseurs du glucose.

L'autre cétose proviendrait d'une hyperactivité lipolytique de la masse grasse périphérique chez des vaches obèses au moment du part. Il semblerait qu'il existe une certaine résistance à l'activité lipolytique de l'insuline. Ce type serait moins aisé à traiter et susceptible d'un plus grand nombre de complications dont le décubitus, d'où une plus grande importance donnée à la prévention.

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES CLINIQUES

I. Objectifs

Le principal objectif était de caractériser les profils épidémio-cliniques et biologiques des deux types de cétooses décrits en première partie, si tant est qu'ils existent

L'objectif plus secondaire était de voir si certains paramètres sanguins avaient tendance à évoluer dans le même sens chez les vaches cétoosiques.

Pour le faire, il a été arrêté que l'on étudierait des cas spontanés de cétoose rencontrés dans une clientèle de la région lyonnaise et dans une clientèle du département de Haute-Saône.

II. Matériel et méthodes

1. Animaux recrutés

Il avait été prévu initialement de ne retenir que les vaches laitières en péri-partum pour lesquelles aucune cause de cétoose secondaire (déplacement de caillette, mammite, métrite, péritonite (réticulopéritonite traumatique), fourbure, boiterie associée à un abcès ou à un ulcère, pyélonéphrite...) n'avait pu être trouvée. Ces animaux étaient donc soupçonnés de développer une cétoose primaire.

Cependant, lors du recrutement, nous avons vite été confrontés à la réalité du terrain : on observait très peu de cétooses primaires dans les clientèles choisies.

D'où une réévaluation des critères d'inclusion des animaux dans l'expérimentation : nous avons effectué des prélèvements sanguins chez toutes les vaches en péri-partum (c'est-à-dire entre la mise-bas et 7 semaines environ après vêlage) qui présentaient des symptômes d'amaigrissement, de diminution d'appétit et/ou de chute de production laitière et ayant deux croix ou plus de corps cétoniques à la bandelette urinaire, ou un test au nitroprussiate positif sur le lait.

Les conditions d'exclusions étaient :

- Une élévation récente du niveau d'ingestion.
- Une vache n'étant pas en péri-partum.
- Les pathologies pouvant entraîner une hypoglycémie: entérite aiguë, mammite colibacillaire, septicémie, syndrome d'occlusion intestinale.
- Une vache ayant reçu un traitement à l'aide de glucocorticoïdes ou de perfusion glucosées réalisé il y a moins de 5 jours (comme il l'a été choisi dans l'étude de Dale et coll. [20]).

2. Enregistrements épidémiocliniques

La suspicion de cétose était émise pour une vache, selon des critères à la fois :

- épidémiologiques : saison hivernale, vache laitière haute productrice en péri-partum (de préférence entre le post-partum et le pic de lactation), le plus souvent au maximum de sa production lactée, alimentation intensive (acidose latente)...
- et cliniques : amaigrissement, appétit capricieux et sélectif, abattement, stase digestive, diminution de la production laitière ou réalisé inférieur au réalisable...

Pour la confirmer, un prélèvement urinaire (par cathétérisme vésical) ou de lait était fait systématiquement pour confirmer notre hypothèse.

La détection de corps cétoniques dans les urines était possible par la lecture de la plage corps cétoniques d'une bandelette urinaire ou par la réalisation d'un test au nitroprussiate sur le lait. Les bandelettes urinaires utilisées étaient des bandelettes Multistix® commercialisées par le laboratoire Bayer®. Une coloration violette plus ou moins intense apparaissait selon l'importance de la cétonurie. La plage « corps cétoniques » de la bandelette urinaire ne détecte cependant que l'acétoacétate, et pas l'acétone ni le bêta hydroxybutyrate.

Quant à la détection sur le lait, elle était possible grâce au test Véto Test Cétonose® du laboratoire Coophavet®. Un anneau violet apparaît au contact de la poudre réactive et du lait en cas de concentration en corps cétoniques plus élevée que la normale dans le lait.

Le taux de corps cétoniques dans le lait est identique à celui du sang et on y observe une réaction positive au test que dans les cas pathologiques. La réaction peut également être effectuée avec tous les liquides biologiques. Les causes de faux positifs (coloration faible ou coloration différente) sont : un traitement de l'animal avec des salicylates, des barbituriques, des phénols, des sulfites, des hyposulfites ou des sulfhydriles [73].

Ensuite, nous complétons également une fiche concernant l'identification de l'animal, le ou les motif(s) de visite, les signes associés, l'ensemble de l'examen clinique, ainsi que la démarche à suivre pour la réalisation et le traitement des prélèvements pour chaque animal (*annexe 2*).

En plus des données cliniques nous avons également essayé dans un premier temps de collecter des renseignements concernant le mode de rationnement employé dans les exploitations où nous avons trouvé des animaux cétosiques, mais nous y avons renoncé face au manque d'exactitude sur les quantités et les types d'aliments employés. Nous aurions aimé savoir si les élevages concernés avaient tendance à utiliser des aliments connus pour leur pouvoir cétogène, comme la betterave et certains ensilages de maïs, et si les élevages incorporant dans leur rationnement suffisamment de maïs grain connu pour ses propriétés anti-cétogènes (car apportant une source duodénale de glucose) pouvaient tout de même avoir des cas de cétose.

De même, les données concernant les performances de reproduction et les résultats du contrôle laitier n'ont pas été notés car tous les exploitants n'étaient pas adhérents au contrôle laitier et tous ne possédaient pas un document de suivi de reproduction à jour.

3. Prélèvements et analyses de laboratoire

➤ Choix des paramètres sanguins mesurés :

Le choix des paramètres sanguins utilisés pour répondre aux objectifs établis a été défini par rapport aux critères de pertinence énoncés en première partie.

Il a donc été décidé de mesurer :

- des paramètres majeurs dans la caractérisation des types de cétozes : insulinémie, glycémie, cétonémie et triglycérides.
- des paramètres associés à l'état de cétoze :
 - Ceux qui permettent d'étudier sur le terrain la possible influence de la cétoze bovine sur les fonctions hépatiques [25] :
 - l'activité plasmatique d'une enzyme spécifique d'une atteinte hépatique en l'absence de lésions musculaires : l'ASAT.
 - des paramètres qui sont en mesure de témoigner d'une cholestase : l'activité de la GGT sanguine et la bilirubinémie totale [91].
 - un des paramètres symptomatiques de la néoglucogenèse : l'urée.
 - La mesure des synthèses protéiques grâce à la concentration en protéines totales dans le sang. Néanmoins ce test est peu spécifique.
 - (on peut également évaluer l'homéostasie du glucose et des lipides en évaluant le degré d'hypoglycémie et la cétonémie ; mais ces paramètres ont déjà été cités en tant que paramètres majeurs).
 - Le cortisol qui serait augmenté par l'hypoglycémie.
 - La numération formule qui serait modifiée dans les cas de cétozes secondaires à un état infectieux ou lors de cétoze de type 2.

En revanche, nous n'avons pas dosé les AGNE plasmatiques pour des raisons de difficultés de prélèvement et de transport (les AGNE sont très instables [4 ; 5]), de dosage, de coût du kit de dosage, et des difficultés d'interprétation des résultats.

En effet, il existe une grande variabilité analytique liée :

- Au moment de prélèvement : il existe des variations diurnales physiologiques importantes dans les concentrations en AGNE plasmatiques [4].
- Au mode de prélèvement : il est important de noter que le stress lors du prélèvement sanguin provoque une sécrétion accrue d'adrénaline responsable d'une élévation des concentrations sanguines en AGNE [20 ; 5]. C'est le cas lors d'une contention un peu brutale de l'animal, ou d'un animal qu'il a fallu poursuivre pour réaliser la prise de sang.
- Aux délais écoulés entre le prélèvement et la centrifugation de l'échantillon de sang, et entre la centrifugation et le refroidissement pour le stocker. Ils peuvent être très variables selon les conditions de terrain, comme c'est le cas dans cette étude.

- Au temps et à la vitesse de décongélation, puis au délai de traitement du prélèvement après décongélation: les triglycérides sont des entités très instables qui, lors de la décongélation, se dégradent pour libérer, entre autre, des AGL.

De plus, les résultats présentent une très grande variabilité qui rend leur exploitation extrêmement difficile (*source : F.Enjalbert, communication personnelle*).

Au vu des recherches sur la stabilité des différents métabolites sanguins, il s'est avéré que le moins stable sur sang total était le glucose.

De nombreux manuels et articles (dont [4 ; 54]) nous font part de la nécessité d'utiliser des tubes à fluorure de sodium pour le dosage de la glycémie. Ceux-ci permettent de stabiliser un certain temps les valeurs de la glycémie par inhibition des activités enzymatiques. Néanmoins, pour des soucis de praticité sur le terrain (afin ne pas ajouter un tube de prélèvement), nous avons décidé d'utiliser des tubes avec de l'héparinate de lithium comme anticoagulant. Il est couramment déclaré que dans ce type de tube, la valeur du glucose sanguin baisse de 5 à 10% chaque heure à température ambiante suite à la glycolyse par les cellules du sang [4 ; 25 ; 5]. Nous avons donc réalisé une étude préalablement au lancement de notre expérimentation afin de vérifier ces dires et de déterminer combien de temps après le prélèvement l'on observe une chute notable dans la valeur initiale de la glycémie.

➤ **Test de stabilité de la glycémie avec prélèvement sur tube hépariné :**

Cinq prises de sang sur vacutainer à bouchon vert (héparinate de lithium) ont été réalisées en même temps à 10h du matin à la veine jugulaire sur 4 vaches différentes hospitalisées à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. Ces animaux n'étaient pas en lactation ni gestantes mais étaient de race laitière (2 de race Prim'Holstein: notées H et 2 de race Montbéliarde: notées M).

Puis :

- Centrifugation d'un des tubes de sang de chaque vache à To, séparation puis congélation du plasma ainsi obtenu.
- Les autres prises de sang ont été gardées sur un porte-tube à température ambiante de 25°C environ.
- A To + 1h, un autre tube de chaque vache a été centrifugé et son plasma congelé. Les autres tubes restants étaient toujours maintenus à température ambiante.
- Les mêmes manipulations ont été réalisées à To + 2h, To + 4h et To + 1J (To + 24h).

Quand l'ensemble des centrifugations a été terminé, nous avons dosé la glycémie de tous les plasmas (après décongélation lente à température ambiante) de façon automatisée avec deux méthodes différentes :

- dosage au Réflotron® (Boehringer-Mannheim, Meylan – France).
- Puis à l'aide de l'analyseur automatique Konelab® (Thermo Clinical Lab System, Cergy Pontoise – France).

Les deux appareils montraient une évolution similaire des concentrations. Avec l'analyseur automatique Konelab®, on obtenait les résultats suivants (glycémie en mmol/L):

Tableau 3: Glycémie des plasmas de vaches laitières "saines" conservés à température ambiante et centrifugés puis congelés à intervalles définis:

	To	To + 1h	To + 2h	To + 4h	To + 1J
Vache 1 H	3.7	3.9	3.8	3.4	1.7
Vache 2 M	6.4	5.2	6.2	5.4	2.85
Vache 3 H	2.9	2.1	3.4	2.9	1.9
Vache 4 M	2.5	3.3	3.3	3.1	1.8

⇒ Nous avons constaté que la glycémie restait assez stable pendant les 4 heures suivant le prélèvement. Nous avons de toute façon une orientation sur la valeur de la glycémie d'une vache: la valeur de glycémie obtenue à To + 4h permettait de se rendre compte si un animal était normo- ou hypoglycémique.

De même, nous avons constaté dans tous les cas une diminution de 50% de sa valeur au bout de 24h quelque soit la valeur de la glycémie de départ.

⇒ Nous nous sommes donc donnés lors de notre expérimentation un délai de 4 heures maximum pour centrifuger, séparer le sérum et le congeler. Nous essayerons dans la mesure du possible de conserver pendant ce laps de temps les prélèvements à une température de réfrigération comprise entre 0 et 6 degrés Celsius.

➤ Démarche suivie pour la réalisation et le traitement des prélèvements en vue des dosages :

La démarche à suivre sur le terrain pour les prélèvements sanguins puis leur traitement a été explicitée en bas de la fiche destinée à « recevoir » les informations épidémiocliniques (*annexe 2*). Un schéma récapitulatif de l'ensemble du protocole est présent en *annexe 3*.

Une fois qu'une cétonurie de deux croix ou plus avait été mise en évidence par la bandelette urinaire, des prélèvements sanguins à la veine jugulaire à l'aide de vacutainers étaient effectués avant le traitement par voie parentérale.

Nous avons prélevé pour chaque animal : deux tubes de sang de 5 mL avec l'héparinate de lithium comme anticoagulant (bouchon vert), et un tube de sang de 5 mL sur EDTA (Éthylène Diamine Tétra Acétate) (bouchon violet) dans un environnement le plus calme possible afin d'éviter un stress hyperglycémiant.

Au chevet de l'animal, le tube n°1 devait être déprotéinisé immédiatement après la prise de sang. En effet, l'acétoacétate est un corps cétonique qui se dégrade spontanément en acétone + CO₂ volatiles d'autant plus rapidement que la température est élevée [13 ; 23].

Pour cela, il fallait prélever 2 mL de sang du tube 1 à l'aide d'une seringue de 1 mL à usage unique fournie et les mettre dans un des tubes notés « tube 1 bis » (qui contient déjà 2 mL d'acide perchlorique (HClO₄)) et jeter le tube 1 et la seringue. Puis, nous agitions fortement le

tube 1 bis pendant 30 secondes. Cette manipulation permettait la précipitation des protéines sanguines par l'acide perchlorique afin d'éviter la transformation de l'acétoacétate [13].

L'ensemble des tubes était amené peu après à la clinique dans un délai maximum de 4 heures défini par rapport à la stabilité de la glycémie.

Les tubes 1 bis et 2 étaient alors centrifugés pendant 15 min à 3000 tours/min et le surnageant (plasma) était mis dans des tubes Eppendorf que nous appellerons « cônes » dans le reste de notre travail :

- cône 1 pour le plasma déprotéinisé du tube 1 bis.
- cônes 2 et 2 bis pour le plasma du tube 2.

Les cônes 2 et 2 bis étaient mis au freezer et le cône 1 et le tube 3 étaient placés au réfrigérateur en attendant leur acheminement sous couvert de froid dans la demi-journée au laboratoire de pathologie du bétail de l'ENVL.

Il faut noter que le plasma récolté après la centrifugation du sang peut se conserver à 8°C durant 2-3 jours sans affecter la valeur de la plupart des paramètres sanguins [92].

A l'unité de pathologie du bétail, une numération formule était réalisée sur le tube 3, les cônes 2 et 2 bis étaient congelés à -25°C en attendant le dosage des paramètres insulïnémie, glycémie, urémie, activité de l'ASAT, activité de la GGT, bilirubinémie, cortisolémie et triglycéridémie au laboratoire de biochimie de l'ENVL.

Deux mL de plasma du cône 1 étaient neutralisés (l'acide perchlorique est un agent très acide) par l'ajout de 850 µL de NaHCO₃ (à 1,4 mol/L) afin d'obtenir un pH voisin de 7-8, avant que le nouveau cône 1 contenant le plasma neutralisé soit congelé à -25°C en prévision d'un dosage ultérieur de deux corps cétoniques (bêta hydroxybutyrate et acétoacétate) au laboratoire d'alimentation de l'ENVL.

En cas de décès du bovin suivi, nous avons prévu de réaliser une autopsie à l'ENVL afin de noter les lésions en rapport avec la cétose ou le « syndrome de la vache grasse », ou celles qui nous permettraient d'affiner notre diagnostic. On pourrait éventuellement y adjoindre à ce moment-là une analyse histologique du foie au microscope après coloration.

➤ Réalisation des dosages :

▪ Produits chimiques :

Les réactifs utilisés pour les mesures des concentrations plasmatiques en corps cétoniques (β-hydroxybutyrate et acétoacétate) étaient tous de qualité pour analyses de laboratoire. Le phosphate de potassium dibasique (99%), le phosphate de potassium monobasique (99%), le sel de disodium de β-NADH (98%), l'hydrazine hydrate (98%), le Tris(hydroxyméthyl) aminopropane-diol (TRIS), le sel de disodium d'acide éthylène diaminetetraacétique dihydraté, le sel de sodium de β-NAD (95%) et l'enzyme L-lactate déshydrogénase type III (L-LDH) provenaient du laboratoire Sigma-Aldrich® (Saint Quentin Fallavier, France). Quant à l'enzyme 3-hydroxybutyrate déshydrogénase Roche®, elle nous a été fournie par la société R-Biopharm-France® (Saint Didier au Mont d'Or, France). L'eau a été préparée grâce au système Milli-Q plus de chez Millipore® (Molsheim, France).

Les réactifs utilisés pour le dosage du cortisol venaient du kit Coat-A-Count® (Diagnostic Products Corporation (DPC), La Garenne Colombe – France), ceux pour le dosage de l'insuline, du kit INSIK-5® (P2796) (DiaSorin S.p.A, Antony – France).

▪ Appareils et méthodes utilisés :

Il ne semble pas exister actuellement de particularité analytique chez les ruminants qui empêche ou gêne le dosage d'un composé sanguin par les méthodes habituelles [10].

En ce qui concerne le dosage des corps cétoniques, nous avons répartis les différentes quantités d'enzymes (L-LDH et 3-HBDH) grâce à une pipette pouvant mesurer des volumes allant de 0,5 à 10 µL de marque Genex beta pipetor® (VWR International, Limonest – France). Les autres pipettes provenaient de chez Finnpiquette® (Fischer Scientific SAS, Elancourt – France). Les mesures d'absorbance ont été réalisées avec un spectrophotomètre UV-VIS Unicam 8625® (ATI Unicam, Argenteuil – France).

Le taux plasmatique de β-hydroxybutyrate a été déterminé en utilisant la méthode Williamson et Mellanby [103] explicitée en *annexe 4*. Le sang prélevé ne devait pas être hémolysé car cela pourrait donner des concentrations par excès en bêta hydroxybutyrate [23].

Celui d'acétoacétate a été mesuré par la méthode de Mellanby et Williamson modifiée pour prendre en compte la présence de pyruvate dans les échantillons [64 ; 70]. La méthode est précisée en *annexe 5*.

Pour doser l'insulinémie et la cortisolémie, l'appareil de radio-immunologie Riastar® (Packard, Rungis – France) a été utilisé.

Lors des déterminations de l'activité de la glycémie, de l'ASAT (SGOT), de l'urémie, et de la triglycéridémie, nous avons utilisé l'analyseur automatique Konelab® (Thermo Clinical Lab System, Cergy Pontoise – France) et ses plaquettes de mesure spécialement adaptées à chaque paramètre.

Enfin, nous avons employé des bandelettes réactives (détermination quantitative) lues par l'appareil Réflotron® (Boehringer-Mannheim, Meylan – France) en vue du dosage de l'activité de la GGT sanguine et de la bilirubinémie.

Pour la détermination de l'hématocrite, il a été employé une centrifugeuse à micro hématocrite Haematokrit 24® (Hettich, Allemagne) associé à une grille de lecture d'hématocrite. Après passage d'un capillaire rempli de sang dans la mini-centrifugeuse à micro-hématocrite qui tourne à 10 000 tours par minute pendant 7 minutes (il est préconisé en général 12000 tours/min pendant 5 minutes [34]), la valeur de l'hématocrite est ensuite lue sur une grille de lecture spécialement prévue à cet effet. Cette mesure ne coïncide pas tout à fait avec l'hématocrite, mais reflète en réalité un *Packed Cell Volume* (PCV). En effet, dans ce cas, il reste du plasma au milieu des hématies. La valeur de ce PCV peut varier de 1 à 2 % par rapport à la valeur réelle de l'hématocrite [34].

La mesure des protéines totales s'est faite à l'aide d'un réfractomètre de pailleuse ATAGO SPR T2®.

Celle de la numération-formule a été possible grâce à l'appareil Celly® (Hycell, Le Rheu – France), suivie d'une vérification visuelle par réalisation d'un frottis coloré au May Grünwald Giemsa observé au microscope.

III. Résultats

De nombreuses études ont été réalisées en vue de définir des valeurs usuelles pour la plupart des méthodes de laboratoire actuelles. Chaque laboratoire, possède ses propres valeurs de usuelles en fonction de l'espèce de l'animal et du type de test utilisé. Elles correspondent en général à la valeur moyenne plus ou moins deux fois l'écart type calculé au sein d'un groupe d'animaux sains [63].

En général, on donne les résultats avec un intervalle de précision de plus ou moins 5%, on peut donc observer des résultats atypiques chez un animal sain [5].

Il faut savoir que les valeurs de références données par les fabricants peuvent quelquefois être discordantes. D'autre part, elles sont moins bien définies que chez les carnivores [4 ; 5].

Au total, 15 bovins suspectés d'être cétoniques ont été recrutés.

Une vache témoin a également été incluse dans l'étude pour comparaison : elle était à 12 jours post-partum et avec une note d'état corporel assez élevée (de 3,5-4 environ). Elle ne présentait pas de signes cliniques (appétit conservé, bonne production laitière), mais nous avons tout de même relevé une à deux croix de corps cétoniques à la bandelette urinaire.

Nous avons éliminé de notre expérimentation trois bovins qui ne présentaient pas de corps cétoniques à la bandelette urinaire.

Il a donc été gardé dans le cadre de notre étude 12 bovins cétoniques et une vache témoin.

Il y avait 8 vaches de race Prim'Holstein et 4 Montbéliardes seulement.

Les motifs de visite les plus fréquemment évoqués (plusieurs réponses possibles) étaient une chute de l'appétit (8/12) et de la production ou une production anormalement basse (7/12).

Nous avons dénombré 7 primipares et seulement 4 multipares parmi les animaux étudiés.

Aucun des bovins n'a subi de vêlage difficile, et seulement 3/12 ont nécessité une assistance manuelle minime.

3 vaches ont déclaré les premiers signes dans les 15 jours suivant le part, 7 entre 16 et 35 jours (moment du pic de lactation), et enfin 2 après 35 jours post-partum.

La durée de tarissement a été raccourcie pour 3 animaux, allongée pour 2, et elle a été dite « normale » pour les 7 autres.

L'ensemble de ces constatations est résumé dans le *tableau n° 4* ci-dessous.

Tableau 4 : Paramètres épidémiologiques recueillis chez les 12 vaches cétosiques retenues:

Motifs de visite ❶	Chute de l'appétit	Chute de la production	
Nombre	8	7	
Race	Française	Montbéliarde	
Nombre	8	4	
Rang de lactation	Primipare	Multipare	
Nb	7	5	
Assistance au vêlage	Non	Mécanique	
Nb	8	4	
Période après la mise bas	0 à 15 jours	16 à 35 jours	Plus de 35 jours
Nb	3	7	2
Distance du calvinaire	Proche	Normal	Allongée
Nb	8	4	2

Nombre = nombre d'animaux concernés.

❶ Plusieurs réponses étaient possibles.

Un examen clinique rigoureux et complet a été réalisé sur chaque bovin suspect ; les résultats sont exposés dans le *tableau n°5*.

Aucune vache cétosique ne présentait de signes d'une cétose nerveuse (4 animaux abattus, 8 avec un état général normal).

6 vaches sur 12 avaient une diminution notable de la fréquence ruminale, voire un arrêt total des mouvements ruminiaux.

Trois bovins avaient une température corporelle augmentée (cétose secondaire à un jeûne provoqué par un état févreux).

L'aspect des fèces était normal pour 5 animaux, diarrhémique pour 3, et 4 animaux seulement présentaient une constipation qui fait partie des symptômes typiques de l'état de cétose.

Par contre, il a été noté pour tous les bovins un amaigrissement peu avant l'apparition des signes cliniques proprement dits, avec 10 animaux qui avaient une diminution très notable de l'appétit associée. A la chute de l'appétit chez ces 10 vaches, a coïncidé une chute de la production laitière.

Il n'a pas été trouvé de cause de cétose secondaire pour seulement 4 bovins. L'hypothèse d'une cétose primaire hypoglycémique (au vu des résultats des dosages) a alors été retenue et renforcée s'il y avait une bonne réponse au traitement médical. Les cétooses secondaires observées faisaient fréquemment suite à un déplacement de caillette à gauche (autre maladie très courante du post-partum chez la vache laitière haute productrice), sinon, elles faisaient suite à une maladie déprimant l'appétit : boiterie, corps étranger ou traumatisme.

Tableau 5 : Examen clinique des douze vaches céto­siques examinées :

Nombre de croix à la BU	Croix	Deux	Trois	Quatre	
	Nombre	2	7	3	
État général	Signe	Abattement	Normal	Agitation	
	Nombre	2	8	1	
Fréquence ruminale	S	Diminuée ou arrêt	Normale		
	Nb	6	6		
Température	S	Diminuée	Normale	Augmentée	
	Nb	0	9	3	
Aspect des bouses	S	Diarrhée	Normales	Constipation ou stase digestive	
	Nb	3	5	4	
Amalgamement	S	Oui	Non		
	Nb	12	0		
Appétit	S	Diminué	Conservé		
	Nb	10	2		
Production lactaire	S	Chute brutale ou réaliste réalisable	Normale		
	Nb	10	2		
Type de cétose	S	Primaire	Secondaire		
	Nb	4	8		
Origine des céto­ses secondaires	S	Déplacement Colibacillose	Bolus	Suspension de traitement	
	Nb	(V4, V5, V10)	(V8, V9)	(V6, V11, V12)	

Nombre = nombre d'animaux présentant le signe. BU = bandelette urinaire. V = vache

Même si aucune donnée concernant les performances de reproduction n'a été collectée, nous avons tout de même remarqué dans 4 cas sur 12 que l'on observait une métrite associée à l'état de cétose, ce qui laisse supposer que la fertilité ultérieure de ces animaux risque d'être notablement altérée.

En ce qui concerne les analyses hématologiques, elles sont exposées de façon détaillée en *annexe 6*.

Nous n'avons pas pu faire les analyses sur un animal (V8) du fait que le tube EDTA ait été brisé avant son arrivée au laboratoire.

Pour les autres animaux, aucun ne se trouvait en anémie ni en leucopénie au moment du prélèvement, même les animaux suspectés d'être atteints de stéatose hépatique (« syndrome de la vache grasse »). De même, nous n'avons pas trouvé de vache en neutropénie. En revanche, 3 animaux (V4, V11 et V12) présentaient une neutrophilie (pourcentage et nombre de polynucléaires neutrophiles simultanément augmentés).

Ces trois animaux ont également présenté une inversion de formule (nombre de polynucléaires neutrophiles plus important que le nombre de lymphocytes) avec leucocytose.

Les analyses biochimiques sont exposées avec les paramètres hématologiques dans le *tableau n°6*.

L'*annexe n°7* présente les résultats biochimiques de chaque animal pris séparément.

Tableau 6 : Résultats hématologiques et biochimiques des vaches cétosiques prélevées :

Hématologie	Leucocytes	Leucopénie	Valeurs usuelles	Leucocytose avec inversion de formule
	Nombre	0	8	3
	PNN	Neutropénie	Valeurs usuelles	Neutrophilie
	Nb	0	8	3
	Monocytes	Hypomonocytémie	Valeurs usuelles	Hypermonocytémie
	Nb	0	8	0
	Glycémie	Hypoglycémie	Normoglycémie	Hyperglycémie
	Nb	5	6	1
	Urémie	Hypourémie	Valeurs usuelles	Hyperurémie
	Nb	4	8	0
	Activité ASAT	Diminuée	Valeurs usuelles	Augmentée
	Nb	0	8	4
	Activité CSAT	Diminuée	Valeurs usuelles	Augmentée
	Nb	7	7	0
	Triglycéridémie	Diminuée	Valeurs usuelles	Augmentée
	Nb	5	7	0
	Concentration en bbb	Diminuée	Valeurs usuelles	Augmentée
	Nb	0	3	9
	Concentration en acétoacétate	Diminuée	Valeurs usuelles	Augmentée
	Nb	0	6	6

Nombre = nombre d'animaux présentant le signe.

PNN = Polynucléaires neutrophiles.

bbb = bêta hydroxybutyrate.

IV. Discussion

Les résultats obtenus nous permettent de rappeler et de préciser plusieurs points en ce qui concerne la détection ainsi que la l'épidémiologie, la clinique et la pathogénie des cétozes de la vache laitière haute productrice.

1. Analyse de chaque paramètre et de leurs corrélations

Il était prévu au départ de mesurer la bilirubinémie puisqu'elle pouvait s'avérer utile dans l'évaluation d'une éventuelle atteinte hépatique.

Malheureusement, la bilirubinémie s'est montrée soit indétectable par l'appareil employé (Réflotron®), soit extrêmement basse, ce qui rend ininterprétables les valeurs obtenues et nous pousserait à déclarer que nous n'avons certainement pas été assez vigilant :

- quant au maintien des prélèvements à l'abri de la lumière puisque la bilirubine se dégrade très rapidement au contact des rayons ultraviolets.
- et quant au respect des délais de dosage : ils sont de 2 heures maximum après prélèvement sur sang avec héparine ou EDTA selon le manuel Réflotron® sur ce dosage.

Cependant, comme nous l'avons précisé en deuxième partie de ce travail, les valeurs normales de bilirubine totale sanguine chez une vache laitière se situent entre 0,17 et 8,55 $\mu\text{mol/L}$ (0,01-0,5 mg/dL) [58]. Or l'appareil ne peut mesurer des bilirubinémies que si elles sont situées entre 8,5 et 204 $\mu\text{mol/L}$ (0,5-12 mg/dL), ainsi il est possible que les animaux prélevés aient une bilirubinémie tout à fait normale, et soient donc en dessous du seuil de 8,5 $\mu\text{mol/L}$ mesurable par l'appareil. De plus, la bilirubinémie totale ne se trouve bien souvent élevée en cas de maladie hépatique qu'en phase terminale [25].

➤ Paramètres épidémiologiques :

Tout d'abord, nous avons remarqué que la race Prim'Holstein est plus touchée en général que les autres; cela est dû à son importante capacité de production laitière.

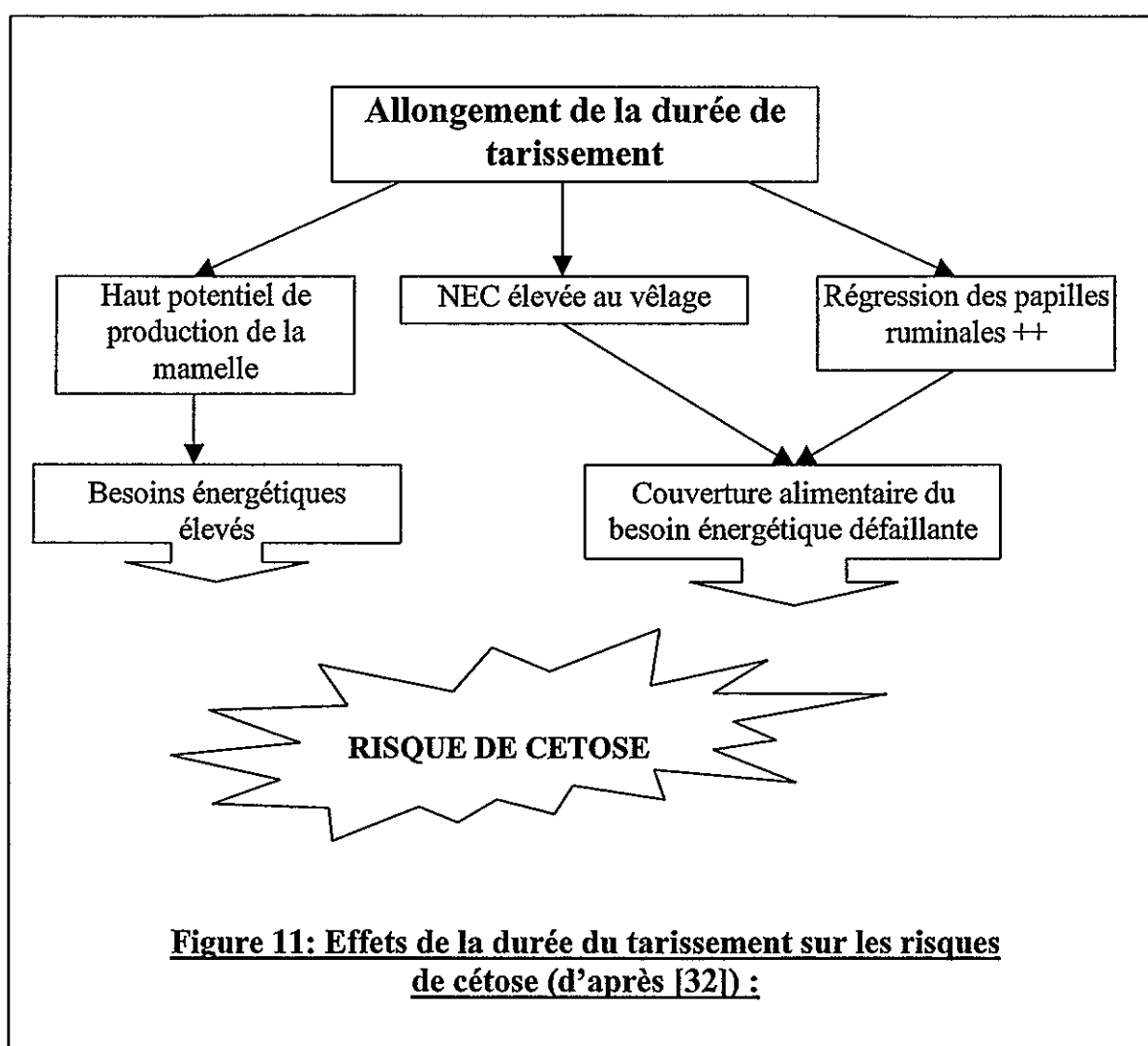
On se rend également compte à travers cette expérimentation que les primipares sont actuellement de plus en plus atteintes (7 animaux sur les 12 prélevés), contrairement à ce qu'il était déclaré il y a quelques années. Pourtant, les vaches en première lactation n'auraient pas une chute de glycémie aussi importante que celles plus âgées [54].

Ce résultat s'explique par le fait que l'on s'occupe peu de la conduite d'élevage des génisses qui arrivent de plus en plus souvent soit trop maigres, soit trop grasses en début de lactation. D'ailleurs Gerloff [37] déclare que la stéatose hépatique que l'on disait rare voire inexistante auparavant chez les primipares devient aujourd'hui beaucoup plus fréquente.

Le type de cétose se déclenchant au moment du pic de lactation s'est montré le plus représenté (7 animaux), appuyant le fait que les vaches laitières hautes productrices sont extrêmement sensibles lors de cette période critique sur le point de vue de la balance énergétique. En revanche, seulement 3 bovins ont manifesté des signes précoces de cétose ; cela contribuerait à expliquer que ce type de cétose soit peut étudié car plus rare.

Contrairement à ce que l'on s'attendait, la plupart des animaux ont eu une durée de tarissement que l'on pourrait qualifier de « normale ».

En effet, nous savons que l'allongement de la durée de tarissement est un facteur de risque de déclenchement d'une cétose (figure 11). Ceci s'explique par le fait qu'il favoriserait l'engraissement des animaux et la régression de la taille et des papilles du rumen.



➤ Paramètres cliniques :

Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés lors de cétose, à savoir l'amaigrissement et la chute de l'appétit et de la production laitière, sont également les plus rencontrés et les plus mentionnés par les éleveurs.

De même, ces derniers nous ont fréquemment mentionné une préférence en début d'évolution pour le foin plutôt que pour les concentrés, comme il est indiqué dans de nombreux ouvrages [23 ; 65].

En revanche, d'autres signes typiques ne sont pas majoritairement présents à l'examen clinique : la fréquence ruminale n'est pas toujours diminuée, une stase digestive est peu souvent présente et nous n'avons rencontré aucune cétose dite «nerveuse».

En outre, il est aisé de constater que les cétooses secondaires sont beaucoup plus fréquentes que les cétooses primaires. Il faut donc rester vigilant lorsque l'on est face à une vache laitière haute productrice proche du vêlage (surtout si elle se trouve aux environs de du pic de lactation) qui est atteinte d'une pathologie susceptible de déprimer son appétit en gardant en mémoire la probabilité qu'elle développe une cétose secondairement, et en agissant en conséquence (thérapeutique de prévention de la cétose).

➤ Paramètres biochimiques (*annexe 7*):

▪ Glycémie :

Cinq vaches présentent une hypoglycémie qui serait compatible avec l'existence chez elles d'une cétose hypoglycémique.

Nous avons fixé le seuil inférieur des valeurs usuelles de la glycémie à 2,1 mmol/L (0,4 g/L), cependant, des auteurs [4] considèrent que dès que les valeurs passent sous le seuil de 2,75 mmol/L (0,5 g/L) il y aurait déjà un déficit énergétique associé à une baisse des performances comme un amaigrissement, une chute de production et du taux protéique, une infertilité.

Trois vaches seraient alors concernées : V1, V4 et V6. Cela pourrait expliquer que l'éleveur de la vache 4 ait signalé les premiers signes d'un état de cétose comme un amaigrissement ou une chute de production sans que l'animal ne présente de cétonémie élevée.

Pour ce même auteur, lorsque l'on passe en dessous de 0,40 g/L, on considère que le stade de cétose est atteint [4], ce qui concerne toutes les vaches que nous avons notées comme hypoglycémiques.

Toutefois, une concentration en glucose sanguin abaissée peut également être la conséquence d'une augmentation importante des besoins en glucose lors de sepsis dû à des bactéries gram-productrices d'endotoxines ou de bactéries gram + anaérobies [25]. Cela pourrait concerner la vache 5 chez laquelle nous avons décelé un panaris interdigité, mais surtout les vaches 4 et 11 qui étaient suspectées de souffrir d'un corps étranger.

En outre, nous avons déclaré en première partie que la glycémie s'élevait fréquemment au-dessus de 2,75 mmol/L (0,5 g/L) lors de cétose secondaire. Ces affirmations ne sont pas en accord avec notre expérimentation où nous avons trouvé 6 vaches sur les 8 atteintes de cétose secondaire qui étaient en hypoglycémie sous 2,45 mmol/L.

Enfin, une seule vache présente une glycémie augmentée de 4,95 mmol/L (0,9 g/L). Nous considérons que cette valeur correspond à une hyperglycémie, même si Radigue [77] déclare que les vaches situées entre 0,6 g/L (3,3 mmol/L) et 1,2 g/L (6,6 mmol/L) ont une glycémie sub-normale, et que ce sont seulement celles qui dépassent 1,2 g/L qui sont en hyperglycémie. Néanmoins, nous trouvons la valeur de 0,6 g/L déjà élevée pour une vache laitière haute productrice en début de lactation. En effet, la glycémie baisse normalement dans les semaines

qui suivent le vêlage et est due à une diminution de la synthèse de glucose par le foie [56]. La valeur de la glycémie est à un niveau très bas surtout entre 3 et 30 jours post-partum [20].

Le résultat de cette vache, ne reflète pas les propos de Kauppinen [59] qui avance que la glycémie est soit abaissée, soit normale lors du « syndrome de la vache grasse » que nous suspicions ici.

Cependant, certains facteurs susceptibles d'augmenter artificiellement la glycémie peuvent aussi jouer un rôle: stress et excitation au moment du prélèvement (hypoglycémie masquée par un stress hyperglycémiant), refroidissement brusque, apport préalable de glucocorticoïdes... [11 ; 97]

▪ Insulinémie :

Seulement 3 vaches présentaient une hypoinsulinémie et 9 une concentration sanguine en insuline normale, alors que 5 vaches sont en hypoglycémie franche. Cela semblerait être en accord avec les dires de Hamada et coll. [41] qui déclare qu'une hypoglycémie n'est pas toujours associée à une hypoinsulinémie, et cela paraît en contradiction avec Dale et coll. [20] et Schwalm et coll. [88] qui affirment le contraire.

▪ Urémie :

L'urémie a été mesurée dans notre étude car il semblerait que sa concentration augmente suite au catabolisme des acides aminés et diminue lors d'insuffisance hépatique sévère, notamment lors de stéatose hépatique importante [59 ; 89].

Lors de mobilisation des réserves corporelles, on observe entre autre une mobilisation des protéines musculaires, on devrait donc en théorie remarquer une augmentation de l'urémie. Or ce n'est le cas pour aucune vache. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'on soit confronté essentiellement à des vaches maigres, ou au fait que les animaux soient atteints de stéatose hépatique altérant l'uréogénèse [49].

Les vaches 2, 5, 7, 8 et la vache témoin (V13) présentent une urémie abaissée par rapport aux valeurs usuelles. Cependant pour Verrielle [101], l'urémie est déjà basse lorsque l'on passe en dessous de 5,35 mmol/L (0,15 g/L). Tous les autres bovins excepté les vaches 4 et 11 seraient alors en hypo-urémie. Une urémie basse signe une insuffisance énergétique et azotée (apport alimentaire insuffisant) et/ou une atteinte hépatique [12].

Il a été noté par Hippen et coll. [50] au cours d'un processus d'induction de cétose chez des vaches laitières que l'urémie des animaux concernés a diminué pendant la phase d'induction de cétose et est remontée lorsque l'on a cessé ce protocole d'induction.

Cela s'explique par le fait que l'accumulation de triglycérides dans les hépatocytes diminue la capacité des hépatocytes à synthétiser de l'urée à partir du NH₃ lui arrivant par la veine porte. En effet, il n'y a que les hépatocytes qui sont capables de transformer l'ammoniac en urée. Cela expliquerait alors le fait que l'on trouve presque tous les animaux avec une urée abaissée, puisque en début de lactation, il y a toujours un certain degré de stéatose hépatique qui se développe.

Toutefois, l'urée est un paramètre tardif et peu spécifique [4 ; 5] dans l'évaluation d'une atteinte hépatocytaire : même si sa concentration diminue lors de pathologie hépatique, ce n'est seulement que lorsque 75% du parenchyme hépatique est détruit que l'on enregistre une chute nette de l'urémie.

▪ ASAT et GGT :

6 vaches présentent des valeurs d'activité de l'ASAT supérieures à 100 UI/L. De même, la moyenne d'activité de l'ASAT pour les douze vaches céto-siques est située un peu au dessus de cette valeur. Il existerait donc un certain degré d'insuffisance hépatique chez les vaches développant une cétose. Certains auteurs [38] pensent même que le dépassement des 100 UI/L est compatible avec l'existence d'un foie gras.

De même, beaucoup d'animaux montrent une activité de la GGT sanguine augmentée par rapport aux valeurs usuelles et la moyenne pour l'ensemble des bovins atteints de cétose atteint les 26,1 UI/L. Cela signifierait une tendance à la cholestase qui irait de pair avec une insuffisance hépatique chez les animaux céto-siques.

▪ Triglycérides :

Nous déclarions en première partie de ce travail que la stéatose hépatique était la plupart du temps caractérisée par une accumulation de triglycérides dans le foie associée à une réduction du taux sérique en triglycérides. Nous avons trouvé des concentrations en triglycérides effectivement en dessous des valeurs usuelles chez 6 vaches (y compris la vache témoin), mais aucune ne présentait également une valeur de l'activité de l'ASAT augmentée compatible avec la possible existence d'une stéatose.

La triglycéridémie pourrait être en fait diminuée chez la plupart des vaches en post-partum, signant ainsi une certaine insuffisance hépatique sans forcément de signe clinique. En effet, la vache témoin est concernée par ces faibles valeurs alors qu'elle ne présente aucun signe clinique de cétose.

▪ Cortisol :

En première partie, il était déclaré que l'hypoglycémie lors de cétose provoquait une augmentation de la concentration basale en cortisol. De cette façon, ce dernier stimulerait la protéolyse musculaire et la néoglucogénèse hépatique à partir des acides aminés glucoformateurs ainsi libérés. Nous n'avons trouvé cette relation de cause à effet que pour les vaches 7 et 11.

Néanmoins, la moyenne de la cortisolémie obtenue chez les vaches malades prélevées dépassait les 30 nmol/L (valeurs usuelles : 15-19). Cela nous mène à nous interroger sur l'existence éventuelle d'un stress durable peut-être du à l'état de cétose, qui pourrait induire cette hyper-cortisolémie.

▪ Corps cétoniques :

Parmi les vaches prélevées, il s'est avéré que trois vaches qui avaient une cétonurie largement détectable n'ont pas montré une cétonémie augmentée par rapport aux valeurs usuelles. Cette constatation sera discutée ultérieurement.

La mesure de la concentration plasmatique en corps cétoniques rend compte des déficits récents [69].

Duffield [23] s'appuie sur les résultats de plusieurs études pour définir les niveaux à partir desquels une vache serait en cétose subclinique ou clinique.

L'animal serait en cétose subclinique dès l'atteinte d'une concentration en bêta hydroxybutyrate sanguine de 1 $\mu\text{mol/mL}$ (10,4 mg/dL), et en cétose clinique au-dessus du

seuil de 2,6 $\mu\text{mol/mL}$ (27 mg/dL). Mais il est difficile de définir les valeurs exactes à partir desquelles les vaches vont exprimer des signes cliniques.

Ainsi selon lui, les vaches 1, 5, 6, 9, 10, 11 et 12 (*annexe 7*) seraient plutôt en cétose subclinique, et les vaches 3, 7 et 8 seraient en cétose clinique. Cependant, beaucoup des vaches classées en cétose subclinique exprimaient des symptômes assez typiques d'une cétose cliniquement déclarée avec notamment une chute de l'appétit associée à une chute de production.

De plus, selon ce même auteur, Baird considérerait qu'au-dessus de 0,5 $\mu\text{mol/mL}$ (5mg/dL) d'acétoacétate sanguin, les vaches se trouvaient en cétose clinique : cela concernerait seulement les vaches 3 et 7, la vache 8 serait alors en cétose subclinique si l'on considérait uniquement ce paramètre. Ainsi, malgré les précautions prises (déprotéinisation immédiate du sang au chevet de l'animal), nous trouvons des valeurs en acétoacétate faibles. Nous pouvons donc souligner au regard des résultats de notre expérimentation, que la mesure de l'acétoacétate sanguin est peu sensible pour la détection des cétooses subcliniques et cliniques.

Beaucoup d'auteurs [48] déclarent qu'une vache laitière haute productrice a souvent une cétonémie (et donc une cétonurie) plus élevée que la normale en début de lactation. Ainsi la vache témoin sur laquelle on a détecté deux croix de corps cétoniques sans aucun signe clinique en est une bonne illustration, même si elle présente une cétonémie située dans les limites de la normale.

➤ Paramètres hématologiques (*annexe 6*) :

La découverte de 3 cas de vaches présentant une neutrophilie associée à une inversion de formule leucocytaire a été reliée à la présence probable d'une pathologie sous-jacente à l'état de cétose pour V4 et V11 : cétose secondaire à un état fébrile suite probablement à un processus infectieux en cours (suspicion de corps étranger). En revanche, elle pourrait être reliée à un stress en ce qui concerne la vache 12 : ce même stress aurait pu contribuer au déclenchement d'un « syndrome de la vache grasse ».

La vache 12 présente une neutrophilie et une tendance à la lymphopénie, même si le nombre de leucocytes est situé dans l'intervalle des valeurs usuelles. Cela pourrait être compatible avec la déplétion lymphocytaire et la neutrophilie mentionnée par de nombreux auteurs [102 ; 11 ; 71] lors de « syndrome de la vache grasse ». Cependant, l'animal n'est pas en leucopénie et la vache témoin présente également cette même tendance. Cela nous pousse à envisager d'autres origines possibles pour ces résultats, comme par exemple les effets d'un stress.

Aucune information supplémentaire n'a pu être extraite des résultats de la numération-formule.

➤ Corrélations entre les paramètres :

En premier lieu, des auteurs assurent que le degré de cétonémie et de cétonurie ne sont pas forcément corrélés à la sévérité de la clinique [58 ; 48 ; 2], ce qui a été confirmé dans notre étude où par exemple la vache 3 qui possédait un taux de corps cétoniques élevé présentait le même type et la même sévérité de symptômes (diminution d'appétit et chute de production

laitière) et depuis le même laps de temps (24 h environ) que la vache 9 qui elle, avait une cétonémie bien inférieure.

De même, nous avons remarqué que la valeur des concentrations sanguines pour les autres paramètres n'était de la même façon bien souvent pas corrélée avec l'intensité des signes cliniques, ce qui paraît en accord avec ce que nous avons déclaré en première partie.

Ainsi, des échelles de valeurs permettant de mesurer l'importance de la pathologie sont très difficiles à établir [48].

Pour l'étude des paramètres biochimiques, nous avons tout d'abord effectué une séparation des animaux en deux groupes selon leurs concentrations plasmatiques en acétoacétate (*tableau 7*): basses (groupe 1) ou élevées (groupe 2). Pour définir les deux groupes, nous nous sommes appuyés sur les valeurs utilisées par Kauppinen [59], mais des concentrations très élevées (>1,05 mmol/L) n'ont pas été trouvées dans notre étude.

Tableau 7: valeurs moyennes des activités enzymatiques et des concentrations plasmatiques en différents composés dans deux groupes de concentration normale (0,06-0,35 mmol/L) et élevée (0,36-1,05 mmol/L):

	Groupe 1 (n=9)	Ecart 1-2	Groupe 2 (n=4)
[acétoacétate] (mmol/L)	0,06-0,35		0,36-1,05
Insuline	9,54	-1,54	8
Glycémie	2,65	-0,73	1,92
Urée	3,71	-0,81	2,9
ASAT	104	5,7	98,3
GGT	26	-2,2	23,8
Triglycérides	0,15	0	0,15
Cortisol	32,1	-8,85	23,25
β hydroxybutyrate	1,347	1,841 ①	3,188

① Seul écart entre les moyennes des deux groupes qui est significatif (au risque $\alpha=5\%$). Les autres ne le sont pas.

Puis, les valeurs moyennes des activités enzymatiques ou des concentrations plasmatiques observées pour les autres paramètres dosés ont été comparées entre les deux groupes. Ceci, grâce au test non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon « de la somme des rangs » (petits effectifs, échantillons indépendants).

Cependant, la différence de ces concentrations paramètre par paramètre entre les deux groupes a été non significative pour tous, sauf en ce qui concerne le bêta hydroxybutyrate. Mais ce dernier résultat va de pair avec la corrélation très significative trouvée entre le bêta hydroxybutyrate et l'acétoacétate dans le *tableau n°9*.

Puis nous avons suivi le même procédé en séparant cette fois les vaches en deux groupes de concentration moyenne à haute (groupe 1) et très élevées (groupe 2) en bêta hydroxybutyrate (*tableau 8*). De la même façon que précédemment, nous avons réalisé une comparaison des valeurs moyennes de chacun des paramètres entre les deux groupes. Les résultats ont également été les mêmes : c'est-à-dire que nous n'avons pas trouvé de différence significative pour aucun paramètre entre les deux groupes, sauf pour la concentration en acétoacétate.

Tableau 8 : valeurs moyennes des activités enzymatiques et des concentrations plasmatiques en différents composés dans deux groupes de concentration moyenne à haute (0,85 à 1,7 mmol/L) et très élevée (>1,7) en béta hydroxybutyrate :

	Groupe 1 (n=7)	Ecart 1-2	Groupe 2 (n=6)
[bhb] (mmol/L)	0,85-1,7		>1,7
Insuline	8,56	1,09	9,65
Glycémie	2,40	0,06	2,46
Urée	3,57	-0,24	3,33
ASAT	79,9	48,4	128,3
GGT	25,29	0,16	25,45
Triglycérides	0,14	0,02	0,16
Cortisol	29,7	-0,7	29
acétoacétate	0,104	0,355 ❶	0,459

❶ Seul écart entre les moyennes des deux groupes qui est significatif (au risque $\alpha=5\%$). Les autres ne le sont pas.

Pour le *tableau n°7*, même si l'insulinémie et la glycémie moyennes étaient plus basses dans le groupe qui avait la plus grande concentration en acétoacétate, cette différence n'était pas statistiquement significative.

L'insulinémie et la glycémie étaient d'ailleurs plus élevées dans le groupe qui avait une concentration forte en béta hydroxybutyrate (*tableau 8*), ce qui paraît indiquer que cétonémie et hypoglycémie + hypoinsulinémie ne sont pas forcément associées.

Dans cette étude, contrairement à ce que nous attendions, nous avons remarqué que les autres constituants sanguins semblaient peu influencés par la cétonémie.

Ensuite, nous avons étudié les corrélations entre les résultats biochimiques.

Etant face à un petit nombre d'observations et les distributions ne pouvant être déclarées normales, nous avons été amenés à effectuer des tests non paramétriques (calculs des coefficients de corrélation de rang de Spearman) afin de se rendre compte du degré de corrélation entre les différents paramètres mesurés (*tableau 9*).

Tableau 9: Coefficients de corrélation de rang de Spearman des différents paramètres biochimiques dosés:

	gly	insu	urée	ASAT	GGT	TG	cortisol	bhb	acéto	bhb +acéto
gly	∅									
Insu	0.379	∅								
urée	<u>0.528</u> ①	0.102	∅							
ASAT	0.061	0.137	0.267	∅						
GGT	-0.069	0.088	0.069	0.374	∅					
TG	0.324	-0.075	<u>0.623</u> ②	<u>0.597</u> ②	0.409	∅				
cortisol	0.321	0.151	<u>0.617</u> ②	<u>0.575</u> ②	0.261	<u>0.808</u> ③	∅			
bhb	0.177	-0.390	-0.091	0.225	0.121	0.262	-0.149	∅		
acéto	0.277	-0.256	-0.041	0.179	0.231	0.072	-0.185	<u>0.823</u> ③	∅	
bhb +acéto	0.235	-0.368	-0.050	0.247	0.176	0.320	-0.088	<u>0.995</u> ③	<u>0.834</u> ③	∅

Sont soulignées les corrélations significatives (les autres sont non significatives):

- ① au risque 10% Tout juste significatif
- ② au risque 5% Significatif
- ③ au risque inférieur à 1% Très significatif

(gly = glycémie, insu = insulïnémie, urée = urémie, ASAT = activité sanguine de l'Aspartate Amino-Transfêrase, GGT = activité sanguine de la Gamma Glutamyl Transfêrase, TG = triglycêridémie, bhb = concentration sanguine en bêta hydroxybutyrate, acéto = concentration sanguine en acétoacétate).

Les diagrammes de dispersion des paramètres biochimiques qui avaient une corrélation significative sont présentés en *annexe 8*.

Dans une étude de Kauppinen [59], les activités de l'ASAT et de la GGT ont dépendu des concentrations en acétoacétate de façon très significative ($p < 0,001$). Il en était de même entre l'activité de l'ASAT et la concentration en bêta hydroxybutyrate. Il semblerait que le foie soit endommagé lors de cétose et qu'il y ait alors libération d'ASAT.

Cependant, nous n'avons pas retrouvé ces corrélations avec notre expérimentation (*tableau 9*), même si la moyenne des activités de l'ASAT et de la GGT des vaches cétosiques (*annexe 7*) dépasse les valeurs usuelles comme il l'a été dit précédemment.

D'ailleurs Coulon et coll. [18] n'ont pas non plus observé d'augmentation de l'activité de la GGT lors d'exacerbation de la cétogenèse hépatique. Il semblerait que l'infiltration graisseuse du foie lors de cétose ne cause pas de pression intraluminale menant à une obstruction intrahépatique des canaux biliaires ; il n'y aurait donc ni cholestase, ni dégât des conduits biliaires : cela pourrait expliquer pourquoi il n'a pas été trouvé d'association significative entre l'activité de la GGT et la concentration en acétoacétate ou en bêta hydroxybutyrate [59]. De plus, on ne peut savoir si l'augmentation de l'activité de la GGT observée chez quelques vaches est due à une agression récente (elle pourrait alors avoir un rapport avec la cétose) ou plus ancienne. En effet, l'augmentation de cette activité peut persister jusque 2 mois après la disparition de l'agent inducteur [25].

Ces auteurs ont également remarqué comme lors de notre étude que d'autres paramètres : glucose et urée sont indépendants de la concentration en acétoacétate (l'auteur a utilisé le test du khi-deux d'indépendance). Nous avons observé les mêmes résultats en utilisant le test non paramétrique de Spearman.

Cependant, nous avons pu voir que l'urémie était plus basse dans le groupe d'animaux ayant une cétonémie plus élevée, même si cette différence n'était pas significative. L'écart était plus flagrant en ce qui concerne l'acétoacétate (*tableau 7*) que le béta hydroxybutyrate (*tableau 8*). Cela paraîtrait une nouvelle fois indiquer une certaine tendance vers l'insuffisance hépatique chez les vaches céto-siques.

Lorsque l'urémie est basse chez des animaux sans anomalie dans les autres dosages (cétonémie, glycémie surtout), cela signe un déficit en azote dégradable dans la ration et entraîne en général une diminution du TP du lait, une faible production (qui peuvent être tous deux confondus avec les premiers signes de cétose), de l'infertilité... : cela concerne la vache n°2 et la vache témoin. Il faudrait pour y remédier ajouter de l'urée, ou des tourteaux non protégés (directement dégradables par les microorganismes ruminants), ou de l'ensilage d'herbe, ou alors de la luzerne... [97]

Lorsque l'urémie basse est associée à une hypoglycémie, cela reflète une sous-alimentation globale (ration trop pauvre ou quantité ingérée trop faible) qui est probablement responsable de l'atteinte de l'état de cétose : c'est le cas pour les vaches 5, 7 et 8.

⇒ Il a été trouvé des corrélations positives entre urémie-glycémie, urémie-triglycéridémie et triglycéridémie-activité de l'ASAT :

La corrélation positive trouvée entre l'urémie et la glycémie pourrait être expliquée par le fait qu'une augmentation de la glycémie se fait le plus souvent aux dépens de la mobilisation des protéines corporelles chez une vache laitière en début de lactation.

En effet, comme nous l'avons déjà évoqué, les besoins énergétiques de ces animaux pendant cette période sont supérieurs à ce qui peut être apporté par l'alimentation. La vache compense donc ce déficit d'apport en dirigeant les protéines mobilisées vers la voie de la néoglucogenèse. Il est alors légitime de penser que l'augmentation de la glycémie qui s'en suit pourrait être associée à une élévation en parallèle de la valeur de l'urémie (provenant de la métabolisation hépatique de l'ammoniaque qui peut entre autre dériver de la dégradation des protéines corporelles).

En revanche, on n'observe pas paradoxalement dans notre étude, de corrélation entre la glycémie et la valeur de l'activité de l'ASAT, bien que les protéines corporelles mobilisées soient en grande majorité d'origine musculaire (habituellement, l'activité de l'ASAT augmente lors de lyse musculaire).

D'autre part, l'élévation de la glycémie provoque en temps normal un relargage d'insuline qui possède des propriétés de lipogenèse : stimulation du stockage de matière grasse et du relargage de lipoprotéines (les VLDL sont riches en triglycérides) par le foie. Ce mécanisme pourrait alors expliquer le fait que lorsque l'urémie et l'activité de l'ASAT augmentent, la triglycéridémie semble suivre la même évolution.

⇒ Il a également été découvert une corrélation positive urémie-cortisolémie : Cela serait dû au fait que le cortisol stimule la mobilisation des protéines corporelles pour la néoglucogenèse. Or, l'urée est le produit du catabolisme des acides aminés provenant entre autre des protéines mobilisées.

⇒ Nous pourrions expliquer la corrélation positive entre la cortisolémie et les valeurs de l'activité de l'ASAT par le fait que les protéines corporelles (en grande majorité musculaires) mobilisées sous l'action du cortisol vont subir la néoglucogenèse de façon intensive dans le foie en lui donnant un surplus de travail : ces deux organes étant très sollicités, ils relarguent certaines de leurs enzymes intracellulaires dont l'ASAT.

⇒ Quant à la corrélation positive très significative cortisolémie-triglycéridémie, elle apparaît paradoxale : en effet, le cortisol aurait un effet permissif sur la lipomobilisation vis-à-vis de l'effet hormono-sensible (action sur la lipase hormono-sensible) [47]. Ainsi, le cortisol stimulerait la libération des AGNE à partir du tissu adipeux, et donc il favoriserait la stéatose hépatique. Or, lors de stéatose hépatique sévère, la capacité d'excrétion des triglycérides sous forme de VLDL par le foie est fortement diminuée. Nous devrions donc observer une diminution de la concentration en triglycérides plasmatiques, mais uniquement après épuisement des réserves adipeuses [4]. Au vu de cette spéculation, on s'attendait alors à obtenir une corrélation significative, mais négative. Nous pouvons en partie expliquer ce résultat parce que nous étions face à des animaux qui possédaient certainement encore des réserves adipeuses.

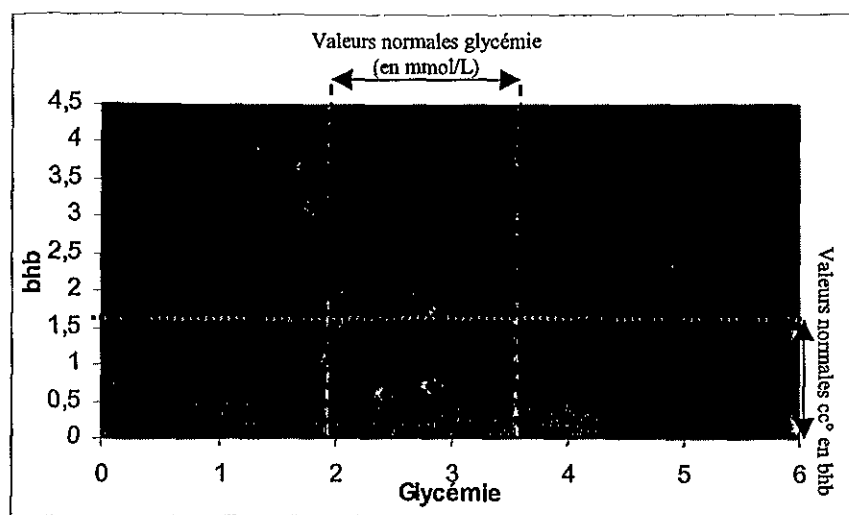
De même, Vagneur [96] déclare que les états hypoglycémiques sont corrélés en général avec des taux bas en triglycérides plasmatiques. Même si nous avons trouvé une corrélation positive entre la glycémie et la triglycéridémie (*tableau 9*), elle était par contre non significative. Nous avons en effet trouvé des triglycéridémies normales (bien que situées dans les valeurs basses) chez des animaux en hypoglycémie franche (vaches 3 et 7).

Nous pourrions à nouveau expliquer que l'on n'observe peu ou pas de diminution de la triglycéridémie (moyenne de 0,157 chez les vaches en cétose) par le fait que nous soyons intervenus chez des animaux qui possédaient encore quelques réserves corporelles et dont la stéatose hépatique n'était que débutante.

⇒ Ensuite, une corrélation très significative entre la concentration en bêta hydroxybutyrate et celle en acétoacétate a été logiquement remarquée. Elle est d'ailleurs déjà visible à la seule vue de la répartition des points sur le graphique de l'*annexe 8*. De nombreux travaux l'admettent et la confirment largement [23].

Elle n'est pas surprenante car le bêta hydroxybutyrate est obtenu par une réaction de réduction de l'acétoacétate produit, comme il l'a été précisé en première partie (*figure 7*).

⇒ Contrairement aux études de beaucoup d'auteurs dont Coulon et coll. [18], nous n'avons par contre remarqué aucune corrélation significative entre les valeurs de la glycémie et de la cétonémie. Sur le graphique de la *figure 12*, nous observons en effet des vaches ayant des valeurs élevées en bêta hydroxybutyrate (corps cétonique principal en quantité [18]), mais qui sont en normo- voire hyperglycémie.



bhb = bêta hydroxybutyrate.
cc° = concentration.

Figure 12 : Représentation graphique des valeurs de la glycémie (en mmol/L) en fonction de la concentration en bêta hydroxybutyrate (en $\mu\text{mol/mL}$) chez les vaches cétosiques prélevées :

Nous sommes donc en droit de déclarer qu'un état de cétose n'est pas forcément caractérisé par un état hypoglycémique. D'ailleurs, certains auteurs [59] s'accordent à dire que la valeur de la glycémie est peu diminuée, voire fréquemment située dans les normes lors de « syndrome de la vache grasse ».

Il est généralement déclaré que l'insulinémie est nulle lorsque la glycémie chute en dessous de 30 mg/dL (1,65 mmol/L) [25]. Cependant, dans une étude, Hamada et coll. [41] ont remarqué que sur des vaches spontanément cétosiques et en hypoglycémie franche (avec une moyenne de 30 mg/dL), l'insulinémie restait dans la majorité des cas à des taux relativement normaux (moyenne de 16 $\mu\text{U/mL}$). Cette étude s'avère être en opposition avec celle de Hove [52] qui trouvait des insulinémies diminuées chez les vaches cétosiques.

Nous avons pour notre part remarqué que certaines vaches cétosiques qui étaient en hypoglycémie (5, 7 et 8) avaient une insulinémie fortement diminuée (moyenne de 4 $\mu\text{U/mL}$), mais les animaux aux alentours ou en dessous du seuil de 1,65 mmol/L de glycémie ne possédaient pas tous une insulinémie quasi-nulle : si V5 avait effectivement une insulinémie proche de zéro, V3 affichait une insulinémie de 11 $\mu\text{U/mL}$ alors que sa glycémie était inférieure.

Par contre, nous avons constaté chez les vaches cétosiques prélevées que, même si elles se trouvaient en normoglycémie (vaches 1, 6, 9 et 10), elles avaient tout de même pour la plupart une insulinémie basse quoique dans les valeurs usuelles (moyenne de 11,25 $\mu\text{U/mL}$), exception faite de la vache 6 qui avait une concentration plus élevée. De même, la vache témoin (vache 13) a également une insulinémie basse à la limite inférieure des valeurs usuelles (7 $\mu\text{U/mL}$) avec une glycémie normale, mais sans cétonémie. En fait, cela pourrait être une baisse physiologique puisque en général, l'insulinémie est faible chez les vaches laitières hautes productrices en début de lactation et il existe de plus à ce moment-là une relative insulino-résistance [45].

Dans la première partie de cet ouvrage, nous avons déclaré que l'hypoglycémie provoquait fréquemment une élévation du taux de la cortisolémie.

Nous avons trouvé une corrélation positive entre cortisolémie et glycémie, mais elle s'est montrée non significative (*tableau 9*). La moyenne de la cortisolémie chez les vaches hypoglycémiques (3, 5, 7 et 8) est de 19,5 nmol/L, soit dans les valeurs hautes de la normale. Nous n'avons donc pas mis en évidence une hausse significative de la cortisolémie suite à l'hypoglycémie.

Par contre, il a été dit qu'une augmentation de la cortisolémie pouvait être rencontrée chez des animaux atteints de douleurs sévères ou d'infections aiguës [7]: cela pourrait expliquer les valeurs élevées obtenues chez les vaches 1 (déplacement de caillette à gauche), 6 (boiterie sévère suite à un décollement de la corne en talon), 7 (déplacement de caillette à gauche) et 12 (traumatisme). L'élévation de cortisolémie de la vache 9 n'a par contre pas trouvé d'explication plausible.

Enfin, il n'a pas non plus été trouvé de corrélation entre une cortisolémie élevée et une déplétion en globules blancs : aucun animal ne se trouvait en leucopénie.

2. Discussion générale

a) Les tests de détection

Nous déclarions ci-dessus que trois bovins avaient été exclus de notre étude car nous n'avions pas détecté de cétonurie. Ils avaient été prélevés car ils étaient en proche post-partum avec un amaigrissement important. Notre but était de savoir si un animal suspect, mais pour lequel la bandelette urinaire ne détectait pas de corps cétoniques, pouvait tout de même être en cétonémie. Il s'est révélé que non : leurs concentrations plasmatiques en corps cétoniques étaient dans les limites de la normale.

Cela semble en accord avec les dires de certains auteurs comme Bouisset [9] qui estime que lors de résultat négatif à la bandelette urinaire, il n'y a pas lieu de confirmer par la réalisation d'un autre test. Il peut cependant exister des faux négatifs lors de multiplication bactérienne [9].

Nous avons en premier lieu pu mettre en évidence le manque de spécificité de la détection de cétonurie (c'est-à-dire qu'il existe beaucoup de faux-positifs) avec la bandelette urinaire déjà souligné auparavant par certains auteurs [23 ; 99]: deux animaux (V2 et V4) avec trois croix de corps cétoniques à la bandelette urinaire avaient une cétonémie normale (*annexe 7*). Il pourrait y avoir eu des interférences avec d'autres composés urinaires dans ces cas là. Néanmoins, il semblerait que le seuil rénal pour les corps cétoniques soit bas et que la cétonurie précède en général une élévation détectable de la cétonémie [25]. La vache 2 qui a très bien répondu à l'injection parentérale de glucose et de corticoïdes pourrait alors avoir été à un stade très précoce de cétose puisque ce seul traitement (poursuivi par l'administration per os de propylène glycol) a suffi à obtenir son rétablissement dès le lendemain : reprise de l'appétit, retour progressif à une production laitière quasi-normale.

Comme il l'a été indiqué en première partie, il est possible de diluer les urines afin d'éviter les faux positifs en ce qui concerne la cétonurie sur les bandelettes urinaires [25 ; 63].

D'autres remarques peuvent être faites, notamment le fait que nous ayons employé le test au nitroprussiate sur le lait Vétotest Cétonose® 2 fois (sur V9 et V10) en parallèle à la bandelette urinaire et que, à chaque fois, il se soit montré négatif alors que la bandelette urinaire révélait quatre croix de corps cétoniques et que les dosages de corps cétoniques sériques révélèrent une cétonémie clinique : valeurs confondues d'acétoacétate et bêta hydroxybutyrate de 2,4 et 1,966 $\mu\text{mol/mL}$ respectivement, alors que théoriquement le test au nitroprussiate peut détecter des corps cétoniques dans le lait à partir d'une concentration sanguine en corps cétoniques de 1 à 1,5 mmol/L [23].

Nous avons émis plusieurs explications possibles à ces échecs de détection :

- Les tests auraient pu être mal conservés.
- Pour le cas de la suspicion du « syndrome vache grasse » (vache 9) : il pourrait y avoir eu une émission de corps cétoniques dans les urines plus précoce que celle dans le lait.
- Le test sur l'urine pourrait être plus sensible que celui sur le lait. Pourtant, le test au nitroprussiate sur le lait présente selon une étude de Nielen et coll. rapportée par Duffield [23] une sensibilité de 90% et une spécificité de 96% à des concentrations sériques en bêta hydroxybutyrate de 1,4 $\mu\text{mol/mL}$. Mais cette étude est en contradiction avec celle d'une équipe canadienne toujours rapportée par Duffield [23] selon laquelle ce type de test ne possède une sensibilité de seulement 38% à 1,2 $\mu\text{mol/mL}$, avec une spécificité élevée (99%).
L'hypothèse d'une plus grande sensibilité du test sur les urines pourrait se trouver étayée par les déclarations de Herdt et Gerloff [48] qui soutiennent que la différence de concentration en corps cétoniques entre l'urine et le lait fait que le test sur l'urine est plus sensible que celui sur le lait ; ainsi que par celles de Kaneko [58] qui avance que les corps cétoniques ont un seuil d'excrétion rénale très bas : de ce fait, leur apparition dans l'urine est un signe précoce et significatif de cétonémie.
- Ce problème de détection pourrait également s'expliquer par les propriétés intrinsèques du test au nitroprussiate qui font qu'il ne détecte que l'acétoacétate dont l'excrétion est moins stable que celle du bêta hydroxybutyrate dans le lait [17].

De même, nous avons remarqué qu'il n'existait pas de corrélation entre le nombre de croix de corps cétoniques sur la bandelette urinaire et la concentration sérique en corps cétoniques (annexe 7): par exemple, la vache 3 qui a le taux de corps cétoniques sériques le plus élevé (4,993 $\mu\text{mol/mL}$ d'acétoacétate + bêta hydroxybutyrate) n'a que trois croix de corps cétoniques à la bandelette urinaire, alors que la vache 10 qui présente 4 croix de corps cétoniques dans ces urines a une cétonémie beaucoup plus basse (1,966 $\mu\text{mol/mL}$ d'acétoacétate + bêta hydroxybutyrate). En réalité, un problème d'interprétation lié à la subjectivité de la lecture se pose avec l'échelle colorimétrique de la plage corps cétoniques de la bandelette.

b) Principaux profils épidémiocliniques et biologiques observés

A travers notre étude, nous avons été en mesure de distinguer trois types principaux de profils épidémiocliniques et biologiques :

- La cétose hypoglycémique de type 1.
- La cétose normo- ou hyperglycémique de type 2
- Et la cétose secondaire à une maladie préexistante.

➤ La cétose de type 1:

Les vaches 3, 5, 7, 8 et 11 semblent bien illustrer ce type de cétose qui se caractérise par une hypoglycémie, une hypoinsulinémie (cétose insulino-dépendante), avec la plupart du temps une importante concentration en corps cétoniques, une grande activité de la carnitine acyl transférase 1 (cétonogénèse exacerbée) et en général avec peu de stéatose hépatique (les deux derniers points n'ont pas été étudiés dans notre expérimentation). Ce modèle de cétose touche les vaches laitières hautes productrices qui sont principalement entre la 3^{ème} et la 6^{ème} semaine de lactation (c'est-à-dire au pic de lactation). Elle fait suite à un différentiel trop important entre les besoins de la vache et les apports par l'alimentation. Les mesures de glycémie et d'urémie qui se trouvent à des niveaux bas chez les vaches 5, 7, 8 et 11 prouvent d'ailleurs qu'elles se trouvent toutes les quatre en sous-nutrition énergétique et azotée.

On remarque également que les animaux développant une cétose primaire (V3 et V8) ont des taux en corps cétoniques plus élevés que ceux qui déclarent une cétose secondairement à une autre pathologie (V5, V7 et V11).

➤ La cétose de type 2 :

La vache 12 est pour nous en cétose de type 2 puisqu'elle était en hyper-cétonémie avec hyperglycémie à 4,95 mmol/L (0,9 g/L), normo-insulinémie et qu'elle était obèse au vêlage. De plus, le traumatisme qu'elle a subi pourrait être à l'origine d'un stress déclencheur de la cétose.

Le résultat de cette vache 12 nous permettrait donc de prouver dans une certaine mesure qu'il peut exister des vaches en cétose avec normo- ou hyperglycémie, normo- ou hyperinsulinémie (insulino-résistance), des concentrations en corps cétoniques plus basses que dans le type 1, de fortes concentrations en AGNE (non mesurés ici), une faible activité de la carnitine acyl transférase 1 (cétonémie peu élevée) et une stéatose hépatique sévère.

Elle concerne particulièrement les vaches à état d'embonpoint excessif, c'est-à-dire les vaches qui engraisseront en fin de lactation et/ou durant le tarissement et qui ont souvent une durée de tarissement augmentée. Si elles subissent alors un stress important lors du démarrage de la lactation (15 premiers jours), elles ont toutes les chances de développer ce type de cétose.

La vache 12 a été euthanasiée suite à un échec thérapeutique. L'autopsie complète n'a pu être réalisée pour des contraintes d'ordre technique. Néanmoins, il a pu être réalisé un prélèvement histologique du foie de la vache 12 avec coloration à l'hémalum-éosine afin de prouver l'existence d'une stéatose hépatique avancée. Ce bovin était en effet fortement suspecté d'être atteint d'un « syndrome de la vache grasse » : vache très forte laitière en très bon état corporel (NEC = 4) lors de la mise bas suite à une période de tarissement de 4 mois, ayant

perdu beaucoup de poids depuis le vêlage il y a 8 jours environ, et avec quatre croix de corps cétoniques à la bandelette urinaire. Cet animal a été finalement euthanasié après une semaine de décubitus permanent au vu des résultats de l'activité sérique de ses enzymes CPK (Créatine PhosphoKinase) qui demeuraient très élevées après 4 jours de décubitus, et au vu des lésions (plaies, hématomes...) apparues suites aux efforts infructueux de relever de cet animal. Du point de vue macroscopique, le foie apparaissait de taille supérieure à la normale, avec des bords mousses et une tranche de section couleur jaune ocre. Au toucher, il s'avérait être extrêmement friable. Le test de flottation dans un récipient rempli d'eau n'a pas été réalisé car le morceau prélevé a été aussitôt mis dans un flacon de formol pour le fixer.

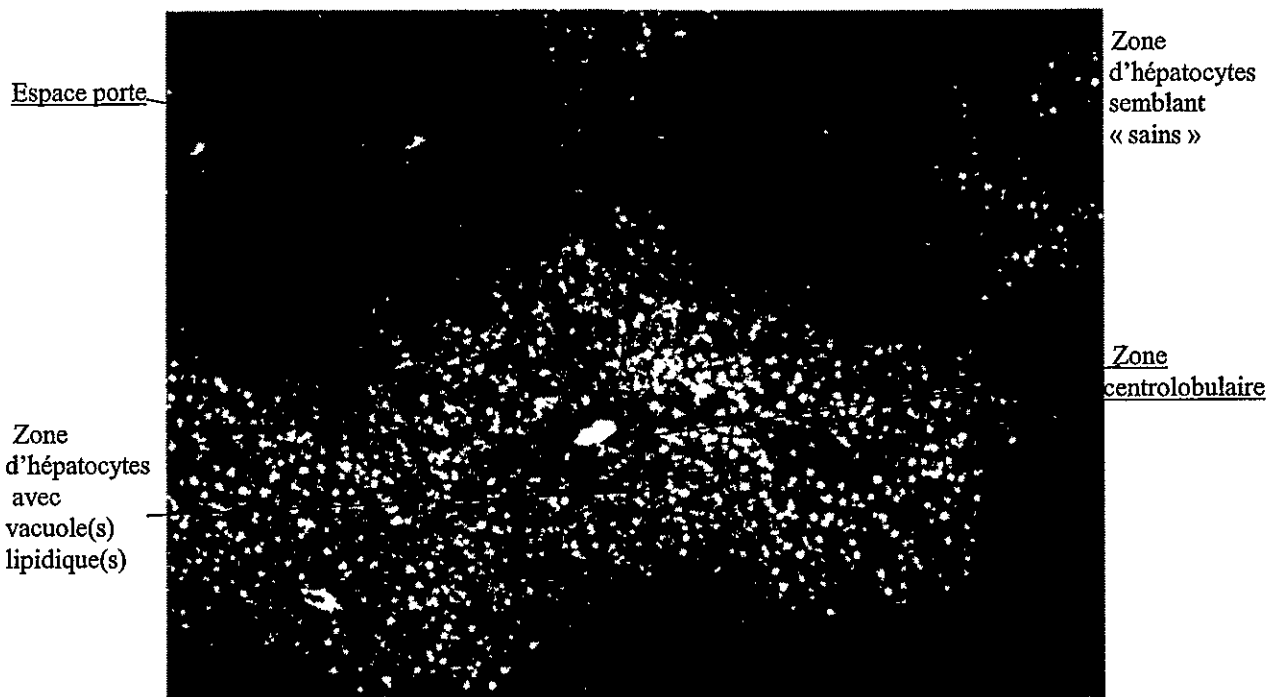


Photo 1 : Image au microscope optique grossissement 4*10 d'une coupe de foie de la vache 12 colorée à l'hémalun-éosine : dégénérescence grasseuse centrolobulaire.

Sur l'image microscopique du foie au plus faible grossissement (*photo 1*), on remarque la présence de vacuoles transparentes dans les hépatocytes (l'hémalun-éosine ne colore pas les vacuoles lipidiques qui apparaissent alors comme des globules vides). Les hépatocytes touchés sont surtout en position centrolobulaire sur cette image, les hépatocytes de l'espace intermédiaire étant peu touchés et ceux de l'espace porte semblant épargnés, ce qui signifierait à première vue une stéatose hépatique modérée. En revanche, sur une autre lame, nous avons observé la présence de nombreuses macrovacuoles dans les hépatocytes de la zone centrolobulaire et de multiples microvacuoles dans ceux de la zone intermédiaire et même périportale, témoins d'une stéatose hépatique beaucoup plus sévère, ce qui semble en accord avec notre hypothèse de départ.

Au plus fort grossissement de la même zone centrolobulaire (*photo 2*), nous nous rendons compte que les hépatocytes sont remplis de micro- et macrovacuoles qui repoussent le noyau en périphérie.

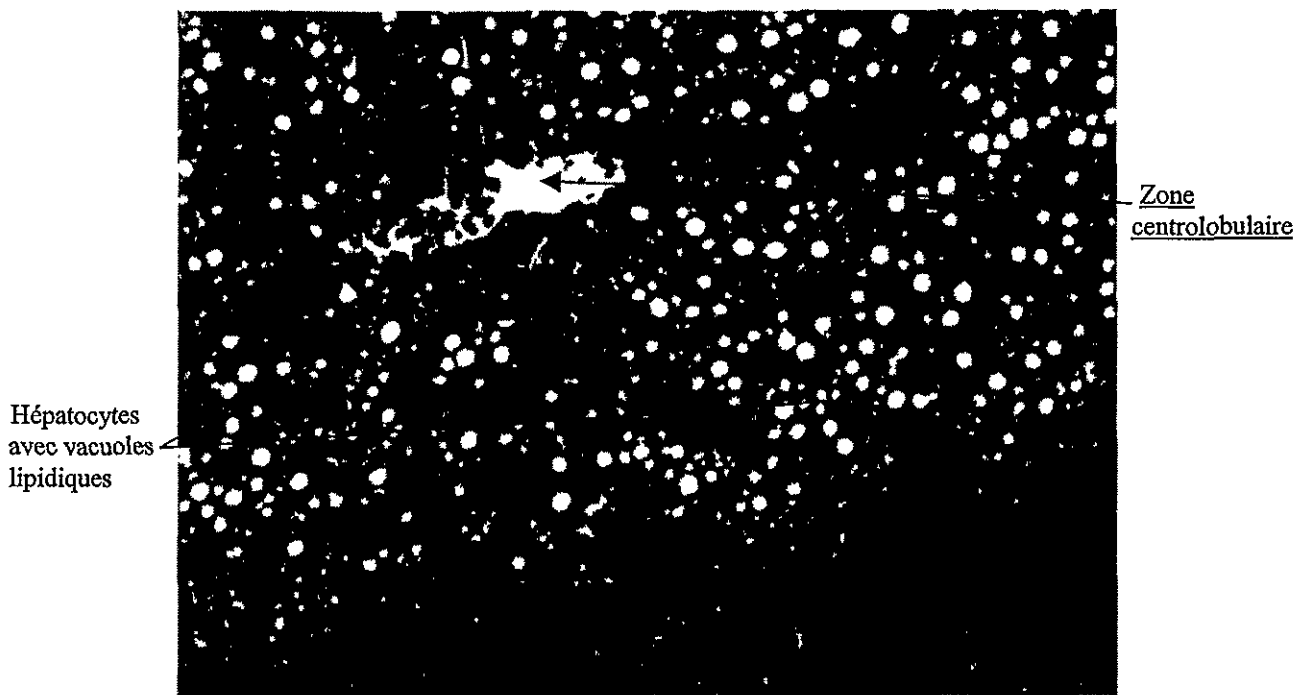


Photo 2 : Image au microscope optique grossissement 10*10 d'une coupe de foie de la vache 12 colorée à l'hémalun-éosine : zone centrolobulaire.

Si l'on recherche d'autres animaux susceptibles de souffrir de cétose de type 2 dans notre étude, on remarque que la vache 9 pourrait également dans une moindre mesure montrer que l'on peut trouver des animaux cétosiques avec normoglycémie et une insulïnémie tout à fait normale quoique basse. Mais cette insulïnémie peu élevée pourrait être normale en début de lactation [45]. La preuve peut-être apportée par la vache témoin qui est en dans à la limite inférieure des valeurs usuelles avec une glycémie et une cétonémie qui sont tout à fait dans les normes.

Il semblerait selon Aubadie-Ladrix [5] et Vagneur [97] que, dans de rares cas et quand la cétose clinique évolue depuis plusieurs jours, il puisse y avoir une remontée de la glycémie qui pourrait être due à l'effet adrénalinique du stress chez des animaux choqués ayant perdu la totalité de leur production [97]. Mais cela n'était pas le cas ni pour la vache n°12 qui avait une production conservée jusqu'au jour du décubitus, ni pour la vache n°9 qui avait une chute brutale mais non complète de la production laitière uniquement depuis 24h.

L'explication la plus plausible quant à l'hyperglycémie et la normo-insulïnémie associée chez la vache 12 serait celle déjà évoquée dans la première partie [99] : l'existence d'une insulino-résistance : les cellules ne pouvant plus « absorber » le glucose présent dans le sang (par manque, diminution de sensibilité ou incapacité de ses récepteurs à l'insuline) se retrouvent alors en manque de carburant glucosé ; le cycle de Krebs est donc dans l'impossibilité de « tourner » (manque d'oxaloacétate accepteur d'acétyl Coa) et les AGNE sont alors orientés vers la voie des corps cétoniques pour économiser l'énergie. L'animal est donc en hyper-cétonémie, mais sa glycémie est normale voire augmentée, avec une insulïnémie normale à augmentée. Mais nous ne pouvons conclure définitivement à une insulino-résistance dans ce cas puisque la mesure du taux d'acides gras libres sanguin n'a pas été réalisée [48].

Nous pourrions en effet également nous poser la question de savoir si l'hyperglycémie marquée rencontrée chez la vache 12 ne pourrait pas être due à un état d'acidose en cours d'évolution (glycémie haute et urée normale). En effet, une vache laitière haute productrice au démarrage de sa lactation consomme des rations très riches en concentrés qui ont une faible aptitude à favoriser la rumination puisque pauvres en fibres, d'où une production insuffisante de salive riche en éléments tampons comme le bicarbonate de sodium qui permet de limiter la diminution du pH ruminal sous l'effet des acides gras volatils (AGV) [28].

Cet état peut entraîner secondairement [11 ; 31 ; 98]:

- Une diminution de la consommation volontaire provoquée par l'irritation du rumen (ruminite) due à un excès d'acide lactique (pH faible du rumen)
- Une diminution de la digestibilité de la cellulose (par mort des bactéries cellulolytiques suite au pH faible) avec pour conséquence une réduction de la production d'acide propionique, principal composé de la ration permettant la formation de glucose dans le foie (néoglucogenèse): d'où une moindre efficacité de la ration
- Et une diminution de la capacité d'absorption des AGV par la muqueuse ruminale

L'acidose initiale est alors susceptible de se compliquer en abcès hépatique, entérotoxémie ou fourbure, et quelquefois en cétose secondaire à une sous-alimentation, surtout si elle survient à un moment où l'animal a du mal à combler ses besoins par le seul apport alimentaire. Il s'ajoute fréquemment le fait que les régimes alimentaires avec excès de glucides favorisent la production d'AGV cétoènes (acide butyrique) [11].

Mais dans le cas de la vache 12, le propriétaire n'a pas remarqué de diminution de la consommation volontaire franche, ni de diminution de production avant le décubitus soudain survenu le 8^{ème} jour après la mise-bas. D'autre part, les autres animaux ne présentaient pas de signe d'acidose visible (bouses normales, production laitière normale, pas de boiterie...).

La mesure de l'activité de la Créatine Phosphokinase (CPK à 15 000 UI/L) de l'animal nous a permis de déduire qu'il existait très probablement une lésion musculaire.

Mais dans ce cas-ci, il serait légitime de se poser la question de savoir si c'est le « syndrome de la vache grasse » qui pourrait être à l'origine du décubitus, où si le traumatisme aurait pu engendrer un stress suffisant pour exacerber la sensibilité de l'organisme aux hormones lipolytiques et provoquer secondairement un « syndrome de la vache grasse » avec une sérieuse stéatose hépatique et une cétoène importante ?

➤ **Les cétoènes secondaires avec normoglycémie et « normo-insulinémie » :**

Enfin, le troisième type de profil serait constitué par des animaux en cétoène secondaire comme les vaches n°1 (pathologie associée : déplacement de caillette à gauche), 6 (boiterie suite à un décollement de la corne en talon) et 10 (dilatation-torsion de la caillette à droite), mais possédant des insulinémies et des glycémies dans les limites de la normale. C'est pourquoi elles sont différenciées des vaches 5, 7 et 11 qui étaient également soupçonnées de développer une cétoène secondaire, mais avec une hypoglycémie et une hypoinsulinémie.

Les vaches 1, 6 et 10 sont tout de même en hyper-cétoène, mais avec des concentrations en corps cétoniques peu élevées. En effet, elles se situent juste au-dessus de la cétoène subclinique : entre 1,626 et 1,997 mmol/L.

Différentes hypothèses pourraient être émises concernant ces vaches :

- L'animal pourrait avoir été en début de cétose de type 1 : la glycémie commence à chuter, mais reste tout de même dans les normes (valeurs basses). Cela l'aurait affaibli et aurait pu entraîner secondairement la pathologie pour laquelle le vétérinaire a été appelé à l'origine. Par exemple pour les vaches 6 et 10 : l'état de cétose aurait pu engendrer une perturbation de l'équilibre de l'organisme, ce qui aurait pu participer à la torsion de la caillette sur elle-même ou à son déplacement.
- La vache aurait pu avoir un épisode de cétose de type 1 qui serait passé inaperçu et le métabolisme de l'animal pourrait être en cours de régularisation au moment où le vétérinaire est appelé et découvre fortuitement une cétonurie. Cela aurait pu être le cas de la vache n°6 qui se trouve à 46 jours post-partum, soit peu après le moment où la capacité d'ingestion de la vache est à son maximum : donc au moment où elle est en mesure de combler tous ses besoins grâce à son alimentation sans « pomper » dans ses réserves corporelles.
- Une pathologie initiale (exemple : déplacement de caillette, douleur podale...) pourrait avoir perturbé l'animal et avoir alors diminué son appétit. Cela aurait provoqué la rupture d'un équilibre énergétique déjà précaire entre ce qui peut être apporté par l'alimentation et la mobilisation raisonnable des réserves corporelles, et ses besoins de production et d'entretien. D'ailleurs Enjalbert [27] déclare que le risque de cétose secondaire est multiplié par 23,6 après une parésie post-partum, et par 16 après une rétention placentaire. Suite à la chute de l'appétit, la glycémie aurait alors diminué tout en restant cependant dans les limites de la normale, ce qui aurait provoqué une chute de l'insulinémie et une mobilisation du tissu adipeux. Cette cascade aurait alors suffi pour passer du stade de cétose subclinique (fréquent en post-partum chez les vaches laitières hautes productrices) à un stade de cétose clinique avec une cétonurie largement détectable (trois croix ou plus de corps cétoniques). Cette dernière hypothèse semble la plus probable et est la plus largement admise en général. La seule chose qui serait alors difficile à expliquer serait l'insulinémie de la vache n°6 qui est parfaitement normale (17 $\mu\text{U}/\text{mL}$), malgré une glycémie basse pour une vache qui a passé le pic de lactation. Il serait alors légitime d'envisager les hypothèses soit d'un mécanisme non insulino-dépendant, soit à nouveau d'une certaine insulino-résistance.

Il est nécessaire de préciser cependant que la relation entre cétose et déplacement de caillette n'est pas encore bien définie. En fait, on ne sait pas si c'est la cétose qui peut être responsable du déplacement ou si c'est le déplacement de caillette qui entraîne secondairement une cétose ou si les deux sont possibles. La dernière déclaration est celle qui est partagée par le plus grand nombre d'auteurs actuellement [23 ; 35].

En effet, il est parfaitement reconnu qu'une vache qui n'est pas en hyper-cétonémie lors du déplacement de caillette présente un fort risque de développer une cétose suite à une chute de l'ingestion. Par contre, il a également été trouvé chez des vaches en début de lactation (première et deuxième semaine suivant le part) des valeurs élevées en bêta hydroxybutyrate

(cétoses cliniques, mais également subcliniques) entre 1 et 3 semaines avant le déclenchement d'un déplacement de caillette à gauche [35].

Le mécanisme impliqué dans ces cas est mal élucidé et contrairement à ce que l'on a pensé au départ, le béta hydroxybutyrate ne semble pas altérer la motilité de la caillette [35].

Pour conclure ce paragraphe, la découverte de différents profils de cétose nous pousse à envisager, non pas une thérapie globale des états cétoïques, mais un traitement adapté au type de cétose dont l'animal est atteint, pourvu qu'il soit possible de définir de quel type l'animal souffre.

c) Difficultés rencontrées lors de l'expérimentation

Lors du déroulement de notre expérimentation, nous avons rencontré quelques obstacles que nous allons exposer ici tout en proposant des solutions afin de les éviter.

➤ Failles décelées dans la méthode employée :

▪ Pertinence du recrutement des animaux et durée de l'expérience :

Cette dernière s'est avérée inadaptée aux réalités du terrain. En effet, bien que la cétose soit une maladie fréquente du post-partum, les éleveurs sont très sensibilisés à ce risque et connaissent en général les principaux éléments de prévention et de traitement. Ainsi, le vétérinaire n'est que très rarement appelé pour les cas où le diagnostic et le traitement ne posent aucun problème. Nous avons donc rencontré moins de cas de cétose que prévu dans l'intervalle de temps que nous avons défini. Il aurait donc fallu étendre la durée de l'étude, voire proposer aux éleveurs une visite gratuite lorsqu'ils suspectaient un cas de cétose afin d'obtenir un plus grand nombre de cas et surtout un échantillon plus représentatif des réalités du terrain.

▪ Choix des paramètres et des méthodes :

Le choix du dosage de la bilirubinémie n'a pas été fort judicieux vu la grande sensibilité de la bilirubine aux ultraviolets et vu que la plus petite valeur de bilirubinémie détectable par le Réflotron® correspond à la limite haute des valeurs usuelles chez les bovins.

De plus, nous avons trouvé quelques valeurs élevées d'activité de l'ASAT sérique (vaches 7, 9 et 12). La valeur obtenue chez la vache 12 est surtout expliquée par la présence de lésions musculaires (valeur élevée de l'activité de la CPK). Pour les autres vaches, attendu que nous n'avons pas mesuré l'activité de la CPK, nous ne sommes pas en mesure de déclarer si cette augmentation peut être associée à une lésion hépatique puisque nous ne pouvons écarter l'hypothèse d'une lésion musculaire faussant l'interprétation, même si l'élévation de la valeur de l'activité de la GGT concomitante à celle de l'activité de l'ASAT chez la vache 7 nous permet de suspecter fortement des dommages hépatiques. Il aurait donc été judicieux d'associer à la valeur de l'activité de l'ASAT, la valeur de l'activité de la CPK chez ces animaux.

Il existe également d'autres paramètres auxquels nous aurions pu nous intéresser. Par exemple la concentration en haptoglobine sanguine qui est un marqueur positif de l'inflammation. Elle pourrait être un bon indicateur de la stéatose en début de lactation si on la corrélait à la

clinique [5 ; 77]. Sa mesure entre 5 et 15 jours après le vêlage sur 5 animaux permettrait d'ailleurs l'évaluation de l'état de stéatose hépatique au sein de l'élevage [32].

Toutefois, il faut savoir que les paramètres plasmatiques mesurés lors de pathologies métaboliques hépatiques sont très difficiles à interpréter.

Il est important d'insister sur le fait que la variation des facteurs clefs en ce qui concerne la cétose (AGNE, glycémie et corps cétoniques) ne peut être utilisée dans un but pronostic.

Ces paramètres sont uniquement des indicateurs du statut nutritionnel de l'organisme à un moment donné [56].

En dernier lieu, il n'existe pas de dosage biochimique sanguin capable d'être assez fiable dans la détection d'une stéatose hépatique. Ainsi, la ponction hépatique afin de déterminer le degré d'envahissement lipidique est la seule méthode sûre envisageable [4 ; 5 ; 56].

Elle constitue d'ailleurs le moyen de diagnostic le plus approprié du « syndrome de la vache grasse » [38 ; 44]. Elle s'avère très peu utilisée actuellement à cause de la réticence de la plupart des éleveurs. Pourtant, elle peut être faite de manière très rapide et sans risque a priori pour l'animal [11]. Cependant, il est à noter que lors de l'étude de Mills et coll. [65] sur des vaches cétoniques, une vache est décédée des suites d'une hémorragie après une biopsie hépatique.

Plus récemment, plusieurs auteurs ont montré que l'emploi de l'échographie était en mesure de permettre l'évaluation de la surcharge graisseuse du foie par l'intermédiaire d'un ordinateur doté d'un logiciel spécifiquement conçu dans ce but [11].

Quant à l'endoscopie, elle n'est jamais réalisée en routine, mais elle permettrait dans le cadre d'une expérimentation d'observer lors de stéatose hépatique un foie jaunâtre, mou voire friable, et une vésicule biliaire volumineuse [32].

➤ **Problèmes rencontrés sur le terrain :**

▪ Manque de matériel spécialisé sur place et problème de rigueur dans le traitement des analyses :

Il n'a pas été aisé de déterminer dans un premier temps si la cétose était primaire ou secondaire puisque les mesures n'étaient pas réalisées immédiatement. En effet, excepté la numération formule, les sérums étaient congelés afin de doser tous les prélèvements en même temps pour limiter les biais de mesure. Le traitement était donc souvent symptomatique car la mesure de la glycémie au chevet de l'animal n'était pas possible.

D'autre part, le mélange du sang à l'acide perchlorique devait être réalisé au chevet de l'animal. Il n'était pas aisé dans de telles conditions de prélever un volume exact de sang (à la seringue à insuline) alors que ce volume influence directement les résultats ultérieurs de cétonémie. Il aurait alors fallu se doter d'une micropipette réglée pour prélever exactement le volume demandé. Mais de tels instruments présentent les inconvénients d'être onéreux et fragiles (ils supportent difficilement des transports répétés).

Nous avons également été plusieurs fois pris par le temps en ce qui concerne les délais d'acheminement des prises de sang au cabinet afin de les centrifuger (moins de 4h pour le tube n°2). Certaines valeurs seraient donc susceptibles d'être faussées suite à l'action de facteurs de variation pré-analytiques des paramètres plasmatiques [92] : par exemple, lors d'hémolyse ou lorsqu'il y a un contact prolongé du plasma avec les globules (le glucose est consommé par les hématies) et des écarts de température durant le transport.

Il aurait fallu une centrifugeuse portative en permanence dans la voiture pour réaliser la centrifugation sur place et une glacière contenant des blocs réfrigérés afin de minimiser au maximum les biais dus à ces délais qui ont pu être variables d'une vache à l'autre dans le

cadre de notre étude. Nous avons de même éprouvé des difficultés quant à la réalisation de la numération formule dans les 24h : c'était le cas par exemple des prélèvements réalisés le samedi après-midi avec fermeture du laboratoire jusqu'au lundi matin.

▪ Difficultés de récolte de données objectives auprès des éleveurs :

Pour les commémoratifs et l'anamnèse, ainsi que pour le rationnement, nous nous sommes fondés uniquement sur les dires des éleveurs. Ces renseignements étaient donc à prendre au conditionnel puisqu'ils étaient fortement liés à l'interprétation de l'exploitant et ne reflétaient pas toujours exactement la réalité. D'ailleurs, il a été très difficile voire impossible dans quelques cas de définir avec précision la ration des vaches tarées et des vaches en lactation pour des raisons diverses : doses non mesurées précisément, composés variables d'un mois sur l'autre, refus non quantifiés, sortie d'une période de sécheresse où l'on donne beaucoup de paille additionnée de mélasse par manque de foin ou d'ensilage... Ces difficultés expliquent le fait que nous ayons renoncé ici à étudier le facteur alimentation sur l'apparition des cétozes. Il nous a également été difficile d'observer l'ensemble des animaux afin de se rendre compte de l'état d'entretien global du troupeau : NEC, aspect des poils et des bouses, comportement alimentaire... Ceci, soit parce que seul l'animal atteint était rentré à l'écurie, les autres étant au pré, soit par manque de temps puisque les prélèvements étaient réalisés dans le cadre d'un ensemble de visites réalisées avec un vétérinaire.

De plus, les éleveurs n'étaient pas toujours adhérents au contrôle laitier : il n'a donc pas été possible à chaque fois de relever le taux protéique (TP) et le taux butyreux (TB) du lait individuellement pour tous les animaux prélevés. Quelquefois même, l'animal avait déclaré sa cétoze avant que le contrôleur laitier ne soit passé, nous ne disposions alors pas de mesure de TP ni de TB pour cette lactation.

En dernier lieu, il aurait fallu élargir les enregistrements épidémiocliniques en imposant la récolte des données exactes de l'alimentation, des performances de lactation et de reproduction... Il aurait de même été judicieux de prendre rendez-vous avec l'éleveur afin de prévoir une visite ultérieure, même si ceux-ci n'étaient pas toujours enclins à répondre aux diverses questions posées.

En ce qui concerne les perspectives, il faudrait parvenir à reproduire expérimentalement une cétoze normo- ou hyperglycémique pour pouvoir étudier convenablement la possible existence de ce type de cétoze.

Pour le faire, nous pourrions par exemple envisager l'utilisation d'inhibiteurs de l'action de l'insuline qui est une hormone antilipolytique.

Il paraîtrait également intéressant de s'attacher à l'étude du métabolisme in vitro du tissu adipeux d'animaux soupçonnés d'être atteints par ce type de cétoze. Nous pourrions tester une éventuelle résistance à l'insuline ou au glucagon.

3. Application au traitement et à la prévention

➤ Applications au traitement

Il ne peut pas exister un traitement commun à toutes les cétozes puisque les événements menant à la surproduction de corps cétoniques ne sont pas identiques.

Cependant, il s'agit dans tous les cas de rétablir l'homéostasie [47] par une réduction de la cétoxygénase, une limitation du développement ou de l'aggravation de stéatose hépatique, un rétablissement d'une glycémie correcte, et donc de une restauration d'une réponse insulinaire adéquate et une réduction de la lipomobilisation [38].

Pour les deux types de cétoxy, il semblerait nécessaire d'induire un pic d'hyperglycémie par l'administration intraveineuse de solutés glucosés, puis par l'ingestion de propylène glycol ou d'un de ses dérivés en relais.

L'injection de corticoïdes peut également se montrer utile pour participer à cette augmentation de glycémie.

Ces derniers ne semblent pas agir directement par stimulation de la néoglucoxygénase hépatique à partir d'acides aminés glucoformateurs (comme certains auteurs le mentionnent [74 ; 66]), mais plutôt indirectement par modification de la distribution et de la cinétique du glucose dans l'organisme [47]. Ils diminueraient son utilisation périphérique par certains tissus (peau, tissus : conjonctif, adipeux et lymphoïde) par un effet anti-insuline [74 ; 66] et réduiraient le prélèvement mammaire de glucose, ce qui expliquerait la chute de la sécrétion lactée (jusqu'à 30% pendant 3 jours) [42 ; 47].

Ainsi, l'organisme posséderait toujours la même quantité de glucose, mais elle serait distribuée différemment : le glucose est davantage concentré dans le compartiment extracellulaire et vasculaire qu'en intracellulaire [47].

Cependant, il existe des particularités liées au traitement de chaque type de cétoxy au vu des particularités physiopathologiques énoncées ci avant. Il semblerait donc judicieux face à un animal en état de cétoxy de mesurer la glycémie au chevet du bovin (grâce à un appareil en général peu onéreux et facilement transportable). Cela nous permettrait d'orienter plus précisément notre thérapeutique et d'employer de manière plus avisée les différents remèdes à notre disposition.

▪ **Traitement de la cétoxy hypoglycémique :**

Le pic d'hyperglycémie est destiné chez les vaches en cétoxy de type 1 à inhiber à la fois le relargage des AGNE et le transport des acyl Coa dans les mitochondries hépatiques, le tout conduisant à une réduction de la cétoxygénase hépatique [47]. Une diminution de 60% du taux plasmatique en AGNE [21] et de 70% du taux d'acétoacétate [52] ont été observés.

En réalité, l'apport de glucose ou de propionate entraîne une hausse rapide du taux d'insuline (en moins d'une heure [61]) qui exerce alors son effet anti-lipolytique et joue également un rôle directement au niveau des hépatocytes. [56 ; 52 ; 61]

Il est également possible d'y adjoindre éventuellement des traitements adjuvants tels que vitamines ou facteurs lipotropes. En effet, même lors de cétoxy hypoglycémique, un certain degré de stéatose hépatique est tout de même présent.

Expérimentalement, on a montré que ce type de cétoxy ne répondait pas à l'administration de glucagon car la néoglucoxygénase fonctionne déjà au maximum, elle ne peut donc pas être stimulée davantage [48 ; 46]. En effet, ce sont les substrats de la néoglucoxygénase qui manquent dans ce cas.

Cette cétoxy qui survient à proximité du pic de lactation, répond habituellement rapidement bien à la thérapie : en général, on observe une reprise de l'appétit en 3 jours maximum et une

ré-augmentation de la production laitière en 10-15 jours. Par contre, les rechutes sont possibles, surtout si l'alimentation n'est pas corrigée en conséquence.

Dans tous les cas, on recherchera les causes possibles de cétose secondaire afin d'éventuellement pouvoir les traiter et dans le cas de processus infectieux, il faudra absolument associer une antibiothérapie à l'administration de corticoïdes. Si une rechute à lieu, un nouveau bolus de soluté glucosé sera ré-administré et les précurseurs de la néoglucogenèse seront prolongés. Une pathologie primaire entraînant incidemment une cétose sera alors à nouveau recherchée de manière plus approfondie

▪ **Traitement de la cétose normo- ou hyperglycémique :**

- Recherche d'un stress :

Tout d'abord, il paraît nécessaire de rechercher la présence d'un éventuel stress qui aurait pu contribuer à déclencher cette maladie et essayer d'y remédier dans la mesure du possible.

- Induction d'un pic d'hyperglycémie :

○ Par perfusion d'un soluté glucosé :

Chez les animaux atteints de cétose de type 2, le pic d'hyperglycémie a pour but d'aider à lever l'insulinorésistance présente lors de cétose de type 2.

L'efficacité de l'apport en bolus de 250 à 500 mL d'une solution de glucose hypertonique à 50% chez les animaux souffrant du « syndrome de la vache grasse » n'a pas été démontrée avec certitude, bien qu'il permette de réduire la lipolyse (réduction du relargage des AGNE par stimulation de la sécrétion d'insuline) [11]. En effet, du fait que la perfusion de glucose réduise l'entrée des acyl Coa dans les mitochondries hépatiques, elle peut s'avérer délétère puisqu'elle favoriserait la stéatose hépatique en stimulant l'estérification des acides gras en triglycérides [47]. Cependant, ce traitement associé à l'insuline peut tout de même s'avérer utile s'il est utilisé judicieusement.

○ Par l'injection de glucocorticoïdes :

Leur utilisation lors de stéatose hépatique sévère a suscité des réponses controversées [47].

Les personnes contre leur emploi ont rapporté l'effet permissif que les corticoïdes exercent sur la lipolyse du tissu adipeux et sur le développement de la stéatose hépatique (par stimulation de la synthèse d'acides gras dans le foie) qui a lieu quelquefois lors de thérapie aux glucocorticoïdes chez les monogastriques. En fait, une augmentation ou du moins une non diminution de la lipolyse est probable car il a été observé que l'hyperglycémie provoquée suite à l'injection de glucocorticoïdes chez des vaches ne fait pas chuter la concentration en AGNE plasmatiques. Cependant, l'exhortation de la synthèse des acides gras dans le foie des animaux traités aux glucocorticoïdes n'a probablement pas lieu chez les ruminants du fait de leur faible capacité à les synthétiser (comme il l'a été précisé en première partie).

Les auteurs en faveur de l'utilisation des glucocorticoïdes insistent sur le fait qu'ils stimuleraient la sécrétion des VLDL [13]. Ils aideraient ainsi l'exportation de triglycérides du foie et donc participeraient à la résolution de la stéatose hépatique. Ces observations sont probablement confondues avec la propension des glucocorticoïdes à induire chez les monogastriques la synthèse d'acides gras, ce qui pourrait résulter en une augmentation de la sécrétion des triglycérides par leur foie. Du fait que la synthèse des acides gras n'a semble-t-il

pas lieu dans le foie des ruminants, il nous paraît difficile de prédire l'effet des glucocorticoïdes sur la sécrétion des triglycérides par leur foie.

- Lutte contre la stéatose hépatique :

Les principaux problèmes rencontrés lors de « syndrome de la vache grasse » sont la stéatose hépatique sévère, ainsi que l'insulinorésistance.

La thérapeutique de la stéatose hépatique peut intervenir à différents niveaux : en limitant le relargage d'AGNE du tissu adipeux, en empêchant la captation de ces derniers par le foie, en stimulant l'oxydation des AGNE (pour limiter leur estérification), et enfin en augmentant le taux de sécrétion des triglycérides en-dehors du foie [47].

Il pourrait donc s'avérer utile d'employer des inhibiteurs de la lipolyse tels que l'insuline ou la niacine, ou encore des agents limitant l'accumulation de triglycérides dans le foie comme le glucagon. Nous rappelons que cette cétose est en effet connue pour répondre de façon favorable à une injection de glucagon [48 ; 46], ce qui montrerait que la réduction de la néoglucogenèse jouerait un rôle dans la physiopathologie de cette cétose.

L'insuline est connue pour son action hypoglycémiante (elle fait entrer le glucose circulant dans la cellule), mais elle présente également une action anti-cétogène

En effet, elle limite la production de corps cétoniques par l'intermédiaire du malonyl Coa qui inhibe la CPT 1, et augmente leur captation et leur utilisation tissulaire. Elle possède également une action anti-lipolytique car elle inhibe la libération d'AGNE par le tissu adipeux, ainsi qu'une action de stimulation de la synthèse des VLDL [71 ; 47 ; 43].

L'injection de 200 à 300 unités internationales d'insuline-protamine-zinc (insuline retard ou longue action) par animal se fera en sous-cutané. Ceci avec une fréquence variable selon les auteurs : 1 fois toutes les 24 à 48 heures pour Herdt et coll. [48 ; 47], 1 fois toutes les 12h pour Pearson et coll. [71], alors que Espinasse cité par Vagneur [97] conseille une seule administration de 400 UI.

Elle doit bien sûr être associée à une injection intraveineuse de glucose ou à une injection de glucocorticoïdes afin de contrecarrer son effet hypoglycémiant.

On peut noter en effet que l'administration unique de 500 mL de glucose à 50% en intraveineuse, associée à 200 unités d'insuline en sous-cutané s'est montrée efficace dans le traitement des cétooses [11]. De même, l'injection d'insuline associée à l'injection de glucocorticoïdes semble plus efficace (à 48 heures et à 120 heures après injection) que ces derniers employés seuls [48 ; 47].

Radigue [77], quant à lui, propose deux stratégies différentes en fonction de la valeur de la glycémie :

- si la vache cétoïque possède une glycémie normale ou élevée (entre 0,6 et 1,2 g/L : soit entre 3,3 et 6,6 mmol/L), il recommande l'injection de 100 UI matin et soir avec contrôle de la glycémie et ajout en parallèle de monopropylène glycol ou de propionate per os.
- si elle est en hyperglycémie (>1,2 g/L = 6,6 mmol/L), il préconise l'administration de 200 UI matin et soir en contrôlant la glycémie.

Cette méthode, bien que paraissant plus précise, présente le désavantage d'être contraignante (injection matin et soir, contrôle régulier de la glycémie...).

Les facteurs lipotropes aideraient à empêcher l'accumulation de lipides dans le foie en stimulant la synthèse des phospholipides nécessaires à la production des lipoprotéines. Cependant, leur efficacité reste pour la plupart incertaine car la production et la sécrétion de lipoprotéines sont basses chez tous les bovins et il n'est pas sûr que leur production puisse être stimulée efficacement [38]. De plus, leur coût demeure élevé, ils sont donc encore peu usités de nos jours.

Ils comprennent:

- le chlorure de choline qui favorise l'entrée des lipides dans le cycle de Krebs,
- la méthionine et la bétaine tous deux précurseurs de la choline,
- la vitamine PP, encore appelée niacine, acide nicotinique, niacinamide ou nicotinamide.

La choline est souvent préconisée pour aider les triglycérides à sortir du foie en permettant la synthèse des VLDL. La choline est en effet un composant de la phosphatidylcholine qui est elle-même un des phospholipides majeurs des VLDL. Il est démontré que cette dernière est déficitaire chez les ruminants par rapport aux autres espèces [44].

On peut également administrer un de ses précurseurs : la méthionine ou la bétaine.

Mais aucune étude n'a réussi à prouver que la choline soit un facteur limitant dans cette maladie [31], ni qu'elle soit efficace dans le traitement de la stéatose hépatique [71]. En effet, la faiblesse de synthèse de VLDL chez les ruminants tient autant à des facteurs génétiques (lente transcription de la protéine apoB100 qui participe à la formation des VLDL), qu'à des facteurs alimentaires [31]. Son efficacité, tant en traitement qu'en prévention, n'a pas encore été formellement démontrée.

La niacine serait dotée de différentes propriétés (dont les modes d'action ne sont pas toujours très connus) dans le cadre de la lutte contre la cétose [31 ; 32 ; 47]:

- elle limiterait la lipomobilisation à partir du tissu adipeux,
- elle favoriserait l'oxydation des acides gras (donc elle limiterait leur estérification en triglycérides),
- elle diminuerait l'utilisation du glucose et créerait une certaine insulino-résistance : elle aiderait donc au rétablissement de la glycémie.

En réalité, elle agirait en tant que constituant de deux co-enzymes (NADP et NADPH) qui participent entre autre au cycle de Krebs et à l'oxydation du glucose et des acides gras. Elle permettrait donc une augmentation de la glycémie et une diminution des concentrations en corps cétoniques et elle participerait ainsi à une quarantaine de réactions dans l'organisme [74 ; 82]. Habituellement, elle est produite en quantité suffisante dans le rumen, excepté en début de lactation où sa synthèse est très diminuée [82].

Son action anti-lipolytique serait effective lorsqu'elle est administrée à raison de 6 à 12 g de nicotinate de sodium par jour pour un animal de 600 Kg [11].

Mais elle posséderait des « effets rebond » lors de son utilisation dans un but curatif [47 ; 71]: après une amélioration des signes cliniques, une rechute sévère le deuxième et troisième jour serait observée, suivie d'une guérison graduelle. Les mécanismes responsables de ce type de rechute sont encore très mal connus [33]. En général, la dose de 6 mg/J semble être la dose minimale efficace et celle qui provoque le moins d'« effet rebond » [24].

L'effet bénéfique d'un traitement à la niacine sur des animaux avec stéatose hépatique n'a pas été prouvé à ce jour. Dans une étude [47], il a été montré qu'elle diminuait la concentration sanguine en cholestérol et triglycérides, ce qui suggère que la sécrétion des lipoprotéines par le foie serait alors diminuée, cela montrerait plutôt une action délétère pour les foies stéatosés. La niacine, parce qu'elle possède de nombreuses propriétés comme celle de stimuler le métabolisme ruminal, serait certainement plus efficace en prévention qu'en traitement. [47]

Le glucagon : si la cétose de type 1 ne répond pas à l'administration parentérale de glucagon puisque la capacité de néoglucogenèse du foie qui est déjà à son maximum ne peut être davantage stimulée, cela n'est pas le cas pour la cétose de type 2.

En effet, il a été démontré que la concentration en glucagon est diminuée dans le sang des vaches obèses au vêlage et qu'elle se réduit également plus tard lors du développement d'une cétose. Son implication dans la pathologie du « syndrome de la vache grasse » pourrait donc être envisagée.

Il est nécessaire de préciser avant tout que les effets lipolytiques et cétogéniques du glucagon présents chez beaucoup d'espèces non ruminantes ne sont pas rencontrés chez les ruminants : aucune expérience n'a prouvé jusqu'à présent d'indication d'augmentation de la lipolyse du tissu adipeux chez des vaches normales ou céto-siques traitées au glucagon et il semble fort que le premier site d'action de ce dernier soit le foie. [46 ; 49 ; 50]

Hippen et coll. [50] ont testé les effets du glucagon pour la prévention et le traitement de la stéatose hépatique des vaches laitières. L'injection de glucagon en intraveineuse a été réalisée pendant 14 jours (du 21^{ème} au 35^{ème} jour post-partum) sur des animaux ayant préalablement subi un protocole d'induction de stéatose hépatique et de cétose.

Suite à l'injection, il a été remarqué [49 ; 50]:

- Une augmentation de la concentration en glucose plasmatique de 142% par rapport au contrôle. Le glucagon est un puissant stimulant de la glycogène phosphorylase: il augmente ainsi l'activité de glycogénolyse hépatique, d'où une augmentation de la glycémie.
- Une diminution des taux de bêta hydroxybutyrate et d'AGL sériques.
- Une diminution de 71% du contenu en triglycérides du foie à J35. Cela pourrait s'expliquer par le fait que le glucagon puisse être capable d'augmenter à la fois l'activité de la lipase acide lysosomale hépatique (évoquée en première partie dans la pathogénie de la stéatose hépatique) et l'expression du gène de l'apolipoprotéine B : il promouvrait donc à la fois l'hydrolyse des triglycérides intracellulaires stockés et la sécrétion des triglycérides sous forme de lipoprotéines hors du foie. Il a également été émis comme hypothèses que le glucagon augmenterait la concentration en oxaloacétate en stimulant la pyruvate carboxylase qui est responsable de la conversion du pyruvate en phosphoénolpyruvate en produisant de l'oxaloacétate, et en dirigeant préférentiellement les acides aminés vers la néoglucogenèse (au détriment de la mamelle). Ces derniers permettraient ainsi d'augmenter la glycémie tout en épargnant l'oxaloacétate. Cette augmentation de la concentration en oxaloacétate aurait pour effet de favoriser l'entrée des acétyl-Coa provenant de la lyse des AGNE plasmatiques dans le cycle de Krebs en diminuant secondairement leur utilisation dans la synthèse d'acides gras in situ, diminuant alors la quantité de malonyl Coa.

La CAT1 ne serait donc plus inhibée, favorisant subséquemment l'entrée des acyl Coa dans la mitochondrie pour être oxydés et diminuant leur estérification en triglycérides. Le glucagon serait ainsi capable de répondre aux deux théories prédominantes en ce qui concerne l'origine du déclenchement de la cétose : le déficit en oxaloacétate et la diminution d'activité de la CAT 1.

Mais en réalité, les mécanismes précis à travers lesquels le glucagon agit ne sont pas encore totalement connus.

- Enfin, il a été observé une baisse tout d'abord, puis une élévation du stock de glycogène hépatique. Cette capacité du glucagon à augmenter la concentration en glycogène du foie peut avoir un rôle clé dans la création d'une résistance à la cétose.

Par contre, le glucagon n'a eu aucun effet sur la reprise de poids des animaux, ni sur la production laitière. Ces résultats nous permettraient donc de conclure qu'un traitement au glucagon associé à un apport exogène de glucose est capable de prévenir l'accumulation de triglycérides dans le foie (cela avait déjà été démontré auparavant par plusieurs autres expériences). Mais ce traitement reste encore au stade expérimental et présente l'inconvénient de ne posséder une demi-vie que de 5 minutes [49], ce qui implique une injection intraveineuse continue. Le développement d'une forme de glucagon longue action à injecter en sous-cutané, ou d'une forme orale appétente serait très utile au développement de ce traitement de la cétose et de la stéatose hépatique.

Au contraire de la cétose de type 1, la cétose associée au « syndrome de la vache grasse » répond beaucoup moins bien et moins rapidement à la thérapeutique et l'euthanasie suite aux lésions provoquées par un décubitus prolongé est fréquente.

Il est couramment déclaré qu'un traitement efficace doit montrer une amélioration clinique en 24h. Le meilleur critère pour juger de l'efficacité d'une thérapie entreprise est l'amélioration de l'appétit. [33 ; 11]. De plus, il est répandu de déclarer que les animaux présentant une anorexie totale durant plus de trois jours ont toutes les chances de mourir. [11]

C'est pourquoi la prévention s'avère être d'autant plus importante pour ce type de cétose [102].

➤ Applications à la prévention

La prévention réside surtout dans une bonne gestion des facteurs alimentaires avec l'emploi d'un rationnement adapté aux besoins physiologiques des animaux. Elle est plus bénéfique d'un point de vue économique que le traitement puisque bien souvent après traitement, les animaux ne retrouvent pas une production satisfaisante [38].

De la même façon que pour le traitement, on distingue principalement deux stratégies différentes en matière de prévention des risques de cétose :

▪ Dans un élevage avec de nombreuses cétoses hypoglycémiques :

Il serait primordial de prévenir l'insuffisance de couverture énergétique de début de lactation par la reconstitution des réserves corporelles lors du début du tarissement, suivie d'une transition alimentaire adaptée. Ceci, de manière à ce que l'animal arrive au vêlage avec un organisme adapté à la digestion et à l'utilisation d'une ration riche en glucides rapidement fermentescibles afin de couvrir au maximum les besoins importants du début de lactation. Ainsi, le volume de la panse et la taille des papilles ruminales doivent être suffisantes et les microorganismes ruminiaux doivent être adaptés à utiliser de tels substrats.

Chez les animaux à risque (comme une vache ayant déjà fait une cétose à la lactation précédente, une vache particulièrement maigre au vêlage, ou très forte laitière...), il peut s'avérer utile de compléter avec du propylène glycol per os ou avec un autre précurseur de la néoglucogénèse pendant quelques jours ou semaines après la mise-bas. Il est possible de renouveler ce traitement peu avant le pic de lactation. Il faut surveiller particulièrement ces animaux à risque par l'intermédiaire de la production lactée et de l'appétit afin de réagir le plus vite possible en cas de déclenchement d'une cétose clinique. En effet, plus vite la cétose est traitée, plus la vitesse de rétablissement sera élevée, et moins cela affectera la santé de l'animal (risque d'affections secondaires) et le reste de sa production (une cétose écrète le pic de production laitière).

▪ **Dans un élevage avec quelques cétozes normo- ou hyperglycémiques :**

Il faut surtout veiller ici à prévenir la lipomobilisation du début de lactation en réduisant l'accumulation de masse grasse périphérique et en traitant le plus précocement possible les maladies du péripartum (rétention placentaire, hypocalcémie, métrite, mammite...) [71]. Il est donc important d'éviter que l'animal ne s'engraisse trop lors du tarissement. Il a d'ailleurs été démontré qu'une Note d'Etat Corporel (NEC) supérieure à 4 à la mise bas est un facteur favorisant la cétose [27].

La conduite de tarissement sera donc menée en fonction de la NEC mesurée à l'entrée en période de tarissement :

- Si elle s'avère trop élevée : on réduit les apports de façon à ce que la vache perde du poids en première partie de tarissement, puis qu'elle n'en prenne pas lors de la seconde partie.
- Si son état corporel est satisfaisant pour une vache en fin de lactation, il faudra veiller à obtenir une stagnation de ce poids pendant toute la durée de la période sèche.

Cela implique donc de mener les vaches tarées en plusieurs lots en fonction de leur NEC lors du tarissement, afin de jouer sur la durée du tarissement et le régime alimentaire distribué. Cela suppose également un calcul précis des besoins et des rations à distribuer pour chaque lot.

Il faudra de plus veiller à éviter l'apparition de tout facteur susceptible de stresser les animaux en début de lactation : logement confortable, pas de concurrence au sein d'un groupe... Cette gestion peut paraître lourde et contraignante. Toutefois, elle ne permet pas seulement d'éviter la perte de production laitière comme c'est souvent le principal problème lors de cétose de type 1, mais véritablement la perte de l'animal lui-même. En effet, nous avons vu que le « syndrome de la vache grasse » est une entité extrêmement difficile à traiter car il n'existe pas d'hépatoprotecteur ou de facteur lipotrope capable de traiter avec une véritable efficacité la stéatose hépatique sévère et il existe de multiples risques de complications.

Enfin, la cétose est une maladie de production dont la fréquence de survenue ne peut être réduite à zéro. Il faudrait en fait trouver un juste milieu entre les pertes dues à la survenue de la maladie, même sub-clinique, et les dépenses engagées pour la contrôler. Ainsi, la responsabilité incombe au vétérinaire traitant de décider quelle stratégie employer afin d'obtenir le maximum de bénéfices du point de vue productivité tout en minimisant le coût de la prévention et du traitement, tant en matière de temps que d'argent.

CONCLUSION

Au cours de notre étude, nous avons justifié la distinction entre la cétose hypoglycémique et la cétose normo- ou hyperglycémique. Douze cas spontanés ont pu être étudiés en analysant les critères dont la pertinence découlait de la revue de la littérature présentée en première partie. Suite à l'analyse des résultats épidémiologiques obtenus nous pouvions soupçonner la présence de vaches atteintes de la forme hypoglycémique et de bovins affectés par la forme normo- ou hyperglycémique. Toutefois, le faible nombre de cas étudiés ne nous a pas permis de conforter l'existence de ces deux types de cétooses, malgré l'inclusion d'une vache suspectée de développer un « syndrome de la vache grasse ».

L'analyse des critères cliniques et biologiques a permis de confirmer qu'une vache en état de cétose présentait en général une chute de l'appétit et de la production laitière, un amaigrissement notable, qu'elle n'était pas forcément en hypoglycémie, et que la sévérité des signes n'était pas toujours corrélée à l'importance de la cétonémie ni de l'hypoglycémie. Les limites de nos déductions provenant d'une insuffisance du nombre de cas inclus, il serait nécessaire de poursuivre l'expérimentation pour accroître le nombre de bovins recrutés afin d'être en mesure de conclure.

Nous avons enfin souligné les applications au traitement par la nécessité dans les deux formes d'induire un pic d'hyperglycémie et les applications à la surveillance par la maîtrise de l'état corporel des animaux et de l'alimentation en fin de gestation et début de lactation.

Le traitement de la cétose hypoglycémique se focalisera sur la restauration de la glycémie afin de limiter la production de corps cétoniques ; tandis que celui de la cétose normo- ou hyperglycémique sera orienté sur la limitation de la lipomobilisation et sur la stimulation de l'exportation de triglycérides par le foie.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Professeur P. BÉZILLE
Pathologie du Bétail
E.N.V. LYON
Tél. 04 78 87 26 00

Professeur G. Bourdoiseau

Le Président de la thèse
27
Bâtiment 5 427B
Fédération Endocrinologie
Président
BIOCHIMIE OSTÉO-ARTICULAIRE
Vu et permis d'imprimer
Lyon, le

5 OCT. 2004

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales

Bibliographie

- 1 AMSTUTZ H.E., ARMOUR J., BLOOD C.D., CHRISMAN C.L., LOEW F.M., SNOEYENBOS G.H. (1996)
Cétose des bovins.
In: Fraser C.M. (ed.). Manuel Vétérinaire Merck 1ère édition,
Merck Sharp et Dohme Research Laboratories Rahway, New Jersey, 387-389.
- 2 ANDERSSON L. (1984)
Concentration of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonaemia and clinical signs.
Zentrabl. Vet. Med. Reihe A 31, 683-693.
- 3 ARCANGOLI M.A., BEZILLE P. (2003)
Les maladies métaboliques à symptomatologie nerveuse des bovins: hypocalcémie, hypomagnésémie, acétonémie, encéphalose hépatique.
Group. Tech. Vet. Hors-Série "Neuropathologie des ruminants", 93-98.
- 4 AUBADIE-LADRIX M. (2003)
Biochimie sanguine de la vache laitière.
Le Point Vét. Num. Spé. 34, 36-40.
- 5 AUBADIE-LADRIX M. (2004)
Pratique de la biochimie sanguine chez la vache laitière au sein du cabinet vétérinaire.
In: SNGTV (ed.). Thérapeutique: actualités, outils de prescription
Journées nationales des GTV, Tours, 26-28 Mai 2004, 249-257.
- 6 BELL A.W. (1995)
Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation.
J. Anim. Sci. 73, 2804-2819.
- 7 BENOIT E., GARNIER F. (2002).
Exploration biochimique des surrénales.
In: Polycopié de cours de biochimie de deuxième année de deuxième cycle d'Ecole Vétérinaire 2001-2002.
Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.
- 8 BERTICS S.J., GRUMMER R.R., CADORNIGA-VALINO C., STODDARD E.E. (1992)
Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation.
J. Dairy Sci. 75(7), 1914-1922.
- 9 BOUISSET S. (2003)
Examens d'urine au chevet du bovin.
Le Point Vét. Num. Spé. 34, 16-17.
- 10 BRAUN J.P., BEZILLE P., GARNIER F., RICO A.G. (1992)
Techniques de diagnostic rapide en biochimie clinique chez les bovins.
In: Société française de buiatrie (ed.). Le recours au laboratoire en buiatrie,
Paris, 16-17 Décembre 1992, J. Espinasse, 124-129.
- 11 BRUGERE-PICOUX J., REMY D. (1995)
Baisse de la disponibilité en glucose.
La Dépêche Technique. Maladies métaboliques chez la vache laitière. 46, 9-21.
- 12 BRUGERE-PICOUX J., REMY D. (1995).
Biochimie clinique.
La Dépêche Technique. Maladies métaboliques chez la vache laitière. 46, 28-29.

- 13 BRUSS M.L. (1999)
Chap.4: Lipids and ketones.
In: KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L. (eds). Clinical biochemistry of domestic animals. 5^{ème} édition.
Academic Press, INC, San Diego, California, USA., 83-115.
- 14 BUSATO A., FAISSLER D., KUPFER U., BLUM J.W. (2002)
Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows.
J. Vet. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 49(9), 455-60.
- 15 BUTLER W.R., SMITH R.D. (1989)
Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle.
J. Dairy Sci. 72, 767-783.
- 16 CEBRA C.K., GARRY F.B. GETZY D.M., FETTMAN M.J. (1997)
Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: a retrospective study of serum biochemical abnormalities.
J. Vet. Inter. Med. 11(4), 231-237.
- 17 COOK N.B., WARD W.R., DOBSON H. (2001)
Concentrations of ketones in milk in early lactation, and reproductive performance of dairy cows.
Vet. Rec. 148(25), 769-772.
- 18 COULON J.B., REMOND B., DOREAU M., JOURNET M. (1985)
Evolution de différents paramètres sanguins du métabolisme énergétique chez la vache laitière en début de lactation.
Ann. Rech. Vet. 16(3), 185-193
- 19 CREPIN D. (2004)
L'intervalle des normes préconisées pour la GGT est trop large chez les vaches laitières.
Le Point Vét. 35(242), 8-9.
- 20 DALE H., VIK-MO L., FJELLHEIM P. (1979)
A field survey of fat mobilization and liver function of dairy cows during early lactation. Relationship to energy balance, appetite and ketosis.
Nord. Vet. Med. 31(3), 97-105.
- 21 DE BOER A., TRENKLE A., YOUNG J.W. (1985)
Glucagon, insulin, growth hormone, and some blood metabolites during energy restriction ketonemia of lactating cows.
J. Dairy Sci. 68, 326-337.
- 22 DOBBELAAR P., MOTTRAM T., NYABADZA C., HOBBS P., ELLIOTT-MARTIN R.J., SCHUKKEN Y.H. (1996)
Detection of ketosis in dairy cows by analysis of exhaled breath.
Vet. Q. 18(4), 151-152.
- 23 DUFFIELD T. (2000)
Subclinical ketosis in lactating dairy cattle.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.16(2), 231-53.
- 24 DUFVA G.S., BARTLEY E.E., DAYTON A.D., RIDDELLI D.O. (1983)
Effect of niacin supplementation on milk production and ketosis of dairy cattle.
J. Dairy Sci. 66(11), 2329-2336.
- 25 DUNCAN J.R., PRASSE K.W., MAHAFFEY E.A. (1994)
Veterinary laboratory medicine: clinical pathology. 3^{ème} édition.
Iowa State University Press. Ames, Iowa., 300p.

- 26 EMANUELSON U. (1988)
Recording of production diseases in cattle and possibilities for genetic improvements: a review.
Livest. Prod. Sci. 20, 89-106.
- 27 ENJALBERT F. (1995)
Conseil alimentaire et maladies métaboliques en élevage.
Le Point Vét. 27(sp), 713-718.
- 28 ENJALBERT F. (1996)
Les constituants des aliments et leur digestion chez les bovins: bases physiologiques.
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 13-34.
- 29 ENJALBERT F. (1996)
Le métabolisme des bovins: synthèse des productions (lait et viande).
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 37-43.
- 30 ENJALBERT F. (2002)
Relations entre alimentation et fertilité : actualités.
Le Point Vet. 33(227), 46-50.
- 31 ENJALBERT F. (2004)
Relation alimentation-production-santé chez les bovins.
Conférence enseignement 3ème cycle ENVL (21-22 Janvier 2004). Document power point pdf (56p).
- 32 FERRE D., AUBADIE-LADRIX M. (2004)
Pratique de la biochimie sanguine chez la vache laitière au sein du cabinet vétérinaire.
In: SNGTV (ed.). Thérapeutique: actualités, outils de prescription
Journées nationales des GTV, Tours, 26-28 Mai 2004, 443-454.
- 33 FOSTER L.A. (1988).
Clinical ketosis.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 4(2), 253-267.
- 34 FRANCOZ D., DERY A., LANEVSCHI A. (2003)
Les examens hématologiques en pratique bovine.
Le Point Vét. Num. Spé. 34, 42-48.
- 35 GEISHAUSER T., LESLIE K., DUFFIELD T. (2000)
Metabolic aspects in the etiology of displaced abomasum.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 16(2), 255-265.
- 36 GERLOFF B.J. (1988)
Feeding the dry cow to avoid metabolic disease.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 4(2), 379-390.
- 37 GERLOFF B.J. (2000)
Dry cow management for the prevention of ketosis and fatty liver in dairy cows.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 16(2), 283-92
- 38 GERLOFF B.J., HERDT T.H. (1999)
Fatty liver in dairy cattle.
In: Howard & Smith (eds). Current Veterinary Therapy 4. Food Animal Practice.
W.B. Saunders company, Philadelphia, 230-233.
- 39 GERLOFF B.J., HERDT T.H., EMERY R.S. (1986)
Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 188(8), 845-850.

- 40 GRIZARD J., BALAGE M., MANIN M. (1986)
Contrôle hormonal du métabolisme hépatique chez les ruminants.
Reprod. Nutr. Dévelop. 26(1b), 245-257.
- 41 HAMADA T., TSHII T., TAGUSHI S. (1982)
Blood changes of spontaneously ketotic cows and four hours after administration of glucose, xylitol, 1,2 propanediol, or magnesium propionate.
J. Dairy Sci. 65, 1509-1513.
- 42 HARTMANN P.E., KRONFELD D.S. (1973)
Mammary blood flow and glucose uptake in lactating cows given dexamethasone.
J. Dairy Sci. 56(7), 896-902.
- 43 HAYIRLI A., BERTICS S.J., GRUMMER R.R. (2002)
Effects of slow-release insulin on production, liver triglyceride, and metabolic profiles of Holstein in early lactation.
Am. Dairy Sci. Assoc. 85(9), 2180-2191.
- 44 HERDT T.H. (1988)
Fatty liver in dairy cows.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 4(2), 269-287.
- 45 HERDT T.H. (1988)
Fuel homeostasis in the ruminant.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 4(2), 213-231.
- 46 HERDT T.H. (2000)
Ruminant adaptation to negative energy balance.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 16(2), 215-230.
- 47 HERDT T.H., EMERY R.S. (1992)
Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism.
Vet. Cli. North. Am. Food Anim. Pract. 8(1), 91-106.
- 48 HERDT T.H., GERLOFF B.J. (1999)
Ketosis.
In: Howard & Smith (eds). Current veterinary therapy 4. Food animal practice.
W.B. Saunders company, Philadelphia, 226-228.
- 49 HIPPEN A.R. (2000)
Glucagon as a potential therapy for ketosis and fatty liver.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 16(2), 267-282.
- 50 HIPPEN A.R. et coll. (1999)
Alleviation of fatty liver in dairy cows with 14-day intravenous infusions of glucagon.
J. Dairy Sci. 82(6), 1139-1152.
- 51 HOLTENIUS P., HOLTENIUS K. (1996)
New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review.
J. Vet. Med. A. 43, 579-587.
- 52 HOVE K. (1978)
Insulin secretion in lactating cows: responses to glucose infused intravenously in normal, ketonemic, and starved animals.
J. Dairy Sci. 61, 1407-1413.
- 53 HUNGERFORD T.G.(1967)
Ketosis (acetonaemia) in cattle.
In: Angus & Robertson LTD (eds.). Disease of livestock,
F.H. Booth-Etson PTY LTD, Sydney, 247-251.

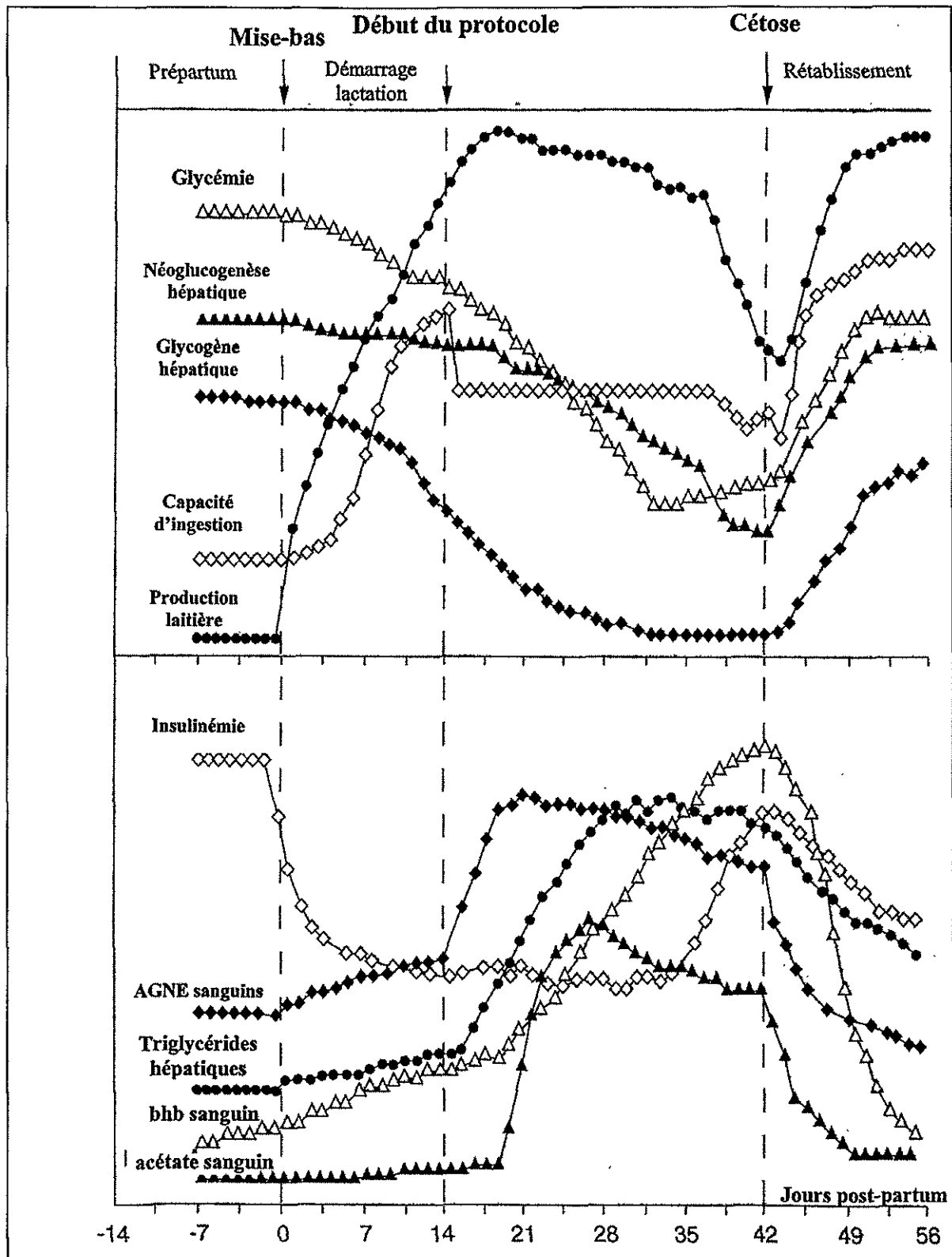
- 54 INGRAHAM R.H., KAPPEL L.C. (1988)
Metabolic profile testing.
Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract. 4(2), 391-411.
- 55 JACOB C., BELLEVILLE F. (1992)
Carnitine: métabolisme, fonctions et intérêt en pathologie.
Path. Biol. 40(9), 910-919.
- 56 JEAN-BLAIN C. (1995)
Adaptation ou défaillance hépatique au cours du cycle de reproduction chez les ruminants.
Le Point vét. 27(sp), 689-696.
- 57 JORRITSMA R., MURONDOTI A., VOS P.L.A.M., NOORDHUIZEN P.T.M., KRUIP T.A.M., WENSING T. (2004)
Metabolic homeostasis in postpartum dairy cows hampered by fatty livers.
Vet. Rec. 155, 151-152.
- 58 KANEKO J.J. (1999)
Chap.3: Carbohydrate metabolism and its diseases.
In: KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L. (eds.). Clinical biochemistry of domestic animals. 5^{ème} édition.
Academic Press, INC. San Diego, California, USA., 45-81
- 59 KAUPPINEN K. (1984)
ALAT, AP, ASAT, GGT, OCT, activities and urea and total bilirubin concentrations in plasma of normal and ketotic dairy cows.
Zentrabl. Vet. Med. A 31(8), 567-576.
- 60 KOLLER A., REISR M., BLUM J.W., KUPFER U. (2003)
Time empty and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows.
Reprod. Domest. Anim. 38(1), 41-49.
- 61 KRONFELD D.S. (1965)
Plasma non-esterified fatty acid concentrations in the dairy cow: responses to nutritional and hormonal stimuli, and significance in ketosis.
Vet. Rec. 77(2), 30-35.
- 62 KRONFELD D.S. (1982)
Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency and spontaneous ketosis in dairy cows.
J. Dairy Sci. 65, 2204-2214.
- 63 KUIPER R. (1992)
Hématologie et biochimie.
In: Société française de buiatrie (ed.). Le recours au laboratoire en buiatrie,
Paris, 16-17 Déc 1992, J. Espinasse, 61-66.
- 64 MELLANBY J., WILLIAMSON D.H. (1974)
Acetoacetate.
in: Bergmeyer H. U. (ed.). Methods of enzymatic analysis,
Academic Press inc., London, San Francisco and New York. 4, 1840-1843.
- 65 MILLS S.E., BEITZ D.C., YOUNG J.W. (1986)
Characterization of metabolic changes during a protocol for inducing lactation ketosis in dairy cows.
J. Dairy Sci. 69(2), 352-361.
- 66 MILLS S.E., BEITZ D.C., YOUNG J.W. (1986)
Evidence for impaired metabolism in liver during induced lactation ketosis of dairy cows.
J. Dairy Sci. 69(2), 362-370.

- 67 MIZUTANI H. et coll. (1999)
Preliminary studies on hepatic carnitine palmitoyltransferase in dairy cattle with or without fatty liver.
Vet. Research Com. 23(8), 475-480.
- 68 MOTTRAM T. (1997)
Automatic monitoring of the health and metabolic status of dairy cows.
Livest. Prod. Sci. 48, 209-217.
- 69 NICOL J.M. (1996)
Infertilité en élevage laitier : les mécanismes, les causes, les solutions.
Bull. Group. Tech. Vet. 1996 (3), 53-73.
- 70 PASSONNEAU J.V., LOWRY O.H. (1974)
Pyruvate (Fluorimetric assay).
in: Bergmeyer H.U. (ed.). Methods of enzymatic analysis.
Academic Press inc., London, San Francisco and New York. 3, 1453-1456.
- 71 PEARSON E.G., MAAS J. (2002)
Hepatic lipidosis.
In: Bradford P. Smith (eds). Large animal internal medicine. 3^{ème} édition.
Mosby, St Louis, 810-817.
- 72 PEHRSON B. (1966)
Studies on ketosis in dairy cows.
Acta. Vet. Scand. Suppl. 15, 1-59.
- 73 PETIT S. (2003)
Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de santé animale commercialisés en France.
12^{ème} édition. Editions du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, France. 1760p.
- 74 POULIQUEN H., GUATTEO R. (2003)
Rétablir la glycémie lors d'acétonémie chez une vache.
Le Point Vét. 34(237), 73.
- 75 RADIGUE P.E. (2003)
Prélèvements et analyses au chevet du bovin malade.
Le Point Vét. Num. spé. 34: 4-9.
- 76 RADIGUE P.E. (2004)
Les analyses au chevet de l'animal: la démarche constructive de la cascade des prélèvements: conséquences et applications thérapeutiques.
In: SNGTV (ed.). Thérapeutique: actualités, outils de prescription
Journées nationales des GTV, Tours, 26-28 Mai 2004, 241-248.
- 77 RADIGUE P.E. (2004)
L'œdème mammaire: étiologie, physiologie, diagnostic, thérapeutique et prévention.
In: SNGTV (ed.). Thérapeutique: actualités, outils de prescription
Journées nationales des GTV, Tours, 26-28 Mai 2004, 431-442.
- 78 RADOSTITS O.M., GAY C.C., BLOOD D.C, HINCHCLIFF K.W. (2000)
Ketosis in ruminants.
In: W.B. Saunders (ed.), Veterinary Medicine 9th. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheeps, Pigs, Goats and Horses, Londres, 1452-1462.
- 79 RINGS M. (1985)
Therapeutic considerations in ketosis and hepatic lipidosis in cattle.
Modern Vet. Pract. 66, 523-526.

- 80 RUKKWAMSUK T., WENSING T., GEELEN M.J. (1998)
Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period.
J. Dairy. Sci. 81, 2904-2911.
- 81 RUKKWAMSUK T., WENSING T., GEELEN M.J. (1999)
Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue in dairy cows during the periparturient period.
J. Dairy. Sci. 21, 1164-1169.
- 82 SALAT O. (2004)
Gestion diététique du péri-partum.
In: SNGTV (ed.). Thérapeutique: actualités, outils de prescription
Journées nationales des GTV, Tours, 26-28 Mai 2004, 527-536.
- 83 SANTOS J.E.P., CERRI R.L.A., KIRK J.H., JUCHEM S.O., VILLASENOR M. (2003)
Effect of prepartum milking of primigravid cows on mammary gland health and lactation performance.
Livest. Prod. Sci. Article in Press.
- 84 SATTTLER N. (2003)
Intérêts et limites des analyseurs en buiatrie.
Le Point Vét. Num. Spé. 34, 32-35.
- 85 SCHNIER C., HIELM S., SALMONIEMI H.S. (2002)
Comparison of the disease incidences of dairy cows kept in cold and warm loose-housing systems.
Prev. Vet. Med. 53, 247-261.
- 86 SCHOUVERT F. (2000)
La stéatose hépatique chez la vache laitière.
Le Point Vét. 31(211), 7-11.
- 87 SCHULTZ L.H. (1971)
Management and nutritional aspects of ketosis.
J. Dairy Sci. 54(6), 962-973.
- 88 SCHWALM J.W., SCHULTZ L.H. (1976)
Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow.
J. Dairy Sci. 59(2), 255-261.
- 89 SEVINC M., BASOGLU A., BIRDANE F.M., BOYDAK M. (2001)
Liver function in dairy cows with fatty liver.
Rev. Med. Vet. 152(4), 297-300.
- 90 SURIYASATHAPORN W., DAEMEN A.J.J.M., NOORDHUIZEN-STASSEN E.N., DIELEMAN S.J., NIELEN M., SCHUKKEN Y.H. (1999).
Béta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leucocytes.
Vet. Immunol. Immunopathol. 68(2-4), 177-186.
- 91 TREMBLAY A. (1996)
Exploration de la fonction hépatique.
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 87-89.
- 92 TREMBLAY A. (1996)
Les bilans biochimiques chez les bovins laitiers du Québec.
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 283-287.

- 93 VAGNEUR M.(1992)
Biochimie de la vache laitière appliquée à la nutrition.
La Dépêche technique, suppl. technique 28, 1-25.
- 94 VAGNEUR M. (1992)
Intérêt de la mesure de l'hématocrite chez la vache laitière.
Action Vét. 1215, 18-20.
- 95 VAGNEUR M. (1994)
Cétose des vaches laitières: changements métaboliques dans le sang et le foie de vaches laitières pendant l'induction et le traitement précoce des cétoses.
Bull. des G.T.V. Dossiers techniques vétérinaires.
Numéro spécial vaches laitières nutrition-alimentation, 5, 149-154.
- 96 VAGNEUR M. (1996)
Qu'est-ce qu'une ration équilibrée. Comment juger des effets d'une ration chez la vache laitière.
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 47-51.
- 97 VAGNEUR M (1996)
Relation entre la nutrition et la fertilité de la vache laitière. Le point de vue du vétérinaire praticien.
In: SNGTV (ed.). Pathologie et nutrition.
Journées nationales des GTV, Angers, Mai 1996, 105-110.
- 98 VALLET A. (2000)
L'acidose du rumen.
In: Institut de l'élevage (eds.). Maladies des bovins, 3^{ème} édition
Editions France Agricole, 196-199.
- 99 VANDEPUTTE S. (2003)
Tests de terrain en pratique bovine.
Le Point Vét. Num. Spé. 34, 10-14.
- 100 VAZQUEZ-ANON M., BERTICS S., LUCK M., GRUMMER R.R., PINHEIRO J. (1994)
Peripartum liver triglycerids and plasma metabolites in dairy cows.
J. Dairy. Sci. 77, 1521-1528.
- 101 VERRIELE M. (1994)
Biochimie en production laitière: le rôle du vétérinaire praticien.
Bull. des G.T.V. Dossiers techniques vétérinaires.
Numéro spécial vaches laitières nutrition-alimentation, 5, 157-162.
- 102 WENSING T. (1992)
Les maladies de la production.
In: Société française de buiatrie (ed.). Le recours au laboratoire en buiatrie,
Paris, 16-17 Décembre 1992, J. Espinasse, 154-163.
- 103 WILLIAMSON D.H., MELLANBY J.(1974)
D-(-)-3-Hydroxybutyrate.
In: Bergmeyer H. U. (ed.). Methods of enzymatic analysis,
Academic Press inc., London, San Francisco and New York.4, 1836-1839.
- 104 YAMAMOTO M., NAKAGAWA-UETA H., KATOH N., OIKAWA S. (2001)
Decreased concentration of serum apolipoprotein C-III in cows with fatty liver, ketosis, left displacement of the abomasum, milk fever and retained placenta.
J. Vet. Med. Sci. 63(3), 227-231.

Annexe 1 : Evolution des concentrations sanguines de différents métabolites lors de cétose hypoglycémique chez la vache laitière [95]:



bhb = béta hydroxybutyrate.

Protocole d'induction de cétose = restriction alimentaire (-20% de la ration) + administration de 1,3-butanediol (précurseur de corps cétonique) à 450g puis 900 g/J.

Annexe 2 : Fiche à remplir si détection d'une vache cétosique:

Nom et Prénom du propriétaire: _____

Ville et Lieu dit: _____

Numéro de cheptel: _____ (prévenir qu'un élève de l'ENVL va le contacter)

L'animal et son examen clinique:

Identification: _____ Race: _____ Age: _____

Motif de la visite: _____

Moyen de détection du rejet de corps cétoniques: _____

Etat général: Abattement Agitation Normal

Fréq Card : _____ Fréq Respi : _____ Fréq ruminale: _____ T°: _____

Constipation Diarrhée

amaigrissement récent: oui non

Trouble alimentaire récent: oui non

Chute de lait récente: oui non

Cétose secondaire oui non

Autre(s) signe(s) notable(s): _____

Diagnostic: _____

Traitement(s) réalisé(s): _____

A réaliser: (avec des vacutainers à la veine jugulaire, AVANT tout traitement)

- ✓ 2 prises de sang sur tube héparinate de lithium (bouchon vert) : tubes 1 et 2.
- ✓ 1 prise de sang sur tube EDTA (bouchon violet) : tube 3.

Nom du préleveur: _____

Date du prélèvement: ____ / ____ / ____ Heure du prélèvement: _____

Déprotéiniser sur place le tube 1 : mettre dans le tube 1 bis (contenant déjà 2 mL d'HClO₄) exactement 2 mL de sang hépariné du tube 1 à l'aide d'une seringue de 1 mL à usage unique (jeter ensuite le tube 1 et la seringue). **Agiter** le tube fortement pendant 30 secondes environ.

A la clinique : centrifuger 15 min, 3000 tr/min (heure : _____) les tubes 1 bis et 2.

Puis: Prélever le surnageant (plasma) de chaque tube 1 bis et 2 à l'aide d'une pipette de transfert et le mettre dans des cônes en plastique (mettre tout le plasma du tube 2 dans 2 cônes: cônes 2 et 2 bis. Remplir 1 cône avec une partie du sérum du tube 1 bis: cône 1).

Mettre le cône 1 bis et le tube 4 au réfrigérateur et les cônes 2 et 2bis au freezer.

Prévenir le plus rapidement possible:

- Mr Bézille au 06....
- Ou Céline Meurant (T1) au: 06.... (heure arrivée labo: _____)

MERCI!

Annexe 3 : Protocole de traitement des prélèvements:

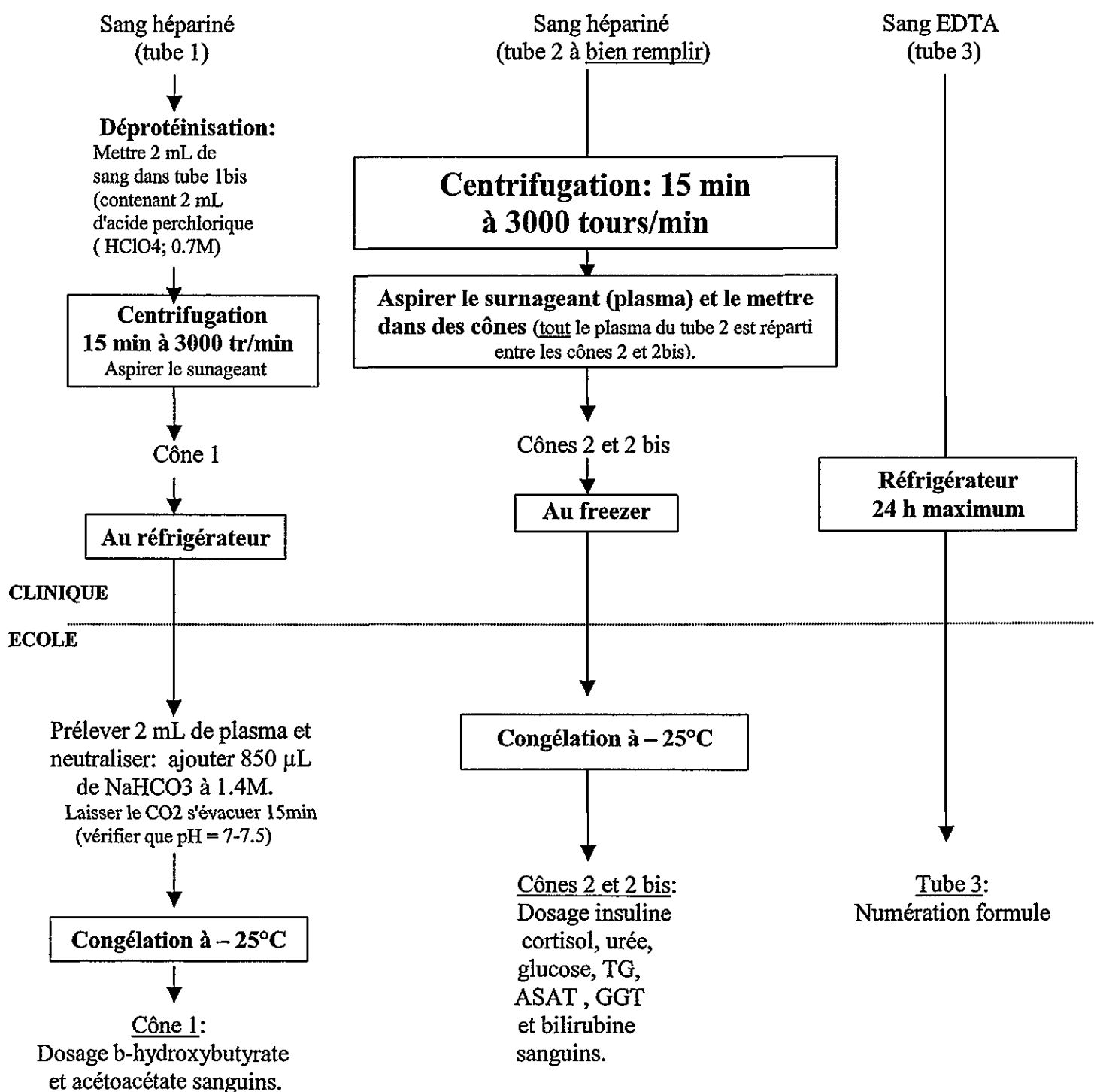
Détection d'une vache ayant 2 croix ou plus de corps cétoniques à la bandelette urinaire Multistix® ou ayant un Vêto-Test Cétonose® positif sur le lait.

Une prise de sang est alors réalisée à la veine jugulaire à l'aide d'un porte-tube destiné à recevoir des vacutainers.

Quatre tubes de 5 mL sont prélevés:

- 2 tubes de sang (5 mL) sur Héparinate de lithium (bouchon vert).
- 1 tube de sang (5 mL) sur EDTA (Ethylène Diamine Tétracétique) (bouchon violet).

Les prélèvements sont traités selon le mode opératoire décrit sur le schéma ci-dessous:



Annexe 4 : dosage du béta-hydroxybutyrate (cône 1):

A) Principe :

Méthode de D.H. Williamson & J. Mellanby [103] : méthode enzymatique spectrophotométrique.

On provoque l'oxydation du béta-hydroxybutyrate par l'enzyme 3-HBDH (3-hydroxybutyrate deshydrogénase) et en présence de NAD (Nicotineamide-Adénine Dinucléotide) :



A pH 7, la réaction est hautement favorable à la réduction de l'acétoacétate. Dans le but de forcer la réaction en direction de l'oxydation du béta hydroxybutyrate, on utilise l'hydrazine comme agent piègeur pour capter l'acétoacétate ainsi formé [13].

L'augmentation de l'extinction à 340 nm (proche ultraviolet) mesurée grâce à un spectrophotomètre due à la formation de NADH (Nicotineamide-Adénine Dinucléotide réduit) est proportionnelle à la quantité de béta-hydroxybutyrate présente dans l'échantillon de plasma.

B) Réactifs :

1) Tampon Hydrazine-Tris :

- Tampon Tris : 0,1N, Ph = 8,5

Mélanger 2,42 g de Tris-hydroxyméthylaminométhane dans 100 mL d'eau distillée.

Ajouter 6 mL d'HCl (1mol/L) et ajuster à 200mL avec l'eau.

Vérifier que pH = 8,5.

- Tampon Tris-hydrazine : (à faire le jour du dosage)

Pour 100 mL :

100 mg d'EDTA Na₂·2H₂O.

Ajouter 5 mL d'hydrazine hydrate et 25 mL d'HCl (1 mol/L)

Ajuster à 100 mL avec le tampon tris.

2) NAD :

Dissoudre 20 mg de NAD dans 2 mL d'eau distillée : on obtient une solution à 10 mg/mL .
0,1 mL par essai. 20 essais possibles.

C) Mode opératoire :

Prise d'essai de 150 µL de plasma déprotéinisé et neutralisé (cône 1)

+ 1,9 mL de solution tampon + 0,1 mL (=100µL) de NAD. Agiter.

Faire une première lecture au spectrophotomètre: DO1

Ajouter ensuite 7 µL d'HBDH (3 béta-hydroxybutyrate déshydrogénase). Agiter.

annexe 4 (suite)

Attendre au moins 30 min à 25-30°C. Agiter.
Faire une deuxième lecture au spectrophotomètre: DO2

$$dDO = DO2 - DO1.$$

Faire un blanc : 1,9 mL de solution tampon + 100 µL de NAD + 150 µL d'eau distillée.

D) Calculs :

$$Q_{\text{essai}} = dDO/6,22 * C * L$$

C = volume dans la cuve en mL

L = largeur de la cuve (= 1 cm)

(Prise d'essai = 0,150 mL) + (tampon avec NAD = 2 mL) + (HBDH = 0,007 mL)
d'où C = 2,157 mL

$$\text{donc : } Q_{\text{essai}} = dDO/6,22 * 2,157$$

Pour 2 mL de sang déprotéinisé avec 2 mL d'HClO4 et dont le surnageant, après centrifugation, a été neutralisé avec 0,850 mL de NaHCO3, on obtient 4,55 mL[•] de surnageant.

Comme la prise d'essai est de 0,150 mL, on a donc :

$$Q(\text{en } \mu\text{mol/mL de plasma}) = (dDO/6,22) * 2,157 * (4,55 / 0,15) / 1,7^{\bullet}$$

Soit : $Q(\text{en } \mu\text{mol/mL}) = dDO * 6,189$ environ

[•] Dilution pour le sang : la densité moyenne du sang est de 1,06 g/L.

Sachant que dans le sang on a 80% en poids d'eau, dans 1 mL de sang, on a : $1,06 * 0,80 = 0,85$ mg de liquide, soit 0,85 mL de plasma.

On a donc 1,7 mL de liquide dans 2 mL de sang.

Lors de la déprotéinisation : 2 mL d'HClO4 + 2 mL de sang = 3,7 mL de surnageant (plasma déprotéinisé).

Or, on ajoute ensuite 0,850 mL de NaHCO3.

La dilution finale sera donc de : $3,7 + 0,85 = 4,55$.

[•] On divise par 1,7 pour avoir le résultat pour 1 mL de plasma (la mesure s'est faite pour 1,7 mL).

Annexe 5 : dosage de l'acétoacétate (cône 1):

A) Principe :

Méthode de J. Mellanby & D.H. Williamson modifiée [64] : méthode enzymatique spectrophotométrique.

On provoque cette fois-ci la réaction inverse : la réduction de l'acétoacétate toujours par l'enzyme 3-HBDH (3-hydroxybutyrate deshydrogénase) et en présence cette fois de NADH (Nicotineamide-Adénine Dinucléotide réduit) :



La diminution de l'extinction à 340 nm (proche ultra violet) mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre due à l'oxydation de NADH en NAD⁺ est proportionnelle à la quantité d'acétoacétate présente dans l'échantillon de plasma déprotéinisé et neutralisé.

Cependant, comme on a remarqué que la 3-HBDH peut posséder une partie de Lactate DésHydrogénase [LDH) et qu'il risque d'y avoir dans l'échantillon du pyruvate [13], on sait que la réaction suivante peut consommer du NADH et ainsi fausser les mesures de l'acétoacétate :



On réalisera donc en premier lieu un dosage du pyruvate selon la méthode de J.V. Passonneau et O.H. Lowry modifiée [70] préalablement à celui de l'acétoacétate afin de consommer tout le pyruvate éventuellement présent dans l'échantillon pour qu'il ne vienne pas par la suite fausser nos mesures.

(la réaction se déroule en faveur de la formation de lactate dans une solution légèrement alcaline)

B) Réactifs :

1) Tampon Phosphate: (0,1 mol/L ; pH = 6,8)

- KH₂PO₄ (Potassium dihydrogénophosphate)

Dissoudre 1,32 g de KH₂PO₄ dans 100 mL d'eau distillée (ou désionisée).

- K₂HPO₄ (di-potassium hydrogénophosphate = hydrogénophos = phosphate de di-postassium anhydre pur):

Dissoudre 1,74 g de K₂HPO₄ dans 100 mL d'eau distillée (ou désionisée)

Mélanger à volumes égaux les deux solutions (50 mL + 50 mL). Vérifier le pH de la solution ainsi obtenue.

2) NADH :

Dissoudre 10 mg dans 2 mL d'eau distillée.

Solution à 5 mg/mL. 0,1 mL par essai. 20 essais d'où : 2 mL = 10 mg de NAD nécessaires.

annexe 5 (suite)

C) Mode opératoire :

1) Consommation du pyruvate de l'échantillon:

Prise d'essai de 150 μ L de plasma déprotéinisé et neutralisé (cône 1)
+ 1,9 mL de solution tampon + 0,1 mL (=100 μ L) de NADH. Agiter.
Faire une première lecture au spectrophotomètre: DO1
Ajouter ensuite 10 μ L de LDH. Agiter.
Laisser agir le tout 15 minutes environ à température ambiante (25°C). Agiter.
Faire une Deuxième lecture : DO2.

1) Dosage de l'acétoacétate:

Ajouter ensuite 7 μ L d'HBDH (3 bêta-hydroxybutyrate déshydrogénase) à la solution précédente. Agiter.
Attendre au moins 30 min à 25-30°C. Agiter.
Faire une troisième lecture au spectrophotomètre: DO3.

$$dDO = DO2 - DO3.$$

Faire un blanc : 1,9 mL de solution tampon + 100 μ L de NADH + 150 μ L d'eau distillée.

D) Calculs :

$$Q_{\text{essai}} = dDO/6,22 * C * L$$

C = volume dans la cuve en mL

L = largeur de la cuve (= 1 cm)

(Prise d'essai = 0,150 mL) + (tampon avec NADH = 2 mL) + (LDH= 0,01 mL) + (HBDH = 0,007 mL)

d'où C = 2,167 mL

$$\text{donc : } Q_{\text{essai}} = dDO/6,22 * 2,167$$

Pour 2 mL de sang déprotéinisé avec 2 mL d' HClO_4 et dont le surnageant, après centrifugation, a été neutralisé avec 0,850 mL de NaHCO_3 , on obtient 4,55 mL de surnageant.

Comme la prise d'essai est de 0,150 mL, on a donc :

$$Q(\text{en } \mu\text{mol/mL de sang}) = (dDO/6,22) * 2,167 * (4,55/0,15) / 1,7$$

$$\text{Soit : } Q(\text{en } \mu\text{mol/mL}) = dDO * 6,216 \text{ environ}$$

ANNEXE 6 : RESULTATS HEMATOLOGIQUES DES VACHES CETOSIQUES RETENUES :

Dates	N°	Ht	Hb	GR	GB	PNN %	PNN nb	Lympho %	Lympho nb	Mono %	Eosino %	Baso %	Prot
Unités	Vache	%	g/dL	* 10 ⁶ /µL	* 10 ³ /µL	%	* 10 ³ /µL	%	* 10 ³ /µL	%	%	%	g/L
VALEURS USUELLES		24-42 [99]	8-15	5-10	4-12	25-30	0,6-4	60-62	2,5-7,5	2-5 %	1-5 %	Env 0 %	61-73 [99]
12/12/2003	V1	34	13,1	8,17	5,34	15	0,801	83	4,432	2	0	0	79
15/12/2003	V2	33,5	11,8	6,18	6,79	12	0,8148	86	5,839	0	2	0	70
18/12/2003	V3	34,5	12,3	7,10	10,73	39	4,185	51	5,472	2	8	0	72
10/01/2004	V4	38,9	12,5	7,2	11,6	52	6,032	45	5,22	0	3	0	84
10/01/2004	V5	40,8	12,7	6,8	18,9	32	6,048	58	10,788	3	7	0	76
02/02/2004	V6	27,9	10	6,73	10,72	41,2	4,417	49,3	5,285	7,4	0,8	1,3	66
02/02/2004	V7	37,3	13,6	8,71	6,47	24,6	1,592	68,3	4,419	6,5	0	0,6	70
10/02/2004	V8	?	?	?	?	15	?	75	?	3	7	0	?
16/02/2004	V9	40,5	12,6	8	9,6	43	4,128	51	4,896	0	6	0	80
19/03/2004	V10	30,2	9,9	6	7,5	34	2,55	65	4,875	1	0	0	72
10/05/2004	V11	27	9,8	5	18,1	66	11,946	32	5,792	1	1	0	84
11/05/2004	V12	39	14,8	6,1	9,2	59	5,428	40	3,68	0	1	0	84
10/01/2004	VT	36,2	12,5	7,2	6,2	40	2,48	54	3,348	2	4	0	70
Moyenne des vaches céto-siques		34,87	12,1	6,91	10,45	36,07	4,36	58,63	5,518	2,16	2,98	0,16	76,1

Rem : mm³ = µL, % = pourcentage, Ht = hématocrite, Hb = concentration en hémoglobine, GR = nombre d'hématies, GB = nombre de globules blancs, PNN = polyménucléaires neutrophiles, lympho = lymphocytes, nb = nombre, mono = % de monocytes, eosino = % de polyménucléaires éosinophiles, baso = % de polyménucléaires basophiles, prot = protéinémie, V = vache, VT = vache témoin.

Les résultats des vaches situés au-dessus des valeurs usuelles sont soulignés et en gras, tandis que ceux des bovins en-dessous de ces valeurs usuelles sont en italique et plus clairs.

ANNEXE 7 : RESULTATS BIOCHIMIQUES DES VACHES CÉTOSIQUES RETENUES :

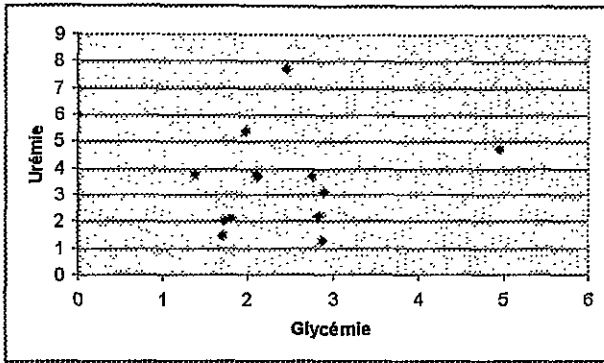
N°	Nb de jours après MB	Insuline	Glycémie	Urée	ASAT	GGT	TG	Cortisol	bhb	acéto	bhb+a	Type de Cétose	Nb de Cx BU	R
		µU/ml	mmol/L ou g/L	mmol / L	U / L	U / L	mmol / L	mmol/L	µmol/ml	µmol/ml	µmol/ml	Primaire ou secondaire	0 à 4	
VALEURS USUELLES		7-25 [41]	2,1-3,1 [96] [4] soit 0,4-0,55 g/L	3-8,3 [1] [5]	45-110 [1]	5-25 [1]	0,17-0,51	15-19 [13]	0,291-1,235 [4] [5]	0-0,15 [13]				
V1	15	7	2,12	3,7	101	33,7	0,18	24	1,970	0,027	1,997	II	3	PH
V2	11	8	2,84	2,2	55	42,2	0,09	15	0,693	0,164	0,857	I	3	PH
V3	30	11	1,37	3,8	75	17,1	0,16	15	3,953	1,04	4,993	I	3	M
V4	49	10	2,45	7,7	53	15,8	0,17	50	0,602	0	0,602	II	3	M
V5	21	2	1,69	1,5	67	15,3	0,1	13	1,557	0,059	1,616	II	3	M
V6	46	17	2,1	3,8	103	36,8	0,21	71	1,494	0,132	1,626	II	3	PH
V7	31	2	1,8	2,1	154	43,5	0,18	31	3,136	0,652	3,788	II	2	PH
V8	21	8	1,73	2	48	18,6	0,13	19	3,668	0,409	4,077	I	4	M
V9	17	11	2,76	3,7	116	16,2	0,13	28	1,985	0,415	2,400	I	2	PH
V10	34	10	2,89	3,1	57	23,3	0,12	5	1,678	0,288	1,966	II	4	PH
V11	32	6	1,96	5,4	146	27,2	0,17	34	1,066	0,085	1,151	II	3	PH
V12	12	19	4,95	4,7	276	23,6	0,2	57	2,392	0,211	2,603	II	4	PH
VT = VT13	12	7	2,88	1,3	78	16,4	0,1	20	0,671	0	0,671	Témoin	2	M
Moyenne des vaches cétoSIques		9,25	2,39	3,64	104,25	26,11	0,15	30,17	2,02	0,29				

Rem : Nb = nombre, MB = mise-bas, N° = numéro, V = vache, VT = Vache Témoin, insuline = insulinémie, urée = urémie, ASAT = activité de l'asparatase amino-transférase plasmatique, GGT = activité de la gamma glutamyl transférase plasmatique, TG = triglycéridémie, cortisol = cortisolemie, bhb = concentration plasmatique en bêta hydroxybutyrate, acéto = a = concentration plasmatique en acétoacétate, R = race, PH = Prim' Holstein, M = Montbeliarde.

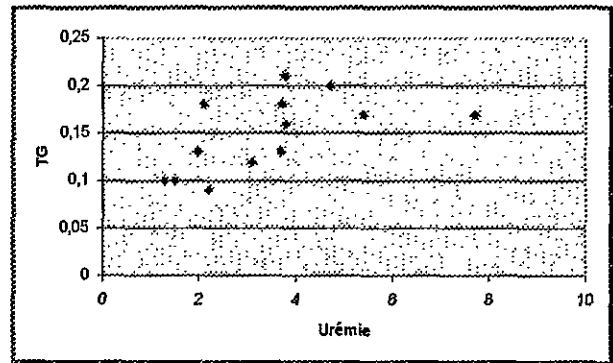
Nb de Cx BU = nombre de croix à la bandelette urinaire.

Les résultats des vaches situés au-dessus des valeurs usuelles sont soulignés et en gras, tandis que ceux des bovins en-dessous de ces valeurs usuelles sont en italique et plus clairs.

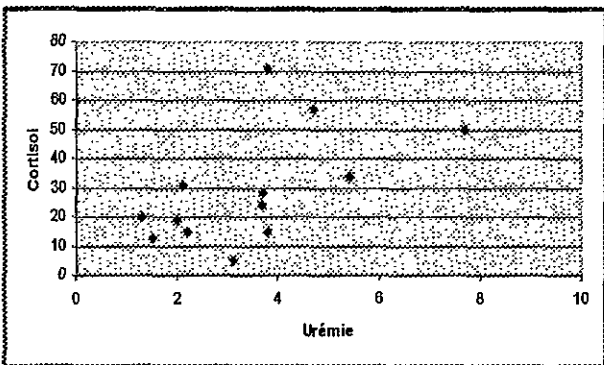
**Annexe 8 : Diagrammes de dispersion des paramètres biochimiques
ayant une corrélation significative :**
(coefficients de corrélation de rang de Spearman, α =risque)



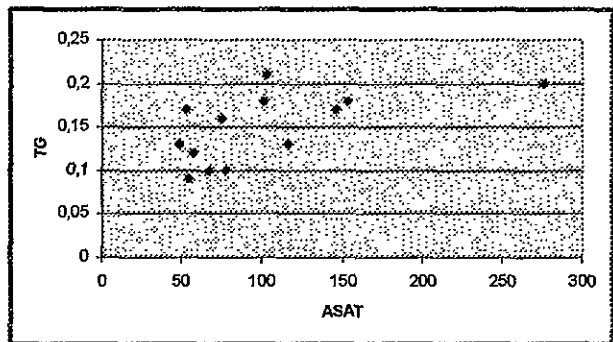
$r_{\alpha}=0,528$. $\alpha=10\%$.



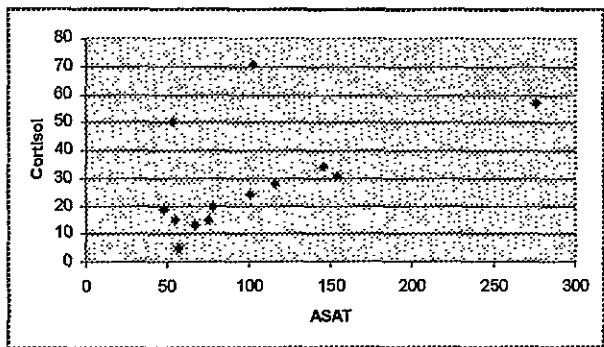
$r_{\alpha}=0,623$. $\alpha=5\%$.



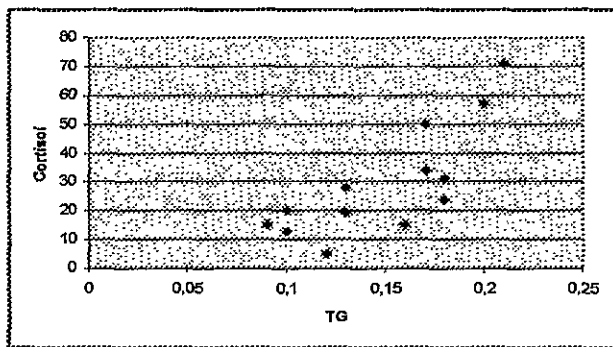
$r_{\alpha}=0,617$. $\alpha=5\%$.



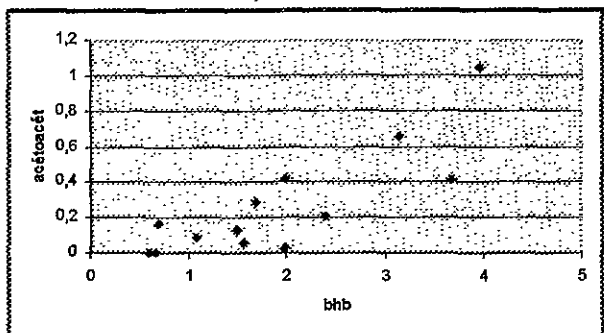
$r_{\alpha}=0,597$. $\alpha=5\%$.



$r_{\alpha}=0,575$. $\alpha=5\%$.



$r_{\alpha}=0,808$. $\alpha<1\%$.



$r_{\alpha}=0,823$. $\alpha=1\%$.

MEURANT Céline

Physiopathologie de la cétose de la vache laitière et analyse des profils épidémiocliniques et biochimiques de cas spontanés.

Thèse Vétérinaire : Lyon , 2004

RESUME :

La cétose de la vache laitière haute productrice fait suite à un dérèglement des métabolismes lipidiques et glucidiques. Nous nous sommes attachés ici à distinguer différentes formes de cétooses du point de vue épidémiologique, clinique et biologique par l'étude de cas spontanés. Notre objectif était de démontrer l'existence de deux types de cétooses primaires : la cétose hypoglycémique (la plus classiquement décrite) survenant à proximité du pic de lactation et liée à une inadéquation entre l'énergie apportée par l'alimentation et celle qui est nécessaire pour l'entretien et la production lactée, et la cétose normo- ou hyperglycémique se manifestant dans les jours qui suivent le part chez des vaches arrivées obèses au vêlage et qui semblerait liée à une certaine insulino-résistance associée à une sensibilité exacerbée aux hormones lipolytiques. Même si le traitement et la prophylaxie de ces deux formes sont souvent proches, il paraîtrait judicieux de les distinguer cliniquement tout d'abord, puis par quelques analyses simples ensuite, afin d'adapter la stratégie thérapeutique et préventive.

MOTS CLES :

- Cétose
- Vache laitière
- Acétonémie
- Pathologie métabolique

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur RICHARD
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur BEZILLE
2ème Assesseur :	Monsieur le Docteur GRANCHER

DATE DE SOUTENANCE :

27 Octobre 2004

ADRESSE DE L'AUTEUR :

5, Route de Fallières
88200 Remiremont