

---

**Effets de la teneur en fibre et en amidon de la ration sur l'évolution du pH dans le rumen et le réticulum ainsi que sur la performance de production de vaches Holstein en lactation**

---

**Rapport final  
(Projet 16-3-25)**

**Rédigé par:**

**Eveline Sandri, M.Sc., étudiante stagiaire, CRSAD**

**Janie Lévesque, agr., M.Sc., CRSAD**

**En collaboration avec :**

**Daniel Rico, Ph.D., CRSAD**

**José-Luis Martínez-González, M.Sc., étudiant stagiaire, CRSAD**

**Yvon Couture, Ph.D., Université de Montréal**

**Rachel Gervais, agr. Ph.D., Université Laval**

**1 mars 2018**

## **ÉQUIPE DE RÉALISATION**

Responsables du projet : Janie Lévesque, chargée de projets et Yan Martel-Kennes, directeur scientifique, CRSAD

Étudiante : Eveline Sandri, étudiante stagiaire, CRSAD

Ouvriers agricoles : Jonathan Moreau, Emmy Jacobs, Sébastien Coursol, Raphaël Garon et Michaël Benoit, CRSAD

Autres professionnels impliqués : Yvon Couture, chercheur, Université de Montréal; Rachel Gervais et Daniel Rico, chercheurs, Université Laval; José-Luis Martínez-González, étudiant stagiaire; CRSAD; Alain Fournier, conseiller en productions laitière et bovine, MAPAQ qui nous a malheureusement quitté au cours de l'année 2016.

## **PARTENAIRES FINANCIERS ET COLLABORATEURS**

Programme de développement sectoriel\_Volet 3 - Appui à l'innovation en réponse à des enjeux sectoriels prioritaires, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD)

Université de Montréal

Université Laval

Directions régionales du Centre-du-Québec, MAPAQ

Valacta

## **SITE EXPÉRIMENTAL**

Centre de recherche en sciences animales de Deschambault

## **REMERCIEMENTS**

Des remerciements sont attribués aux partenaires et collaborateurs, mais également à ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la présente étude :

La compagnie eCow, Royaume-Uni

Novalait et Les producteurs de lait du Québec pour leur appui au projet

Coralie Brayat, stagiaire, Université CLERMONT AUVERGNE, France

# TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction.....	1
1 Matériels et méthodes .....	4
1.1 Dispositif expérimental et traitements.....	4
1.2 pH ruminal et réticulaire .....	4
1.3 Consommation, production laitière et composants du lait.....	5
1.4 Profil en acides gras du lait et des RTM .....	6
1.5 Taille des particules des RTM, refus et fèces .....	7
1.6 Acides gras volatils du rumen.....	7
1.7 Paramètres sanguins .....	8
1.8 Microbiote du contenu ruminal et fécal .....	8
1.9 L'indice acidose.....	9
1.10 Analyse statistique .....	9
2 Résultats ET DISCUSSION.....	11
2.1 pH ruminal et réticulaire .....	11
2.2 Consommation et production laitière .....	15
2.3 Composants du lait .....	15
2.4 Profil en acides gras du lait .....	21
2.5 Taille des particules des RTM, refus et fèces .....	24
2.5.1 RTM .....	24
2.5.2 Fèces .....	25
2.6 Lactate et acides gras volatils du rumen.....	26
2.7 Paramètres sanguins .....	27
2.8 Microbiote du contenu ruminal et fécal .....	31
2.9 Classes de susceptibilité à l'acidose .....	35
2.10 Les acides gras du lait et l'acidose .....	36
Conclusion .....	38
Références .....	40

## LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau 1 : Attribution des traitements selon un dispositif permettant d'étudier les effets de l'ASAR et la récupération qui en suit .....	4
Tableau 2 : Ingrédients et composition chimique des rations expérimentales .....	6
Tableau 3 : Rapport entre les particules moyennes retrouvées dans les refus et les RTM au jour 21 de la période selon les traitements alimentaires appliqués ..	25
Tableau 4 : Distribution de la taille des particules retrouvées dans les fèces des vaches au jour 21 de la période selon les traitements alimentaires appliqués .....	26
Tableau 5 : Teneurs en lactate et en acides gras volatils du liquide ruminal selon les traitements alimentaires appliqués.....	27
Tableau 6 : Teneurs en cytokines plasmatiques selon les traitements alimentaires appliqués .....	30
Tableau 7 : Performances des vaches ayant reçu une ration acidogène durant les jours 3, 7, 14 et 21 selon leur degré de susceptibilité à l'ASAR .....	36

# LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1 : Évolutions journalières du pH ruminal mesuré à partir de bolus téléométriques .....	11
Figure 2 : pH ruminal moyen (a), pH minimum (b) et nombre d'heures sous le seuil de pH 5,6 (c) mesuré au niveau du sac ventral du rumen selon les régimes alimentaires appliqués .....	13
Figure 3: pH réticulaire moyen (a), pH minimum (b) et nombre d'heures sous le seuil de pH 5,6 (c) mesuré au niveau du réticulum selon les régimes alimentaires appliqués .....	14
Figure 4: Évolution de la consommation de matière sèche selon les régimes alimentaires appliqués .....	16
Figure 5: Évolution de la production laitière selon les régimes alimentaires appliqués .	16
Figure 6 : Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de la matière grasse du lait selon les régimes alimentaires appliqués .....	17
Figure 7 : Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de protéine du lait selon les régimes alimentaires appliqués.....	19
Figure 8 : Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de lactose du lait selon les régimes alimentaires appliqués.....	20
Figure 9: Évolution de la teneur en urée (a) et en bêta-hydroxybutyrate (b) du lait selon les régimes alimentaires appliqués.....	21
Figure 10: Évolution des acides gras du lait selon les régimes alimentaires appliqués. Ratio C18:1 <i>trans</i> 10 : <i>trans</i> 11 (a) < 16 carbones (b) 16 carbones (c) > 16 carbones (d).....	24
Figure 11: Évolution de la teneur en insuline plasmatique selon les régimes alimentaires appliqués .....	28
Figure 12 : Évolution de la teneur en acides gras non estérifiés selon les régimes alimentaires appliqués .....	29
Figure 13 : Évolution de la teneur en LBP plasmatique selon les régimes alimentaires appliqués. ....	29

## LISTE DES FIGURES (suite)

	Pages
Figure 14 : Diversité bactérienne alpha, selon les méthodes Chao1, Shannon et Simpson, du contenu ruminal et fécal de chaque traitement aux jours 7 et 21 de la période. ....	32
Figure 15 : Diversité bactérienne $\beta$ du contenu ruminal et fécal aux jours 7 et 21 selon les traitements alimentaires appliqués .....	33
Figure 16 : Abondance relative de familles bactériennes retrouvées dans le contenu ruminal et fécal aux jours 7 et 21 selon les traitements appliqués .....	34
Figure 17: Identification de groupes bactériens dans le rumen de vaches en acidose ...	35
Figure 18 : Relation entre les acides gras du lait et l'acidose ruminale.....	37

# INTRODUCTION

L'acidose subaiguë du rumen (ASAR) est un des principaux désordres digestifs observés sur les fermes laitières (Guo et al., 2013). Causée par la consommation excessive d'hydrates de carbone non fibreux qui altèrent le profil de fermentation ruminal, provoque l'accumulation d'acides organiques et la réduction de la capacité tampon du rumen, l'ASAR survient lorsque le pH est sous la barre du 5,6 pendant une longue période (plus de 3 heures consécutives par jour) (NRC, 2001). Les problèmes majeurs rencontrés en présence d'acidose ruminale sont la baisse de la consommation de matière sèche, la réduction de la production laitière et de la synthèse de la matière grasse du lait et la diminution de la digestibilité des aliments. Dans des cas plus extrêmes, de la boiterie, de l'inflammation et des abcès hépatiques apparaissent (Plazier et al., 2008).

La détermination du pH du liquide ruminal est une mesure fiable et précise pour diagnostiquer l'ASAR. Pour cette raison, diverses techniques sont disponibles pour mesurer le pH ruminal en conditions expérimentales ou de terrain (Penner et al., 2006), comme la ruminocentèse (récolte du jus du rumen par voie transcutanée), la technique du tube stomacal inséré par voie orale et celle des sondes à pH, comme les bolus télémétriques. Avec les techniques du tube gastrique oral, des fluctuations diurnes de la fermentation sont observées et il est aussi difficile d'obtenir des échantillons représentatifs de liquide ruminal (Gianesella et al., 2010). Quant à la ruminocentèse, elle serait associée à la présence d'abcès et de péritonites, alors que la mesure du pH ruminal effectuée en insérant un tube stomacal par la gueule de l'animal serait moins précise puisque, lors de l'aspiration du liquide ruminal, la salive viendrait contaminer et tamponner le milieu, ce qui amènerait un biais dans les données (Duffield et al., 2004). Ces techniques qui évaluent le pH ruminal ne sont pas prises en continu et ne permettent pas de voir les fluctuations de pH qui surviennent dans le temps alors qu'il est reconnu que le diagnostic de l'ASAR repose sur une baisse du pH en dessous de 5,6 pendant plusieurs heures consécutives d'une journée (Alzahal et al., 2007; Colman et al., 2010). Ainsi, l'insertion d'une sonde à pH, directement dans le rumen de l'animal, est la meilleure méthode pour évaluer en temps réel et en continu le pH ruminal (Dado et Allen, 1993). D'ailleurs, la méthode de référence connue pour détecter ce désordre métabolique à partir d'une sonde à pH est basée sur des mesures de pH enregistrées au niveau du rumen (sac ventral), mais requiert cependant l'usage de vaches

fistulées. La technologie des bolus téléométriques, développée pour un usage à la ferme, permettrait une lecture fréquente (toutes les 5-15 minutes) du pH du rumen en temps réel sur un nombre important de jours et à distance. Cette sonde de mesure du pH, insérée par la gueule de l'animal via un lance capsule, se retrouverait dans le réticulum plutôt que dans le rumen des animaux où les mesures de pH sont généralement plus élevées et plus stables que celles mesurées dans le rumen (Li et al., 2013). Kimura et al. (2012) ont démontré qu'il existe une corrélation positive entre le pH mesuré dans le réticulum et celui du rumen et qu'il est possible de détecter l'ASAR chez les vaches laitières à partir des mesures en continu du pH du réticulum. Dans un objectif de rendre utilisable cette technologie aux producteurs laitiers, il est essentiel de connaître les valeurs cibles de pH du réticulum associées à l'ASAR. La corrélation des valeurs de pH, entre celles mesurées dans le sac ventral du rumen et celles du réticulum, est donc requise.

Outre les effets sur le pH du réticulum et du rumen, l'ASAR aurait un impact sur le métabolisme de la vache puisque la composition du lait de même que la santé de l'animal sont altérées lorsque ce syndrome survient. Par exemple, les concentrations sanguines d'insuline, d'acides gras non estérifiés (AGNE), de protéine de liaison aux lipopolysaccharides (LBP) de même que celles des cytokines sont modifiées lorsque la vache est en acidose ruminale. En présence d'acidose ruminale, un pic d'insuline pourrait provoquer une diminution des teneurs en acides gras libres (ou non estérifiés) dans le sang et influencer, ainsi à la baisse, le taux de matière grasse du lait, puisque l'insuline contrôle la mobilisation du tissu adipeux et par conséquent, la libération des acides gras libres dans la circulation. De plus, certaines populations bactériennes, liées à l'acidose et qui sont retrouvées dans le rumen et l'intestin des vaches peuvent provoquer la production de lipopolysaccharides toxiques qui arrivent dans la circulation sanguine. Ainsi, les changements de concentrations de ces paramètres et la présence de certaines bactéries lors d'une acidose ruminale peuvent également devenir des indicateurs de la présence d'une ASAR chez la vache laitière et pourraient devenir des moyens non invasifs pour diagnostiquer ce désordre métabolique.

Il y a aussi un intérêt grandissant de compréhension du rôle potentiel des acides gras du lait comme outil diagnostique de la fonction ruminale (Colman et al., 2010). Il est reconnu qu'un faible pH ruminal, engendré par la consommation de rations riches en concentrés, peut conduire à l'ASAR et altérer la biohydrogénation des acides gras en provenance des aliments (étape de la transformation digestive des gras dans le rumen). Dans ce contexte, la voie de la



biohydrogénation dévie vers une augmentation de la production d'acides gras C18:1 trans-10 et C18:2 trans-10, cis 12 (ALC). Ce dernier étant un puissant inhibiteur de la lipogenèse mammaire ou, en d'autres mots, de la synthèse de la matière grasse du lait (Griinari et al., 1998; Enjalbert et al., 2008).

Ainsi, l'objectif de ce projet était d'évaluer les changements de pH au niveau du réticulum et du rumen et de différents paramètres de lactation chez des vaches laitières recevant des rations contenant des teneurs différentes en fibres et en amidon. Il s'agissait également de valider l'utilisation et l'interprétation des mesures du pH du rumen mesuré en continu à l'aide de bolus téléométriques et de déterminer la relation entre la production de certains acides gras du lait, le pH du rumen et les conséquences métaboliques de l'ASAR. L'étude permettra également de comparer les performances de vaches tolérantes et sensibles à l'acidose.

# 1 MATÉRIELS ET MÉTHODES

## 1.1 Dispositif expérimental et traitements

Douze vaches Holstein fistulées ( $691 \text{ kg} \pm 57$ ), du troupeau permanent du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD ; Deschambault, QC), ont été subdivisées en 2 groupes et assignées au hasard selon leur stade de lactation (A :  $89,8 \pm 42 \text{ JEL}$ ,  $40,8 \pm 5,8 \text{ kg de lait/j}$  et B :  $170,3 \pm 25,4 \text{ JEL}$ ,  $30,2 \pm 5,9 \text{ kg de lait/j}$ ) aux différents traitements. La phase animale s'est déroulée de décembre 2016 à mars 2017. Les animaux étaient logés individuellement en stalles et avaient accès à de l'eau en continu. Deux rations ont été offertes : (1) une ration contenant une forte proportion de concentrés de sorte à induire l'ASAR (38 % de concentrés ; ration acidose) ; (2) une ration dite conventionnelle contenant une plus faible proportion de concentrés (20 % de concentrés ; rations témoin et de récupération). Trois périodes expérimentales de 21 jours, précédées d'une période d'adaptation de 21 jours, ont été réalisées. Dépendamment de la période, les vaches recevaient en alternance chacun des traitements en séquence fixe i.e. induction de l'acidose subaiguë suivie par une période de récupération (Tableau 1).

**Tableau 1** : Attribution des traitements selon un dispositif permettant d'étudier les effets de l'ASAR et la récupération qui en suit

Attribution	Pré-expérience	Période 1	Période 2	Période 3
1	Témoin	Témoin	Acidose	Récupération
2	Acidose	Récupération	Témoin	Acidose
3	Témoin	Acidose	Récupération	Témoin

## 1.2 pH ruminal et réticulaire

Le pH dans le rumen et le réticulum a été mesuré en continu selon la méthode de Dado et Allen (1993). Des bolus télémétriques commerciaux (2 par vache), équipés de sonde à pH (eCow Devon Ltd, Devon, UK), ont été insérés dans l'animal via la fistule, soit un dans le réticulum et un autre dans le sac ventral du rumen. Afin de s'assurer que le bolus introduit dans le rumen demeure en tout temps dans la partie ventrale, une pesée a été suspendue à celui-ci. Ils ont été introduits juste avant l'alimentation (~ 9h30) et le pH a été enregistré toutes les 5 minutes durant une période de 24 heures aux jours 0, 3, 7, 14 et 21 de chaque période. Chaque jour où les bolus étaient introduits dans chacune des vaches, ceux-ci étaient calibrés (pH 4,0 et 7,0 à 39°C) avant l'insertion, ainsi qu'à la fin de la période de mesure. Au retrait, les données qui se situaient en

dehors de  $\pm 0,1$  unité de pH de la valeur de calibration ont été éliminées. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Igor Pro 6.2.2.2 (WaveMetrics Inc., Lake Oswego, OR), tel que décrit par Rico et al. (2014).

### **1.3 Consommation, production laitière et composants du lait**

Les vaches étaient nourries à volonté une fois par jour (10h00) avec des rations totales mélangées (RTM). Les quantités servies ont été ajustées chaque jour selon l'ingestion du jour précédent de sorte à prévoir 10 % de refus. Les rations étaient composées d'ensilages de maïs et de luzerne, de tourteau de soya, de fin gluten, de maïs moulu et d'un prémix commercial de vitamines et de minéraux (Tableau 2). Les quantités des ensilages à incorporer aux RTM ont été ajustées chaque semaine selon leur teneur en matière sèche (MS). La consommation volontaire de matière sèche (CVMS) a été déterminée en considérant les MS offertes et refusées et a été évaluée aux jours 0, 3, 7, 10, 14, 17 et 21 de chaque période.

Durant l'essai, les RTM ont été échantillonnées chaque semaine et congelées à  $-20^{\circ}\text{C}$ , séchées dans un four à air forcé à  $55^{\circ}\text{C}$  pendant 96h et moulues. Des échantillons composites ont par la suite été formés par période et analysés pour la MS, PB, ADF, NDF et l'amidon par des procédures de chimie humide. Les vaches ont été traitées 2 fois par jour à 7h30 et 16h30 et la production laitière a été mesurée grâce à un système de balance prévue à cette fin (Flomaster Pro, DeLaval, Tumba, Suède) aux jours 0, 3, 7, 10, 14, 17 et 21 de chacune des périodes. Des échantillons de lait des traites du soir et du matin ont été prélevés et mélangés aux jours 0, 3, 7, 14 et 21. Ils ont été entreposés à  $4^{\circ}\text{C}$  avec du Bronopol (2-bromo-2-nitropropane-1,3-dio), qui est un agent de conservation, et acheminés chez Valacta (Sainte-Anne-de-Bellevue, QC, Canada) pour l'analyse des composants (matières grasses, protéines, lactose, cellules somatiques, BHB et urée). L'analyse des composants du lait a été effectuée par spectroscopie d'absorption infrarouge avec un instrument Foss MilkoScan FT 6000 (Foss, Hillerød, Danemark). Le même échantillon a été utilisé pour le comptage de cellules somatiques avec l'appareil Fossomatic FC (Foss). D'autres échantillons ont été conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$  sans préservatif pour l'analyse ultérieure du profil en acides gras.

**Tableau 2** : Ingrédients et composition chimique des rations expérimentales

	Témoin/Récupération	Acidose
<b>Ingrédients, % MS</b>		
Ensilage de maïs	44,74	34,55
Ensilage de luzerne	24,51	22,22
Maïs moulu	4,67	21,73
Foin sec	10,49	5,10
Gluten fin	7,86	6,41
Tourteau de soya	5,08	7,31
Pierre à chaux	0,61	0,62
Minéraux et vitamines 18-5 <sup>1</sup>	2,04	2,06
<b>Composition chimique, % MS</b>		
MO <sup>2</sup>	92,71	93,4
PB <sup>3</sup>	17,18	16,05
NDF <sup>4</sup>	31,03	24,03
ADF <sup>5</sup>	20,51	15,81
AG totaux <sup>6</sup>	2,57	2,80
Amidon	19,95	29,36
<b>Acides gras, g/kg</b>		
C16:0	4,30	4,40
C18:1 <i>cis</i> 9	4,30	5,50
C18:2 <i>cis</i> 9 <i>cis</i> 12	11,00	13,00
C18:3 <i>cis</i> 9 <i>cis</i> 12 <i>cis</i> 15	4,50	3,30
<b>Taille des particules, % MS</b>		
Large (> 19 mm)	24,8	10,9
Moyenne (8 - 18 mm)	38,3	42,0
Petite (1,18 – 8 mm)	31,2	38,7
Très petite (< 1,18 mm)	5,6	8,3

<sup>1</sup> Contient (sur base 100% MS): 18,0% Ca, 5,0% P, 9,5% Na, 6,0% Mg, 45 mg/kg I, 3620 mg/kg Fe, 600 mg/kg Cu, 2000 mg/kg Mn, 3000 mg/kg Zn, 20 mg/kg Co, 480 mg/kg F, 25 mg/kg Se, 300000 IU/kg vitamine A – acétate de rétinol, 100000 IU/kg vitamine D - D3 cholécalciférol, 1500 IU/kg vitamine E - DL- acétate d'alpha tocophérol (La Coop Fédérée).  
<sup>2</sup> MO: matière organique. <sup>3</sup> PB: protéine brute. <sup>4</sup> NDF: fibre détergente neutre. <sup>5</sup> ADF: fibre détergente acide. <sup>6</sup> AG: Acides gras totaux.

#### 1.4 Profil en acides gras du lait et des RTM

Les échantillons de lait ont été décongelés à température pièce et centrifugés à 3 500 × g pendant 30 minutes à 8°C afin d'y prélever l'extrait de gras en surface. Par la suite, la matière grasse du lait a été extraite en utilisant un mélange hexane : isopropanol. Le profil en acides gras du lait a été déterminé selon Boivin et al. (2013) à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Agilent 7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, États-Unis) équipé d'une colonne capillaire CP-Sil-88 (100 m de longueur × 0,25 mm de diamètre interne × 0,20 mm d'épaisseur de film, Agilent Technologies Canada inc., Mississauga, ON, Canada) et d'un détecteur d'ionisation à flamme. De plus, la concentration et le profil en acides gras des RTM ont été

déterminés par chromatographie en phase gazeuse après une méthylation directe (Sukhija et Palmquist, 1988).

### **1.5 Taille des particules des RTM, refus et fèces**

Des échantillons de RTM, collectés chaque semaine, ont été mélangés par période de sorte à former des échantillons composites servant à évaluer la taille des particules des RTM. Quant aux refus alimentaires de chaque vache, l'analyse de la taille des particules a été effectuée individuellement. Ces échantillons ont été collectés au jour 0 et 21 de chaque période. La mesure de la taille des particules des RTM et des refus a été effectuée à partir de la méthode de séparation des particules de fourrages développée par l'université d'État de Pennsylvanie (Heinrichs et Kononoff, 2002). Pour ce qui est des fèces échantillonnées au jour 0 et 21 des périodes, elles ont été collectées directement à la sortie du tractus intestinal dans un sac de plastique et congelées à -20°C pour l'analyse ultérieure de la taille des particules. La taille des particules dans les fèces a été effectuée par tamisage à l'aide d'un analyseur de digestion (Nasco, Fort Atkinson, WI, États-Unis). L'objectif était d'évaluer le tri engendré lorsque des rations acidogènes sont offertes aux vaches et de vérifier si la taille des particules retrouvées dans les fèces peut être un indicateur de la présence d'une ASAR chez la vache laitière.

### **1.6 Acides gras volatils du rumen**

Au jour 0 et 21 de chaque période, du liquide ruminal de chaque vache a été échantillonné pendant une journée aux temps 0, 2, 4 et 6 h après le repas du matin. Afin de recueillir ces échantillons, un long tube métallique muni d'un embout ayant des ouvertures de 1 mm afin de filtrer le contenu ruminal a été introduit dans le rumen des vaches via la fistule. Le liquide a ainsi été aspiré avec une seringue de 60 ml et transféré aussitôt dans des flacons de verre de 20 ml contenant 200 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50 %) et entreposés à -20°C pour l'analyse ultérieure de la concentration des acides gras volatils (AGV) et du lactate. Au moment des analyses, les échantillons de liquide ruminal ont été décongelés à température ambiante et centrifugés à 25,200 × g pendant 15 min à 4°C. Le surnageant a ensuite été transféré dans des microtubes. Le profil en AGV et la teneur en lactate du liquide ruminal ont été déterminés par chromatographie en phase liquide.

## **1.7 Paramètres sanguins**

Des prélèvements sanguins de chaque vache ont été effectués à heure fixe aux jours 0, 3, 7, 14 et 21 de chacune des périodes. Un prélèvement sous la queue des vaches a été effectué dans un tube Vacutainer de 10 ml contenant un anticoagulant (EDTA). Les échantillons sanguins ont été mis sur de la glace et aussitôt centrifugés à 1 800 x g pendant 15 min à 4°C. Le plasma a ensuite été extrait et conservé dans des tubes de plastique à -20°C jusqu'à l'analyse de l'insuline, des acides gras non estérifiés (AGNE), des protéines se liant au lipopolysaccharides bactériens (LBP) et des cytokines. Les concentrations plasmatiques des différents paramètres ont été déterminées à partir de trousse commerciales, telles une trousse Elisa pour mesurer l'insuline bovine (Mercodia AB, Uppsala, Suède) et une autre pour mesurer les AGNE à partir du réactif Wako NEFA-HR (2) (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Allemagne). L'analyse des LBP a été effectuée avec une trousse d'immunoassay enzymatique (Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, États-Unis) et les cytokines par la trousse de cytokines bovines Quantibody Bovine Cytokine Array 1 permettant d'identifier les cytokines IFN alpha, IFN-gamma, IL-13, IL-1 alpha, IL-1 F5, IL-21, IP-10, MIG, MIP-1 beta et TNF alpha (RayBiotech, Norcross, GA, États-Unis).

## **1.8 Microbiote du contenu ruminal et fécal**

Du contenu ruminal et des fèces de chaque vache ont été échantillonnés aux jours 0, 7 et 21 de chaque période. Le contenu ruminal a été prélevé manuellement dans le rumen des vaches via la fistule. Le contenu a été collecté à cinq endroits différents dans le rumen, il a ensuite été mélangé pour former un échantillon composite et une partie de celui-ci a été insérée dans un tube pour congélation à -20°C. Les fèces ont été collectées directement à la sortie du tractus intestinal dans un sac de plastique et congelées à -20°C pour l'analyse ultérieure des populations bactériennes du contenu fécal. Après avoir lyophilisé les échantillons de contenus ruminal et fécal, l'ADN a été extrait et purifié, tel que décrit par Rico et al. (2015a). Par la suite, le séquençage de l'ADN bactérien a été effectué. Les régions variables V3-V4 des gènes ARNr 16S bactériens ont été couvertes par amplification PCR en utilisant les amorces de fusion avec des adaptateurs de séquençage Illumina. Le séquençage à haut débit a été réalisé avec un instrument MiSeq au laboratoire d'analyses génomiques de l'Université Laval (IBIS, Québec, Canada). Les séquences par paires appariées ont été démultiplexées et jointes. Les chimères ont été supprimées en utilisant le logiciel Cutadapt v0.9.4 (M, Martin, 2011). Après prétraitement et filtrage, les séquences sélectionnées ont été regroupées en UTO (Unités taxonomiques

opérationnelles) en utilisant la base de données pick\_open\_reference\_otus.py et l'algorithme de USEARCH (Edgar et Flyvbjerg, 2015) avec le logiciel open source QIIME 1.9.1 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology, version 1.9.1; Caporaso et al., 2010). Chaque UTO a été comparé avec les valeurs de la base de données Greengenes version 13\_8 (DeSantis et al., 2006). L'analyse statistique des profils de diversité des bactéries a été évaluée avec l'indice de diversité alpha (Chao1, Shannon et Simpson) et la diversité bêta, par analyse de coordonnées principales (PCoA), en utilisant le logiciel Phyloseq R.

## **1.9 L'indice acidose**

À partir des données obtenues, les vaches ont été classifiées en deux groupes selon leur degré de susceptibilité à l'ASAR (sensible et tolérante). Tel que rapporté par Gao et Oba (2014), un indice acidose a été calculé en divisant la surface sous la courbe au pH 5,8 par la CVMS pour chacune des vaches qui ont reçu une ration acidogène. Les différences de performances et de pH ont été évaluées entre les deux groupes de vaches afin d'identifier les facteurs associés à une acidose accrue. Cet indice a également été utilisé pour établir la relation entre les acides gras du lait et l'incidence d'acidose chez la vache laitière.

## **1.10 Analyse statistique**

Les données ont été analysées à partir de la procédure MIXED de SAS (version 9.3, SAS Institute inc., Cary, NC, États-Unis) selon un dispositif en mesures répétées. Le modèle incluait les effets aléatoires de la vache et de la période alors que le traitement, le temps et leur interaction étaient considérés comme des effets fixes. Le facteur temps a été la mesure répétée et l'interaction vache X traitement était le sujet. La méthode Kenward-Rogers a été utilisée pour ajuster les degrés de liberté du dénominateur et on a utilisé la structure de covariance de l'ordre 1 d'antépendance (pour des intervalles de temps inégaux). Puisque l'interaction entre les traitements et les groupes de vaches (stade de lactation) n'est pas ressortie significative pour aucun des paramètres analysés, la moyenne de l'ensemble des vaches a donc été utilisée.

Des contrastes établis à priori du groupe témoin vs. induction et témoin vs. récupération ont été effectués chaque jour de collecte. Les effets principaux et les contrastes ont été déclarés significatifs lorsque la valeur de  $P$  était  $P < 0,05$  et de  $P < 0,10$  pour les tendances alors que des valeurs de  $P < 0,10$  et  $P < 0,15$  ont été considérées pour les interactions. Les données ont été transformées selon une fonction logarithmique lorsque la distribution des résidus n'était pas

constante. Les moyennes des moindres carrés et l'erreur-type de la moyenne ont par la suite été transformées à nouveau.

La relation entre les mesures individuelles de pH du rumen et du réticulum ( $n = 33801$ ) a été évaluée en utilisant la procédure REG de SAS. Finalement, un modèle de régression mixte a été utilisé afin d'évaluer la relation entre les mesures de pH, la teneur en gras du lait, le profil en acides gras du lait, les acides gras volatils du rumen, les métabolites et les hormones plasmatiques. Le modèle considérait la vache et la période comme des effets aléatoires de même que les effets linéaire et quadratique de chaque variable. L'effet quadratique était retiré du modèle lorsque  $P > 0,05$ , seulement si l'ajustement du modèle s'améliorait selon le critère d'information Akaike (AIC). Les relations qui ont démontré un coefficient de détermination  $> 0,40$  ont été discutés.



## 2 RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 2.1 pH ruminal et réticulaire

La figure 1 montre deux exemples de l'évolution journalière du pH du rumen mesuré à partir de bolus téléométriques chez des vaches recevant une ration acidogène. On constate qu'il existe une variation importante entre les vaches et que la fluctuation journalière est importante, d'où la nécessité de mesurer le pH en continu comme moyen de diagnostic de l'ASAR chez la vache laitière.

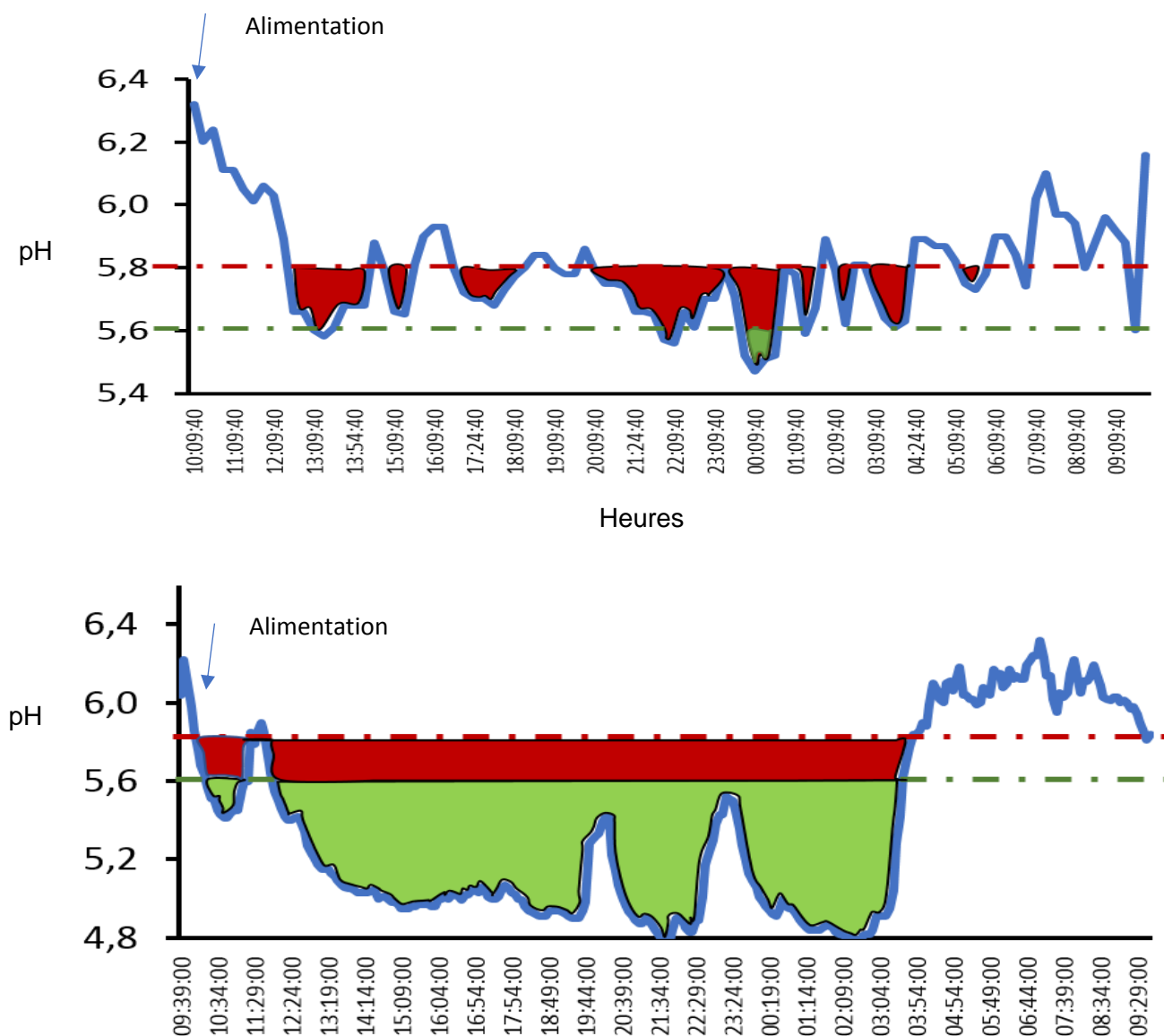


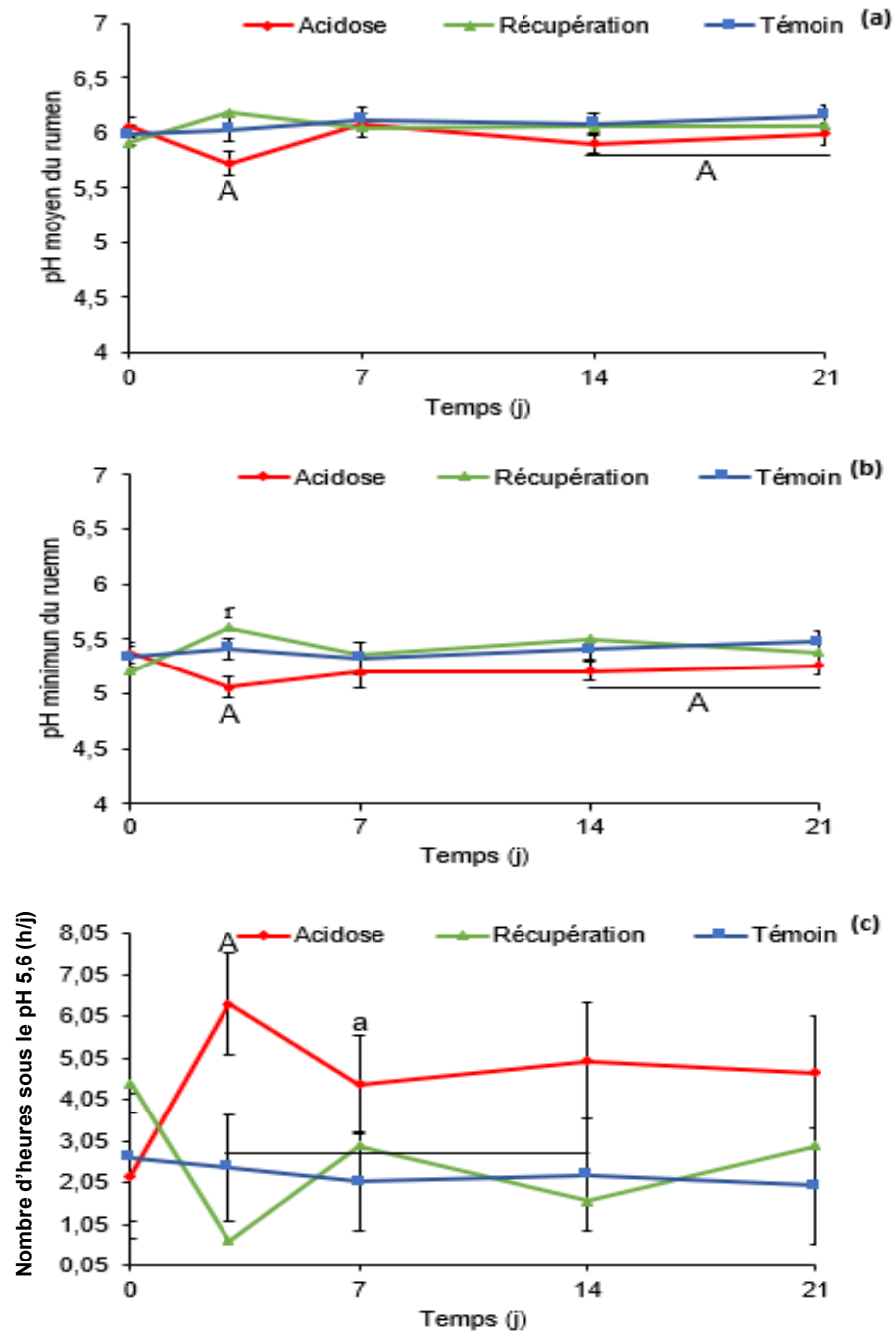
Figure 1 : Évolutions journalières du pH ruminal mesuré à partir de bolus téléométriques

Selon les données du présent essai, les vaches qui ont consommé la ration acidogène ont démontré des valeurs de pH (moyennes et minimums) plus faibles dans le rumen que les vaches témoins aux jours 3, 14 et 21 de la période ( $P < 0,05$ ) (Figures 2 a et b). Le scénario est similaire pour les valeurs de pH enregistrées dans le réticulum. Les différences de pH réticulaire entre les rations acidogène et témoin apparaissent aux jours 3, 14 et 21 pour les pH moyens (Figure 3a) et aux jours 3, 7, 14 et 21 pour les valeurs de pH minimums ( $P < 0,05$ ) (Figure 3b). De plus, les valeurs de pH (moyennes et minimums) mesurées dans le réticulum sont plus élevées que celles mesurées dans le rumen, ce qui concorde avec les résultats obtenus par plusieurs auteurs (Lane et al., 1968; Sato et al., 2012; Kimura et al., 2012). La salive et l'eau consommées par la vache expliqueraient les valeurs de pH plus élevées dans le réticulum.

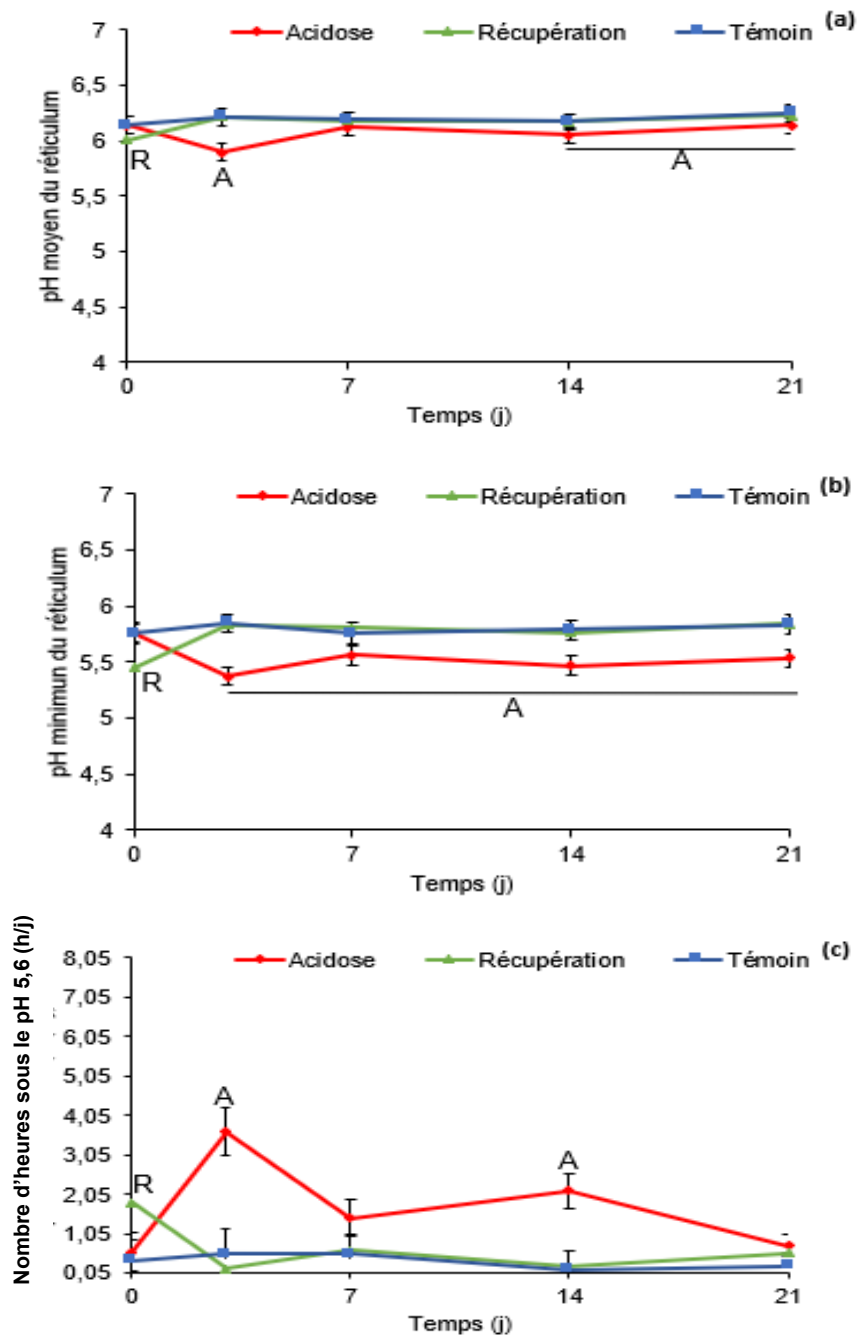
Le maintien du pH du rumen sous la barre de 5,6 pendant plus de 180 minutes (3 heures) est le seuil qui a été établi dans cette expérience pour diagnostiquer l'ASAR. Les vaches qui ont consommé une ration acidogène ont démontré plus longtemps des valeurs de pH du rumen sous le seuil de 5,6 que les témoins. Cet effet est significatif au jour 3 ( $P < 0,05$ ) et une tendance est observée au jour 7 ( $P < 0,10$ ). Cette situation a duré en moyenne 270 minutes / j (ou 4,5 heures), ce qui indique que les animaux étaient en acidose (Figure 2c).

Au niveau du réticulum, le pH s'est également maintenu en dessous de 5,6 pendant une plus longue période pour les vaches consommant une ration acidogène que les animaux témoins aux jours 3 et 14 ( $P < 0,05$ ). Cette situation a duré en moyenne 102 minutes / j (ou 1,7 heure) dans le réticulum (Figure 3c). Selon nos observations, lorsque l'on compare les données de pH enregistrées dans le rumen et le réticulum, il est intéressant de noter que la durée sous la limite de pH 5,6 a été d'environ 2 fois plus courtes dans le réticulum que dans le rumen. Ces résultats concordent avec la faible corrélation observée entre le pH ruminal et réticulaire ( $R^2 = 0,33$ ), ce qui indique que le pH mesuré dans le réticulum n'est pas un très bon indicateur du pH ruminal.

Quant aux vaches en récupération, on remarque au jour 0 que les valeurs de pH (moyens et minimums) mesurées dans le réticulum ont été plus basses chez ces vaches que chez les témoins ( $P < 0,05$ ) et que le nombre d'heures sous la barre de pH 5,6 a été plus long pour ce traitement ( $P < 0,05$ ). Ces différences n'ont toutefois pas été détectées dans le rumen. Ceci pourrait s'expliquer par une plus grande variation du pH mesuré au niveau du rumen que celui évalué dans le réticulum (Li et al., 2013).



**Figure 2** : pH ruminal moyen (a), pH minimum (b) et nombre d'heures sous le seuil de pH 5,6 (c) mesuré au niveau du sac ventral du rumen selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ ; r: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 3:** pH réticulaire moyen (a), pH minimum (b) et nombre d'heures sous le seuil de pH 5,6 (c) mesuré au niveau du réticulum selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; R; Récupération vs. Témoin =  $P < 0,05$ )

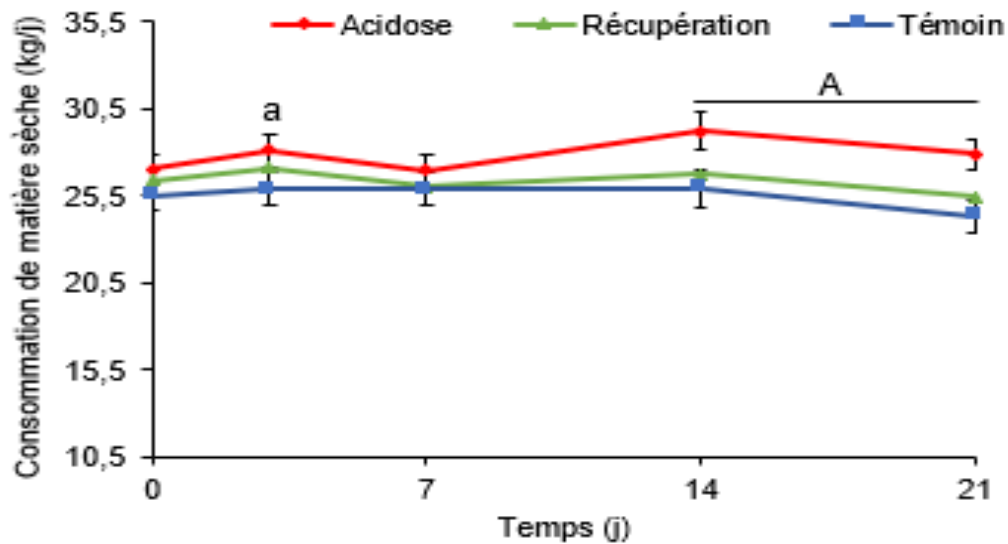
## 2.2 Consommation et production laitière

Par rapport à la ration témoin, les vaches recevant une ration riche en concentrés consomment plus de MS aux jours 14 et 21 de l'expérimentation ( $P < 0,05$ ) alors que la CVMS tend à être supérieure au jour 3 ( $P < 0,10$  ; Figure 4). Cet effet est contradictoire avec certaines études qui démontrent qu'en présence d'acidose, la CVMS diminue (Kleen et al., 2003; Oetzel, 2003). La réduction de la prise alimentaire peut être occasionnée par une digestibilité plus faible de la fibre et une augmentation des acides gras volatils dans le rumen, spécifiquement le propionate (Allen, 2000). En contrepartie, l'augmentation de la CVMS, lorsque des rations acidogènes sont offertes aux animaux, peut s'expliquer par la proportion plus grande de concentrés dans la ration, lesquels ont un taux de passage rapide dans le rumen. Par conséquent, il y aurait moins de limitation physique ce qui permettrait aux vaches de continuer à consommer malgré la chute du pH ruminal.

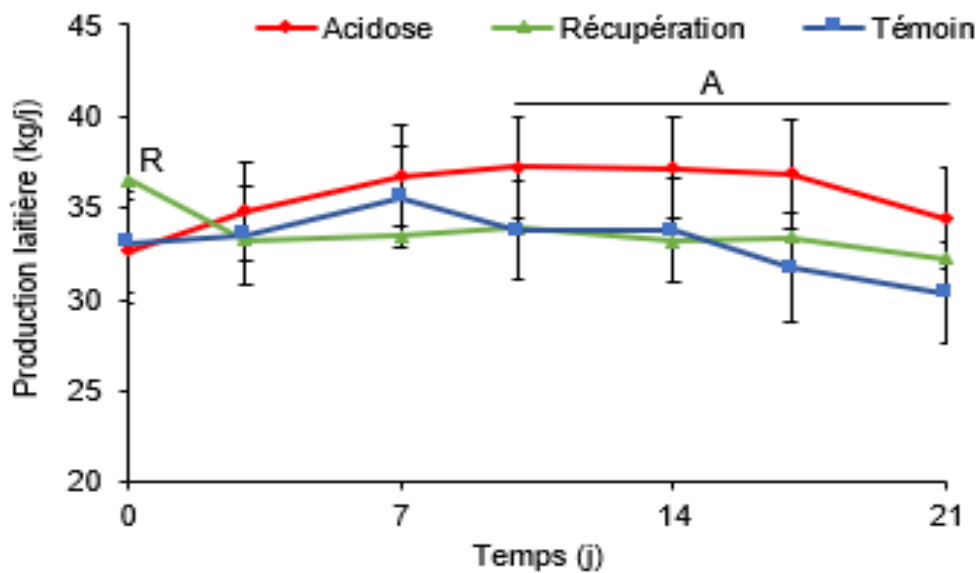
Par rapport au groupe témoin, les vaches consommant une ration riche en concentrés ont produit plus de lait durant les jours 10 à 21 ( $P < 0,05$  ; Figure 5). L'augmentation de la CVMS, la teneur plus élevée en amidon de la ration acidogène et les apports plus grands en énergie peuvent expliquer ces résultats.

## 2.3 Composants du lait

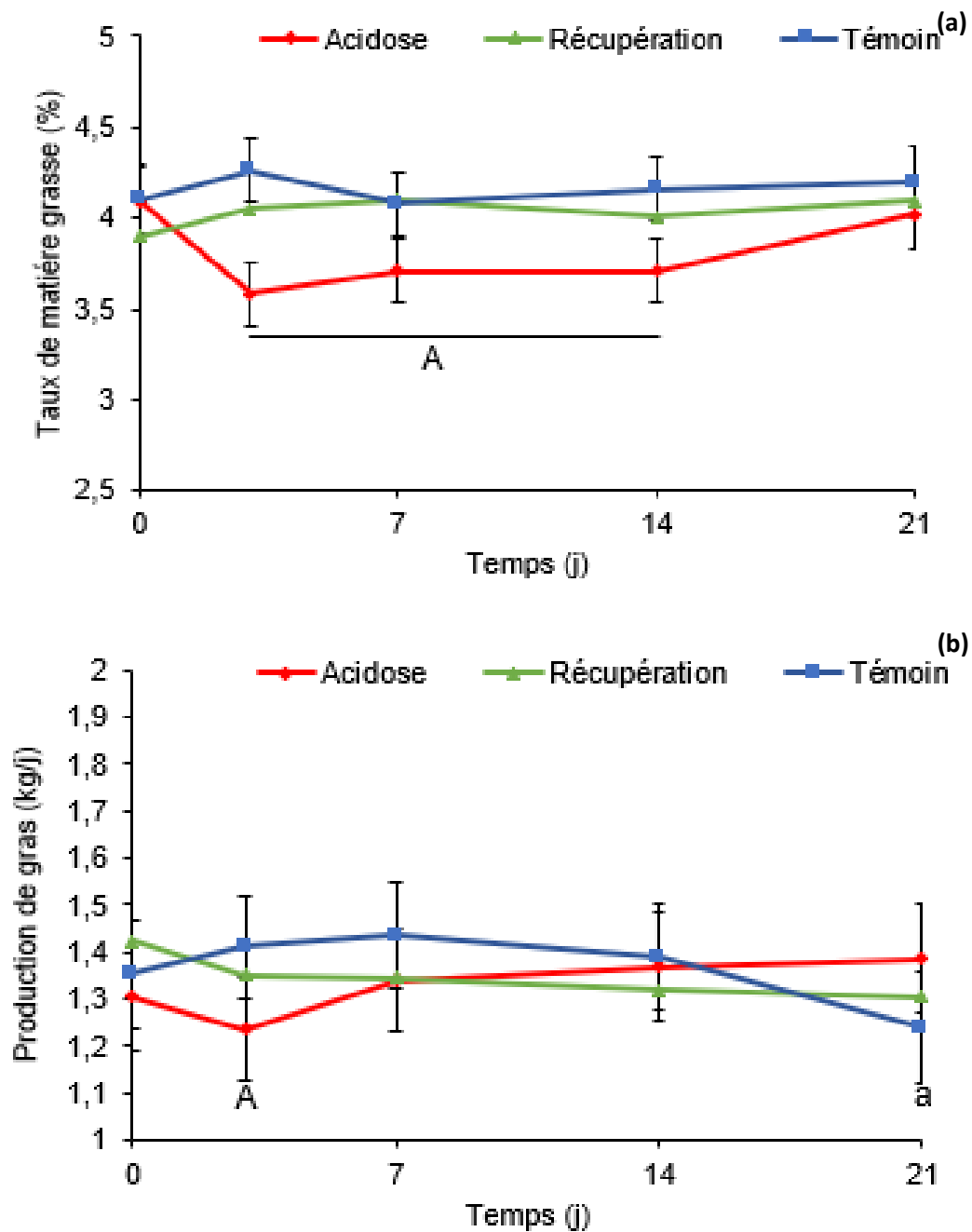
Aux jours 3, 7, et 14 de la période expérimentale, les vaches recevant la ration acidogène produisent dans le lait une teneur plus faible en gras que celles qui ingèrent la ration témoin ( $P < 0,05$  ; Figure 6a) et démontrent une production journalière de gras moins importante au jour 3 ( $P < 0,05$  ; Figure 6b). Ces résultats démontrent que l'inhibition de la synthèse de la matière grasse du lait, associée à des rations acidogènes est soudaine, puisque des effets sont observés après seulement 3 jours de traitement. Cependant, dans la présente étude, la production journalière de la matière grasse du lait n'est pas affectée à long terme et la production laitière des vaches s'améliore dès le jour 10 jusqu'au jour 21 (Figures 5 et 6b). En contrepartie, il est reconnu que l'ASAR entraîne une réduction de la production de la matière grasse du lait chez la vache laitière (Nocek, 1997; Kleen et al., 2003; Oetzel, 2003; Stone, 2004). De plus, selon une étude réalisée sur une ferme laitière de grande taille de l'état de New York aux États-Unis, l'ASAR a provoqué une réduction de la production laitière des vaches de même que la production de gras et de protéine du lait de 2,7 kg par jour ; ce qui s'est traduit par une baisse respective de 0,30 % et 0,12 % (Stone, 1999).



**Figure 4:** Évolution de la consommation de matière sèche selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 5:** Évolution de la production laitière selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; R: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,05$ )

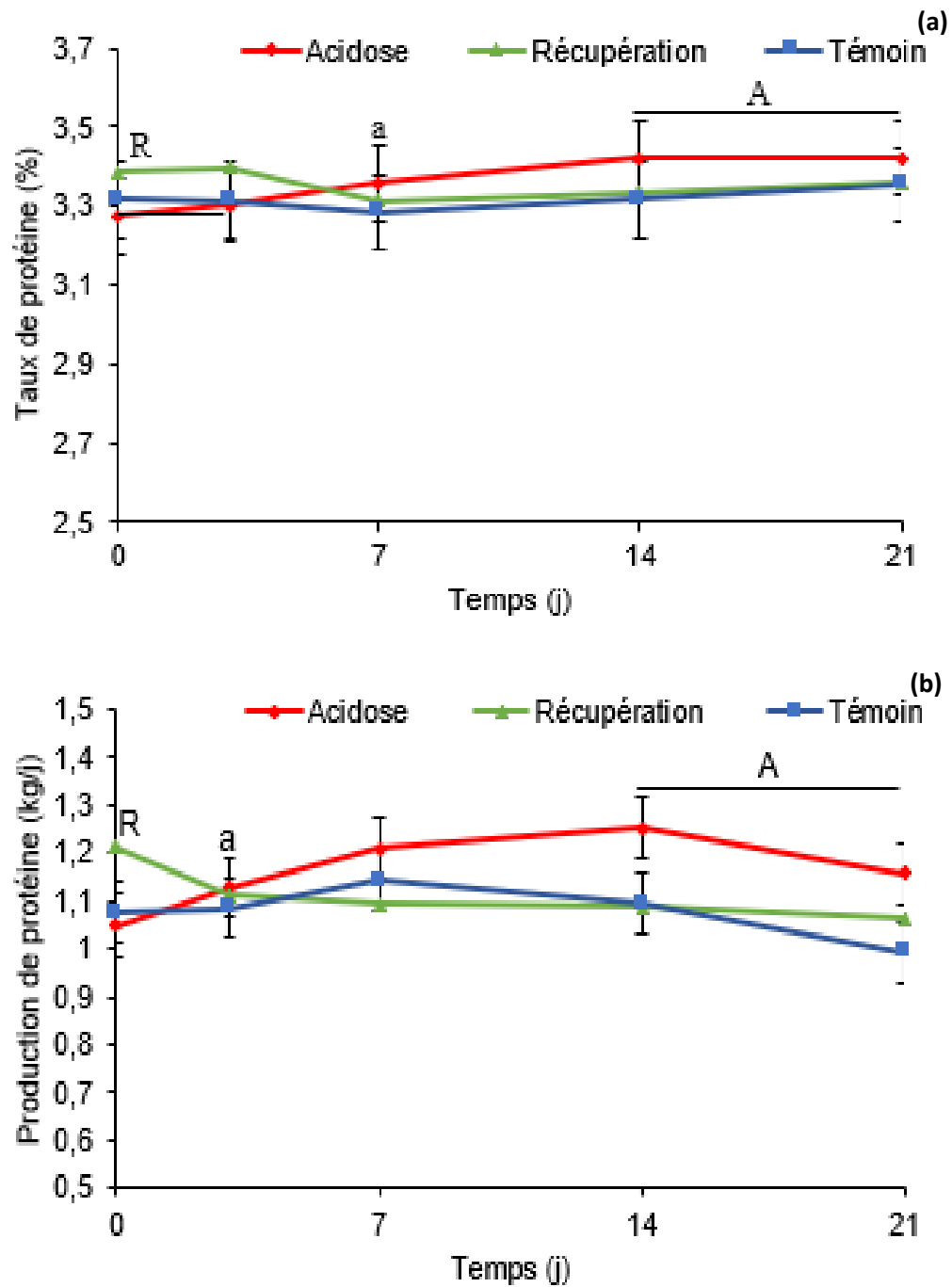


**Figure 6 :** Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de la matière grasse du lait selon les régimes alimentaires appliqués (A; Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ )

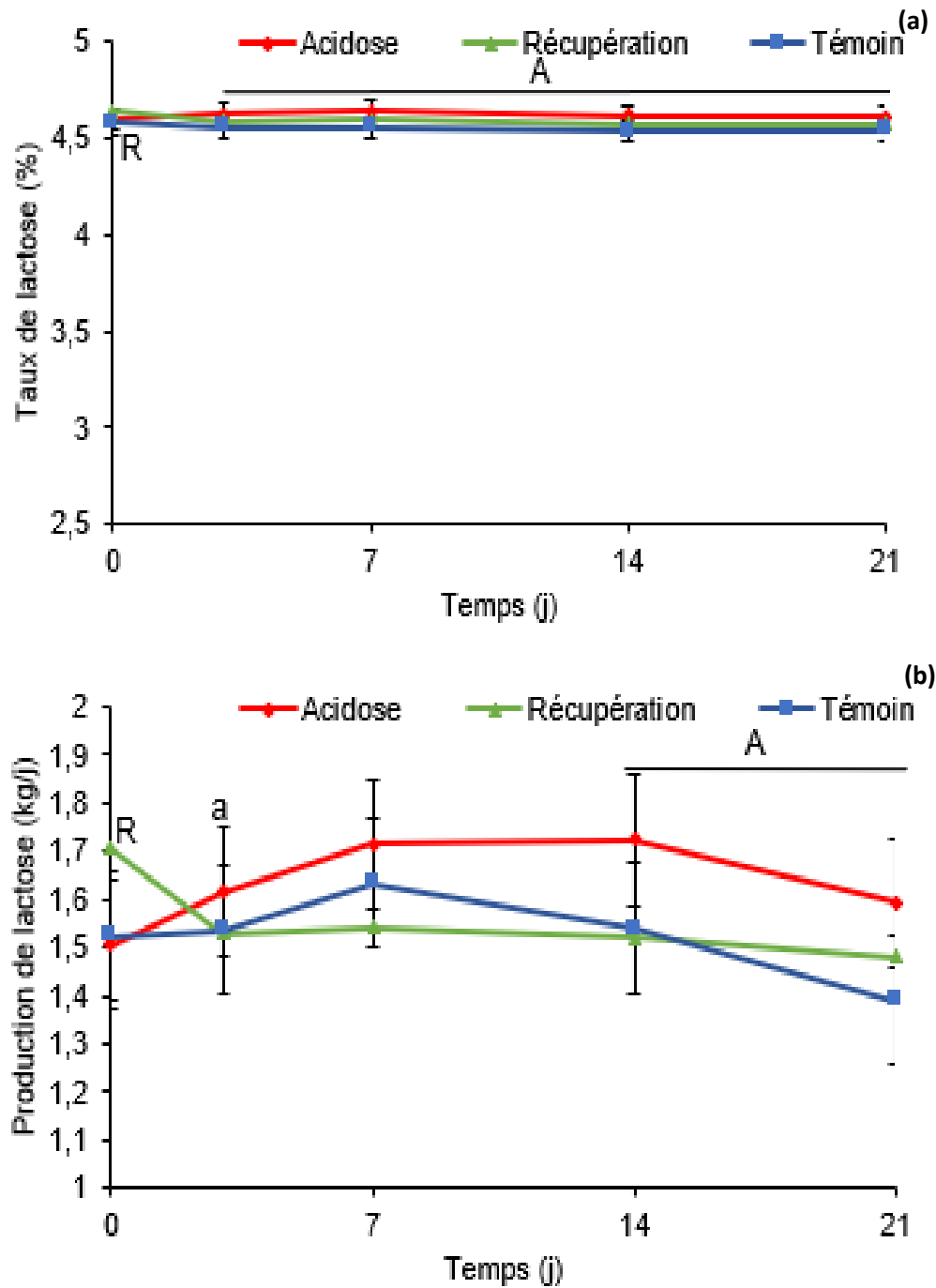
Contrairement à la matière grasse du lait, les teneurs respectives de protéine et de lactose du lait augmentent au 7<sup>e</sup> jour et particulièrement aux jours 14 et 21 ( $P < 0,05$ ) et durant les jours 3 à 21 ( $P < 0,05$ ) lorsque les vaches ingèrent une ration acidogène (Figures 7a et 8a). Quant à la production journalière de ces 2 composants, elle augmente également aux jours 14 et 21 ( $P < 0,05$ ) par rapport au témoin (Figures 7b et 8b). Lors d'une étude où l'on a provoqué l'ASAR chez la vache, l'ajout de comprimés à la ration ou le remplacement de la luzerne par des comprimés de luzerne, a eu pour effet de réduire le pourcentage de la matière grasse du lait et d'augmenter la teneur en protéine du lait (Fairfield et al., 2007; Khafipoor et al., 2007). Le mécanisme de la synthèse de la protéine du lait est sensible à la teneur en énergie de la ration. En effet, l'augmentation de l'insuline dans le sang et de l'énergie disponible favorisent l'incorporation des acides aminés dans les protéines ou, en d'autres mots, la synthèse de la protéine du lait. Tel que rapporté par Medeiros et al. (2010) et Lock et al. (2006), la réduction de la matière grasse du lait causée par les acides gras *trans*-10, *cis*-12 ALC peut, dans certaines situations, faire augmenter la production laitière et/ou la protéine du lait en début lactation.

En ce qui concerne les concentrations de bêta-hydroxybutyrate (BHB) et d'urée dans le lait, les teneurs ont diminué dès le jour 3 et se sont maintenues aussi sous les valeurs du groupe témoin pour le reste de la période (jours 7, 14 et 21) (Figures 9a et b;  $P < 0,05$ ). De plus, aucune différence significative entre les traitements n'a été observée pour les cellules somatiques.

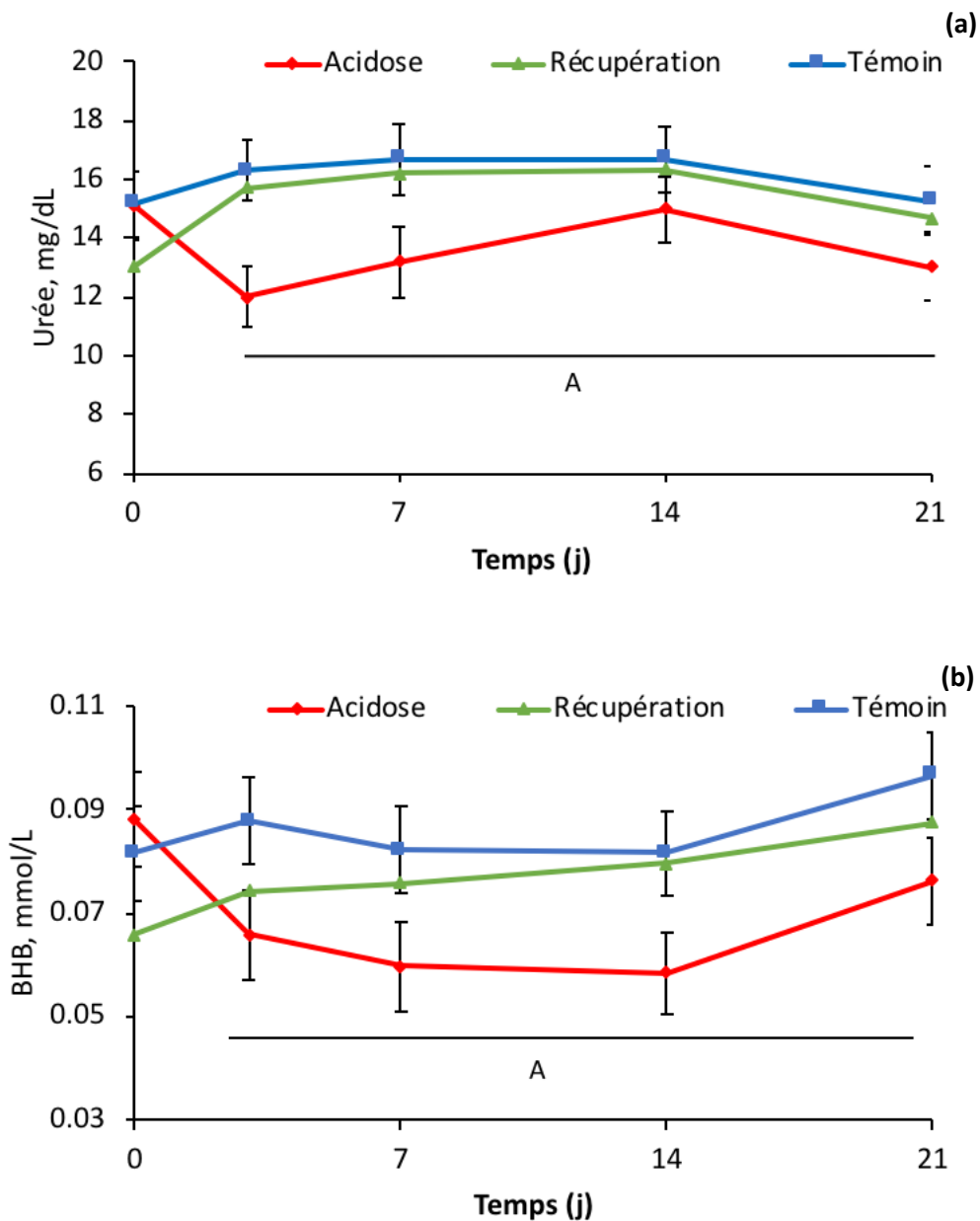




**Figure 7 :** Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de protéine du lait selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; R: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 8 :** Évolution de la teneur (a) et de la production journalière (b) de lactose du lait selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; R: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 9:** Évolution de la teneur en urée (a) et en bêta-hydroxybutyrate (b) du lait selon les régimes alimentaires appliqués (A; Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ )

## 2.4 Profil en acides gras du lait

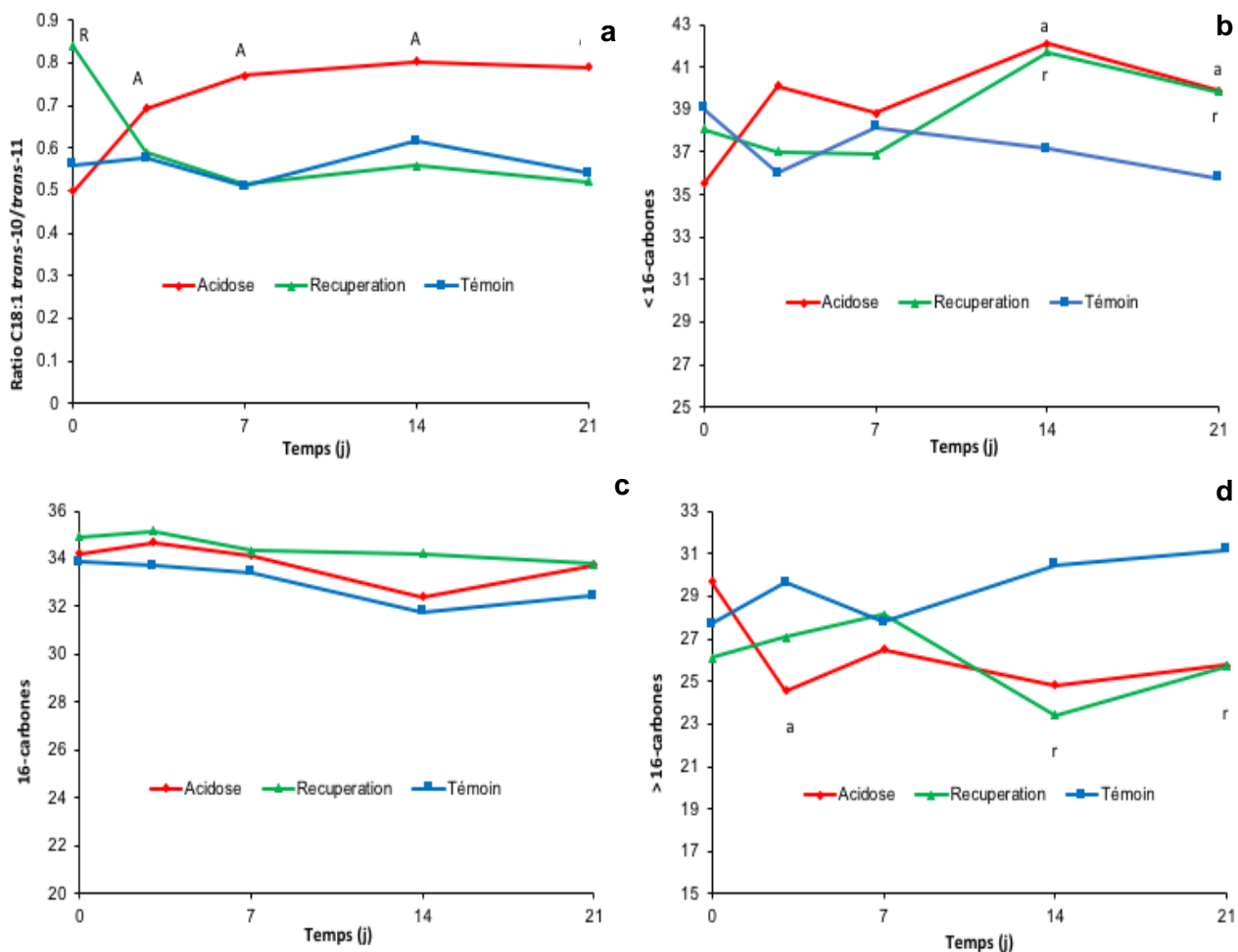
Il est reconnu que l'apparition de faibles pH ruminiaux, causée par une alimentation pauvre en fibre ou élevée en concentrés, entraîne une biohydrogénation incomplète des lipides dans le rumen des vaches et un changement des voies de biohydrogénation (Fuentes, 2009). Des intermédiaires de la biohydrogénation sont ainsi formés et les concentrations des acides gras C18 :1 *trans*-10 et C18 :2 *trans*-10, *cis*-12 (ALC) augmentent dans le lait des vaches. Ce dernier

provoque la chute de la matière grasse du lait et altère le profil en acides gras du lait (Griinari *et al.*, 1998; Enjalbert *et al.*, 2008).

Par rapport aux vaches témoins, on observe une augmentation du ratio des acides gras C18 :1 *trans*-10 : *trans*-11 dans le lait des vaches qui ont consommé une ration acidogène durant les jours 3 à 21 de la période (Figure 10a;  $P < 0,001$ ). Lors du transfert vers une ration de récupération, ce ratio a diminué progressivement et est devenu semblable à celui du témoin dès le jour 3. La somme des acides gras ayant moins de 16 carbones, synthétisés entièrement dans la glande mammaire, a eu tendance à augmenter aux jours 3, 14 et 21 chez les vaches qui ont reçu une ration acidogène (figure 10b). Lors de la récupération, les vaches ont eu tendance à augmenter ces acides gras par rapport aux témoins aux jours 14 et 21 de la période. Quant à la somme des acides gras ayant 16 carbones, synthétisés en partie dans la glande mammaire et aussi en provenance de la circulation sanguine, celle-ci n'a pas été modifiée par aucun des traitements (figure 10c). Finalement, les acides gras du lait de plus de 16 carbones ont eu tendance à diminuer dans le lait des vaches qui ont consommé une ration acidogène aux jours 3, 14 et 21 comparativement aux témoins ( $P < 0,01$ ; Figure 10d). Ces acides gras retrouvés dans le lait des vaches proviennent de la circulation sanguine et représentent les acides gras préformés issus du tissu adipeux et de l'aliment. Lors de la récupération, les vaches ont eu tendance à diminuer ces acides gras par rapport aux témoins aux jours 14 et 21 de la période ( $P = 0,10$ ).

L'augmentation du ratio C18 :1 *trans*-10 : *trans*-11 démontre que la biohydrogénation des lipides dans le rumen des vaches en acidose a été modifiée et a emprunté la voie métabolique du C18 :1 *trans*-10 et du C18 :2 *trans*-10, *cis*-12 (ALC). Celle-ci étant associée à la chute de la matière grasse du lait (Bauman and Griinari, 2003). Cependant, la concentration de C18 :1 *trans*-10 dans le lait des vaches recevant une ration acidogène a représenté seulement 0,5 % des acides gras totaux (résultat non présenté), ce qui est très faible comparativement à ce qui est rapporté dans la littérature. Selon plusieurs auteurs, la baisse de la production de la matière grasse du lait apparaît lorsque la concentration de C18 :1 *trans*-10 est  $> 2$  % des acides gras totaux (Rico et Harvatine, 2013; Rico *et al.*, 2015b). De plus, l'acide gras C18 :2 *trans*-10, *cis*-12 (ALC) dans le lait n'a pas été détecté, ce qui indique que l'intensité de l'ASAR n'a probablement pas été suffisamment grande pour augmenter la production de cet acide gras. De plus, les faibles teneurs en C18 :2 n-6 des rations offertes (1,3 et 1,1 % de la MS; acidose vs. témoin; tableau 2), pourraient aussi être en cause.

Les données de profil en acides gras du lait suggèrent que d'autres mécanismes pourraient permettre d'expliquer la diminution de la synthèse de la matière grasse du lait. De plus, la baisse observée des acides gras de plus de 16 carbones dans le lait des vaches sous un régime acidogène indique qu'il est probable qu'une réduction de la mobilisation du tissu adipeux soit survenue. Ceci est renforcé par l'augmentation de l'insuline et la réduction des AGNE plasmatiques qui ont été observées dans la présente étude chez les vaches qui ont reçu une ration acidogène. Cet aspect sera discuté dans la section 2,7 du rapport.



**Figure 10:** Évolution des acides gras du lait selon les régimes alimentaires appliqués. Ratio C18:1 *trans*10 : *trans* 11 (a) < 16 carbones (b) 16 carbones (c) > 16 carbones (d) (A; Acidose vs. Témoin = P < 0,05; R: Récupération vs. Témoin = P < 0,05; a: Acidose vs. Témoin = P < 0,10; r: Récupération vs. Témoin = P < 0,10).

## 2.5 Taille des particules des RTM, refus et fèces

### 2.5.1 RTM

La ration acidogène contenait une plus grande proportion de particules moyennes (8 à 18 mm) et de tailles inférieures à 8 mm que celles du groupe témoin (89,1 vs. 75,2 % de la ration ; Tableau 3). Par contre, la proportion des différentes particules retrouvées dans les RTM est conforme à celle recommandée par Heinrichs et Kononoff (2002). Par rapport à la ration témoin, les vaches consommant la ration riche en concentrés ont eu tendance à préférer la taille de particules moyennes. En effet, le ratio entre le pourcentage de particules moyennes présentes

dans les refus et celles offertes est de 1,09 vs. 1,22 pour les traitements acidose et témoin, respectivement ( $P = 0,07$  ; Tableau 3). Donc, on constate que les vaches de la présente étude ont trié différemment selon le type de ration offerte. En effet, les animaux ont la capacité de trier les ingrédients les plus appétents d'une ration. Habituellement, les vaches laitières trient leur ration pour ingérer les petites particules de grains au détriment des longues particules de fourrages. Dépendamment de l'intensité du tri, la composition de la ration ingérée par les vaches pourrait différer de celle formulée initialement et celle offerte. Le comportement de triage peut mener à une situation inattendue où la capacité ruminale à tamponner le milieu devient insuffisante ce qui peut provoquer subséquemment l'apparition d'une ASAR. Des observations intéressantes démontrent également qu'en présence d'une ASAR, les vaches peuvent à l'inverse trier la ration pour consommer les particules moyennes de fourrages au détriment des grains de sorte à compenser pour leur faible pH ruminal (Devries et al., 2007).

**Tableau 3** : Rapport entre les particules moyennes retrouvées dans les refus et les RTM au jour 21 de la période selon les traitements alimentaires appliqués

	Témoin (T)	Acidose (A)	Récupération (R)	Ecart-type	P-value	
					T vs. A	T vs. R
Large (> 19 mm)	0,96	0,93	0,80	0,23	0,85	0,24
Moyenne (8 - 18mm)	1,22	1,09	1,26	0,09	0,07	0,66
Petite (1,18 - 8 mm)	0,99	0,99	0,98	0,11	0,97	0,81
Très petite (< 1,18 mm)	0,79	0,75	0,79	0,41	0,94	0,99

### 2.5.2 Fèces

En ce qui concerne les particules retrouvées dans les fèces, la taille de celles-ci n'est pas différente, peu importe le traitement. Quoiqu'aucune différence significative ne ressorte entre les traitements, on observe numériquement une plus grande proportion de particules larges et moyennes dans les fèces de vaches qui ont reçu la ration riche en concentrés (84,3 vs. 80,9 et 78,3 % ; acidose vs. témoin et récupération) (Tableau 4). L'accroissement de la proportion de grains dans la ration, qui peut provoquer l'ASAR, favorise un taux de passage rapide dans le rumen et achemine plus de nutriments à l'intestin. Lorsque le rumen fonctionne normalement, seulement quelques particules alimentaires devraient être observées dans le fumier et la taille de celles-ci ne devrait pas dépasser ½ pouces de longueur (12,7 mm) (Hall, 2007). Une diminution de l'efficacité digestive peut se traduire par une forte proportion de larges particules dans les fèces ; un indicateur du risque d'acidose ruminale. De plus, la diminution de la

digestibilité de la fibre causée par l'ASAR réduit le contenu en énergie nette de la ration et peut altérer la prise alimentaire (Allen, 2000). Selon les données de la présente étude, la distribution de la taille des différentes particules retrouvées dans le fumier des vaches recevant une ration acidogène ne permet pas de diagnostiquer la présence d'une acidose ruminale. De plus, la diminution de la digestibilité de la fibre provoquée par ce désordre métabolique, qui par ricochet peut réduire la consommation de matière sèche des vaches, n'a pas eu cet effet.

**Tableau 4** : Distribution de la taille des particules retrouvées dans les fèces des vaches au jour 21 de la période selon les traitements alimentaires appliqués

	Témoïn (T)	Acidose (A)	Récupération (R)	Ecart-type	P-value	
					T vs. A	T vs. R
Large (> 4,76 mm)	41,19	43,94	42,05	5,57	0,68	0,87
Moyenne (3,18 – 4,76 mm)	39,68	40,35	36,20	5,37	0,92	0,57
Petite (1,59 – 3,18 mm)	18,26	15,08	20,47	2,73	0,40	0,55

## 2.6 Lactate et acides gras volatils du rumen

La teneur en lactate du liquide ruminal des vaches recevant une ration acidogène est 14 fois supérieure à celle des vaches témoins ( $P = 0,02$  ; Tableau 5), alors qu'aucune différence significative n'est observée entre les groupes témoin et récupération. Il est connu que le lactate, qui est produit lors de la dégradation de l'amidon dans le rumen, augmente chez les vaches en acidose et contribue à la chute du pH ruminal (Plaizier et al., 2008). Les concentrations des AGV totaux et de propionate sont également supérieures de 6 et 13 %, respectivement chez les vaches recevant une ration acidogène comparativement au témoin, tandis que la teneur en acétate est réduite de 7 % ( $P < 0,01$ ). Par conséquent, le ratio acétate : propionate des vaches en acidose est inférieur de 25 % à celui des témoins. Tel qu'attendu, aucune différence n'a été observée entre les groupes témoin et récupération puisque les rations offertes étaient les mêmes. Finalement, la teneur en butyrate du liquide ruminal (13 % des AGV totaux en moyenne) n'a pas été influencée par les traitements.

Une ration contenant de hauts niveaux d'amidon, comme celle utilisée pour induire l'acidose ruminale dans la présente étude, est un des moyens pour augmenter la proportion de propionate ruminal, lequel est la principale source de carbone pour le glucose chez les ruminants (Seal et Reynolds, 1993). L'augmentation de l'absorption du propionate lorsque les vaches sont



alimentées avec une ration riche en amidon favorise l'augmentation du glucose plasmatique de même que la sécrétion d'insuline (Annison et al., 1974).

**Tableau 5** : Teneurs en lactate et en acides gras volatils du liquide ruminal selon les traitements alimentaires appliqués

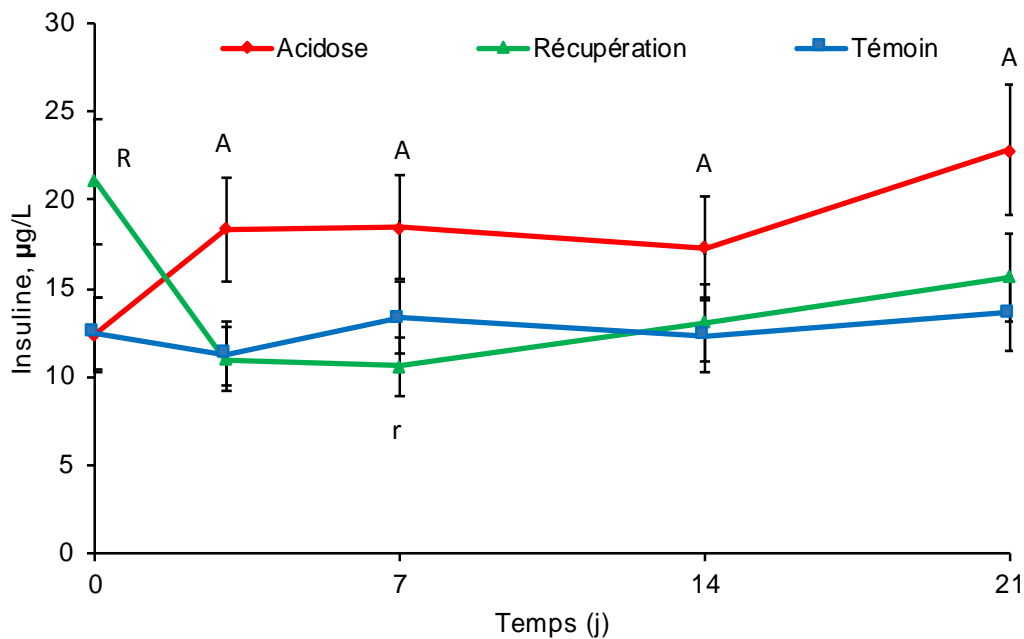
Paramètre	Acidose	Récupération	Témoin	SE	Contraste <sup>1</sup>	
					A vs. T	R vs. T
Lactate, ng/uL	0,044	0,011	0,003	0,017	0,02	0,81
AGV totaux, ng/uL	9,52	9,24	8,92	0,33	< 0,01	0,23
% des AGV						
Acétate	53,4	57,0	57,7	0,54	< 0,001	0,37
Propionate	27,2	22,4	22,4	0,54	< 0,001	0,73
Butyrate	12,5	13,6	12,9	0,31	0,23	0,15
Ratio acétate : propionate	2,02	2,64	2,66	0,07	< 0,001	0,81

<sup>1</sup>A=Acidose, R= Récupération, T=Témoin

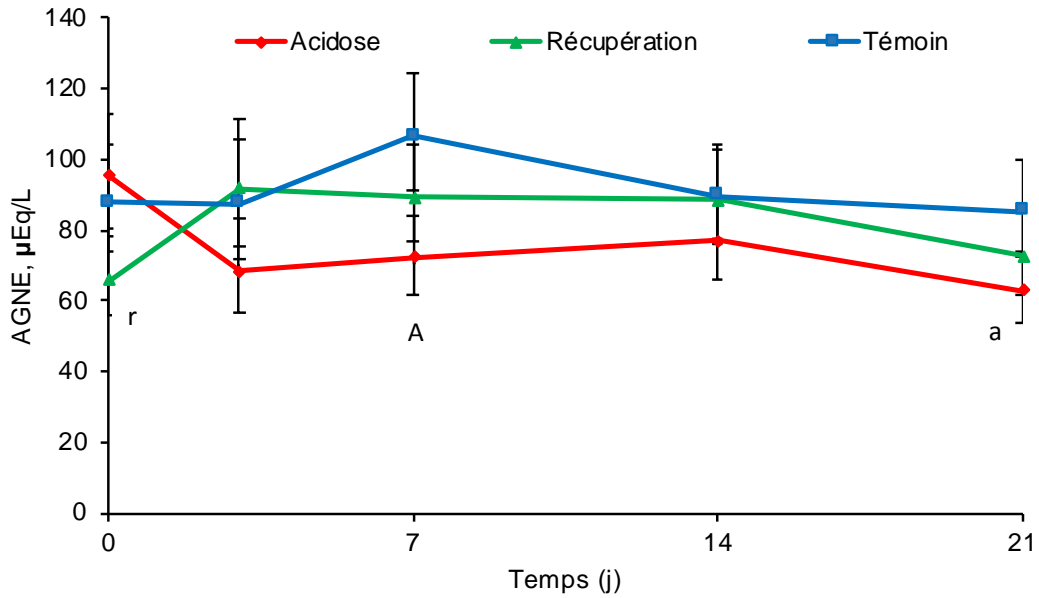
## 2.7 Paramètres sanguins

Lors de la présente étude, les vaches recevant la ration acidogène ont démontré de plus fortes concentrations d'insuline plasmatique que le groupe témoin durant les jours 3 à 21 ( $P < 0,05$  ; Figure 11). Conséquemment, les teneurs en insuline des vaches en récupération ont été plus élevées au jour 0 que celles des témoins, mais elles ont diminué rapidement par la suite. En effet, une tendance à la baisse des concentrations plasmatiques en insuline des vaches en récupération est observée au jour 7 alors que pour le reste de la période, il n'y a pas eu de différence significative par rapport au témoin. Tel qu'attendu, la concentration plasmatique en acides gras non estérifiés (AGNE) a été plus faible chez les vaches qui ont consommé une ration riche en concentrés que les témoins, particulièrement aux jours 7 ( $P < 0,05$ ) et 21 ( $P < 0,10$  ; Figure 12). En récupération, les vaches ont eu tendance à démontrer des niveaux plus bas d'AGNE au jour 0 que les témoins, mais aucune différence significative n'a été détectée pour le reste de la période. Quant aux LBP plasmatiques, ceux-ci ont augmenté au jour 7 ( $P < 0,05$ ) alors qu'une tendance à la hausse est observée au jour 21 chez les vaches qui ont consommé une ration acidogène ( $P < 0,10$ ; Figure 13). Aucune différence significative n'a été détectée entre les groupes témoin et récupération. Finalement, contrairement à ce qu'on s'attendait, aucune différence significative n'a été observée entre les traitements pour les teneurs en cytokines plasmatiques (Tableau 6).

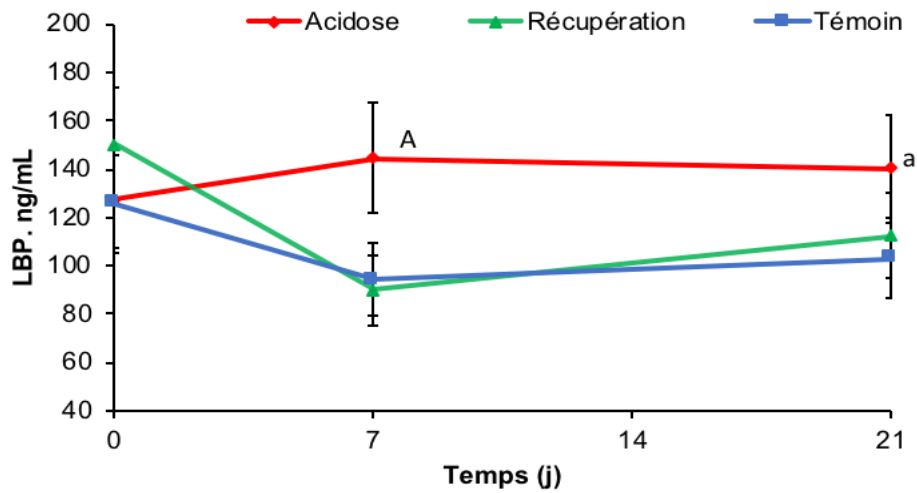
L'insuline est une hormone anabolique qui réduit la lipolyse (mobilisation) du tissu adipeux. En fait, en empêchant la libération des AGNE qui proviennent du tissu adipeux, l'insuline réduit la quantité de ces acides gras préformés (ceux qui ne sont pas synthétisés dans la glande mammaire) qui atteignent la glande mammaire, ce qui a des répercussions à la baisse sur la matière grasse du lait. D'ailleurs, une baisse de 5 % de la production de la matière grasse du lait a été observée chez des vaches avancées en lactation dont les teneurs plasmatiques en insuline ont été augmentées artificiellement (hyperinsulinémie) et dont les niveaux de glucose sanguins ont été maintenus stables (Griinari et al., 1997; Mackle et al., 1999). Chez des vaches en début de lactation, la réduction a été plutôt de 27 et 35 % (Bauman et Griinari, 2003; Corl et al., 2006). Ces résultats mettent en lumière le mécanisme par lequel l'augmentation des concentrés dans la ration pourrait affecter la synthèse de la matière grasse du lait des vaches via une hausse de l'insuline plasmatique. Cette voie étant indépendante de celle qui favoriserait au niveau du rumen la production des acides gras bioactifs, tels que le C18:2 *trans*-10, *cis* 12 (ALC) qui est un inhibiteur de la synthèse de la matière grasse du lait (Griinari et al., 1998; Enjalbert et al., 2008).



**Figure 11:** Évolution de la teneur en insuline plasmatique selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidoses vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; R: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; r: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 12 :** Évolution de la teneur en acides gras non estérifiés selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ ; r: Récupération vs. Témoin =  $P < 0,10$ )



**Figure 13 :** Évolution de la teneur en LBP plasmatique selon les régimes alimentaires appliqués (A: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,05$ ; a: Acidose vs. Témoin =  $P < 0,10$ ).

**Tableau 6** : Teneurs en cytokines plasmatiques selon les traitements alimentaires appliqués

Cytokine <sup>2</sup>	Traitement				Contraste <sup>1</sup>	
	Acidose	Récupération	Témoin	ET	A vs. T	R vs. T
IFNaA	6,03	5,96	5,76	0,56	0,43	0,82
AFNg	7,21	7,24	7,18	0,52	0,89	0,92
IL-13	7,62	7,73	7,72	0,55	0,59	0,58
IL-1a	7,70	7,69	7,69	0,55	0,97	0,97
IL-1F5	8,18	8,22	8,23	0,39	0,89	0,34
IL-21	7,71	7,79	7,79	0,56	0,69	0,47
IP-10	10,18	10,14	10,18	0,41	0,99	0,85
MIG	9,00	9,09	9,07	0,43	0,73	0,63
MIP-1b	6,76	6,69	6,55	0,35	0,46	0,81
TNFa	7,12	7,12	7,14	0,58	0,92	0,99

<sup>1</sup>A=Acidose, R= Récupération, T=Témoin

<sup>2</sup>Unités = logarithme naturel

Chez la vache laitière, la consommation de grandes quantités d'amidon facilement fermentescibles accroît la concentration d'endotoxines dans le liquide ruminal (Nocek, 1997; Andersen, 2003). Les endotoxines, aussi connues sous le nom de lipopolysaccharides (LPS), sont de puissantes toxines issues des composés cellulaires de bactéries gram négatives qui induisent une forte réponse immunitaire chez la vache. Durant cet épisode, des protéines se liant aux lipopolysaccharides bactériens (LBP) sont produites dans la circulation sanguine afin de participer directement à la détoxification et à l'élimination des endotoxines. Les LBP facilitent le transfert des endotoxines vers les macrophages ou les lipoprotéines de sorte à neutraliser l'action des endotoxines qui induisent une réponse inflammatoire (Gallay *et al.*, 1994). Durant un processus inflammatoire, des cytokines sont également relâchées dans le sang en réponse à l'infection (Zhang et An, 2007).

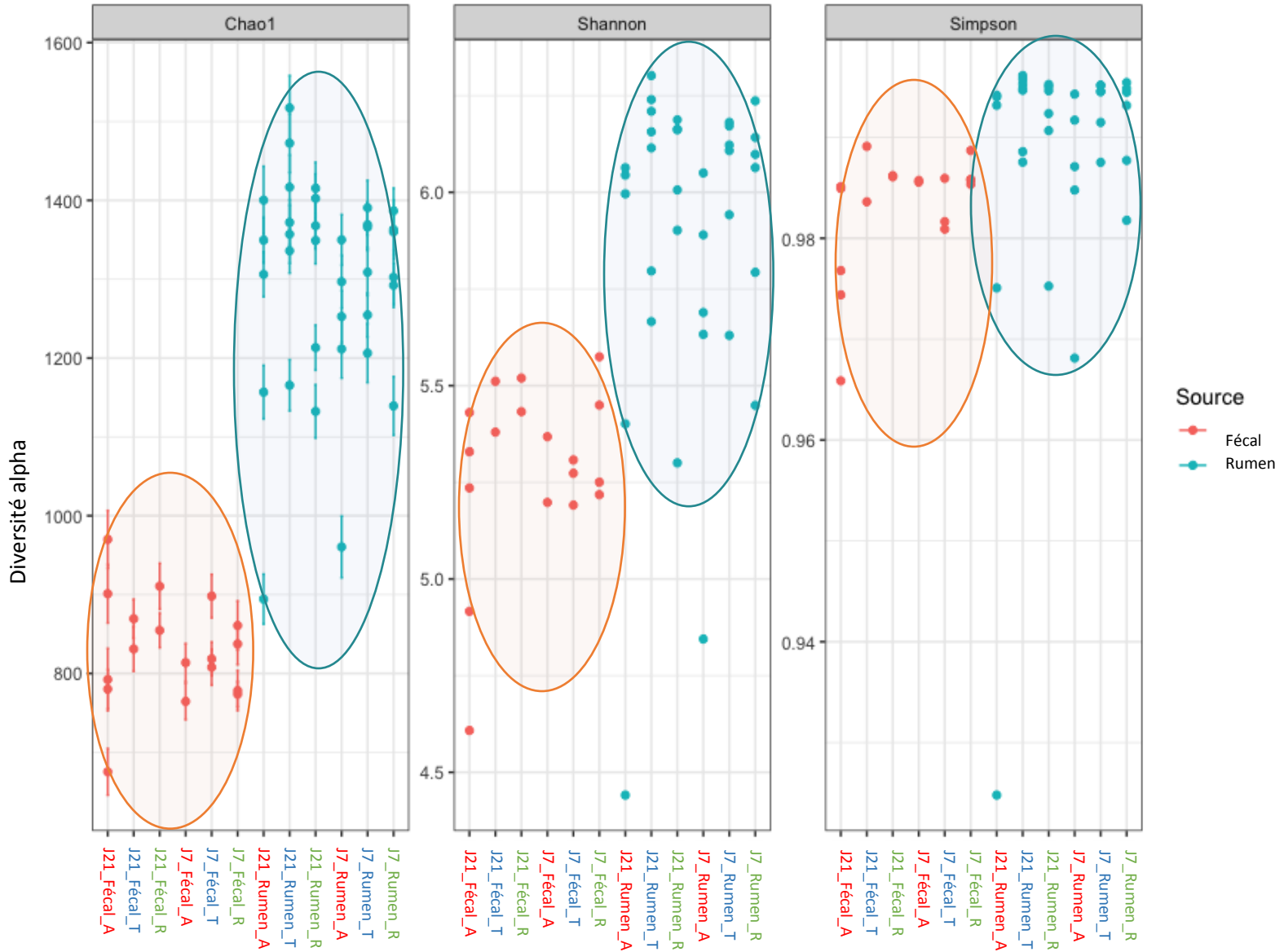
Ainsi, nos résultats démontrent que l'augmentation du propionate qui a été observée dans le rumen des vaches en acidose, peut expliquer la hausse de l'insuline plasmatique chez les vaches qui ont reçu une ration acidogène. Toutefois, il est également possible que cette augmentation de l'insuline ait été provoquée par un accroissement des LPS sanguins via les récepteurs TLR-4 présents dans les macrophages (Shi et al., 2006). On constate également qu'en dépit d'une élévation des teneurs en LBP plasmatiques lorsque les vaches consomment une ration

acidogène, les cytokines n'ont pas augmenté pour ce groupe de vaches. L'intensité de l'acidose ruminale, qui a été induite dans la présente étude, pourrait avoir été insuffisante pour engendrer une réponse inflammatoire significative.

## **2.8 Microbiote du contenu ruminal et fécal**

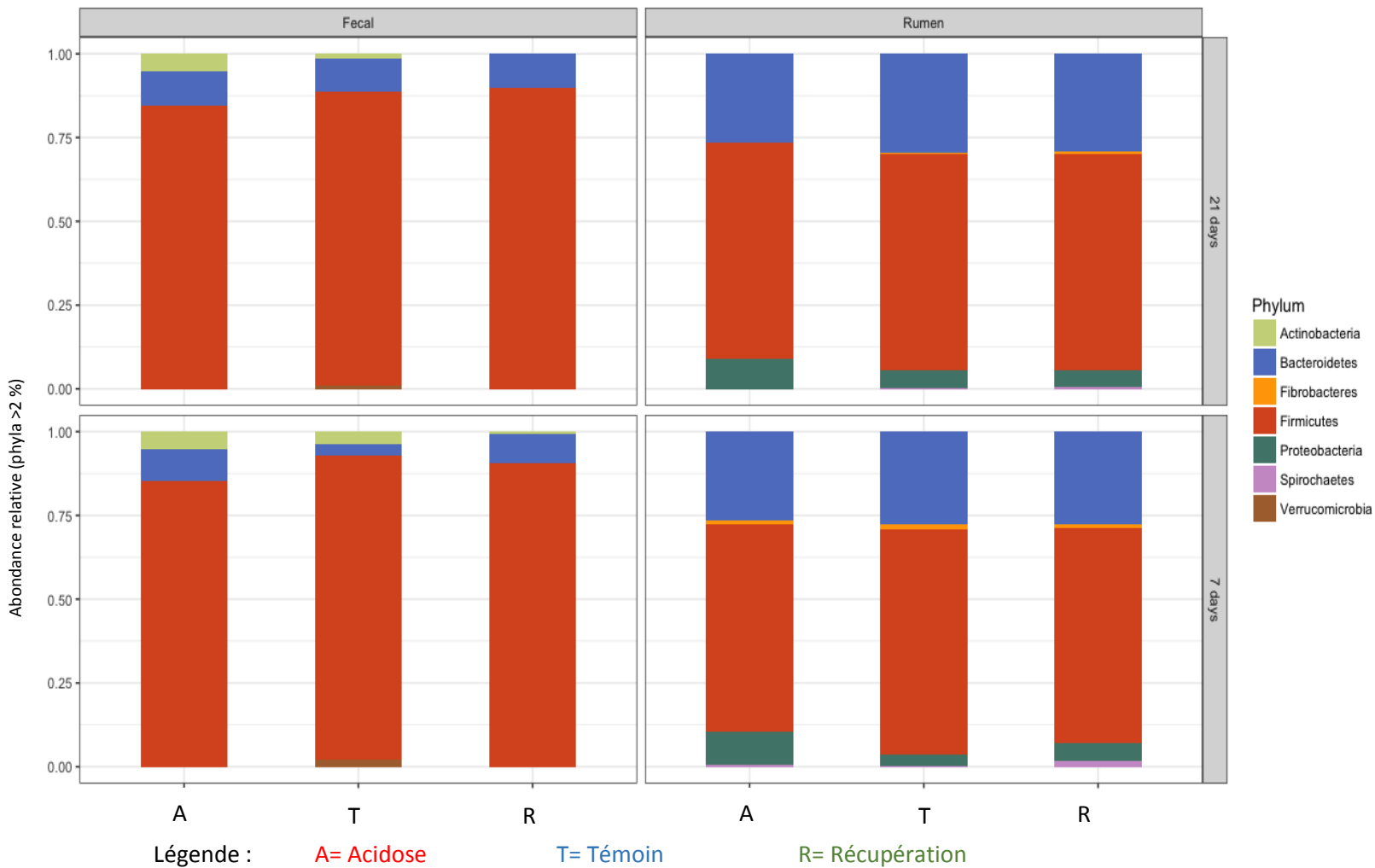
Les populations bactériennes dans le rumen et les fèces des vaches, évaluées selon la méthode Chao1, démontrent une plus grande diversification (nombre d'espèces de bactéries par échantillon) dans le rumen que dans les fèces (Figure 14). Par rapport au groupe témoin, une plus grande variation individuelle apparaît au jour 21 dans le rumen et les fèces des vaches qui ont consommé une ration acidogène. Le scénario est semblable avec la méthode Shannon qui montre une plus grande diversité bactérienne dans le rumen que dans les fèces. Finalement, la méthode Simpson indique que les populations bactériennes présentes dans le rumen et les fèces sont représentées dans des proportions similaires. Les données obtenues par ces trois méthodes démontrent qu'il y a une forte variation entre les vaches pour ce qui est des populations bactériennes retrouvées dans le rumen et les fèces des vaches en acidose.

Parmi les bactéries du rumen et des fèces, quoique l'abondance relative du phylum *Firmicutes* soit stable et élevée, l'abondance des autres phyla varie beaucoup entre les 2 sites (Figure 15). Le phylum *Actinobacteria* est augmenté aux jours 7 et 21 dans les fèces des vaches qui ont consommé une ration acidogène tandis que leur abondance relative a été fortement réduite lors de la récupération. Par rapport aux groupes témoin et récupération, l'induction de l'acidose chez les vaches a entraîné une augmentation du phylum *Proteobacteria* dans le rumen. Finalement, une réduction de l'abondance relative du phylum *Fibrobacteres* a été observée au jour 21 chez les vaches en acidose. Considérant que certains phylums apparaissent en plus grande proportion dans le rumen et les fèces des vaches en acidose, ceci suggère que ces derniers pourraient devenir des indicateurs de l'ASAR.



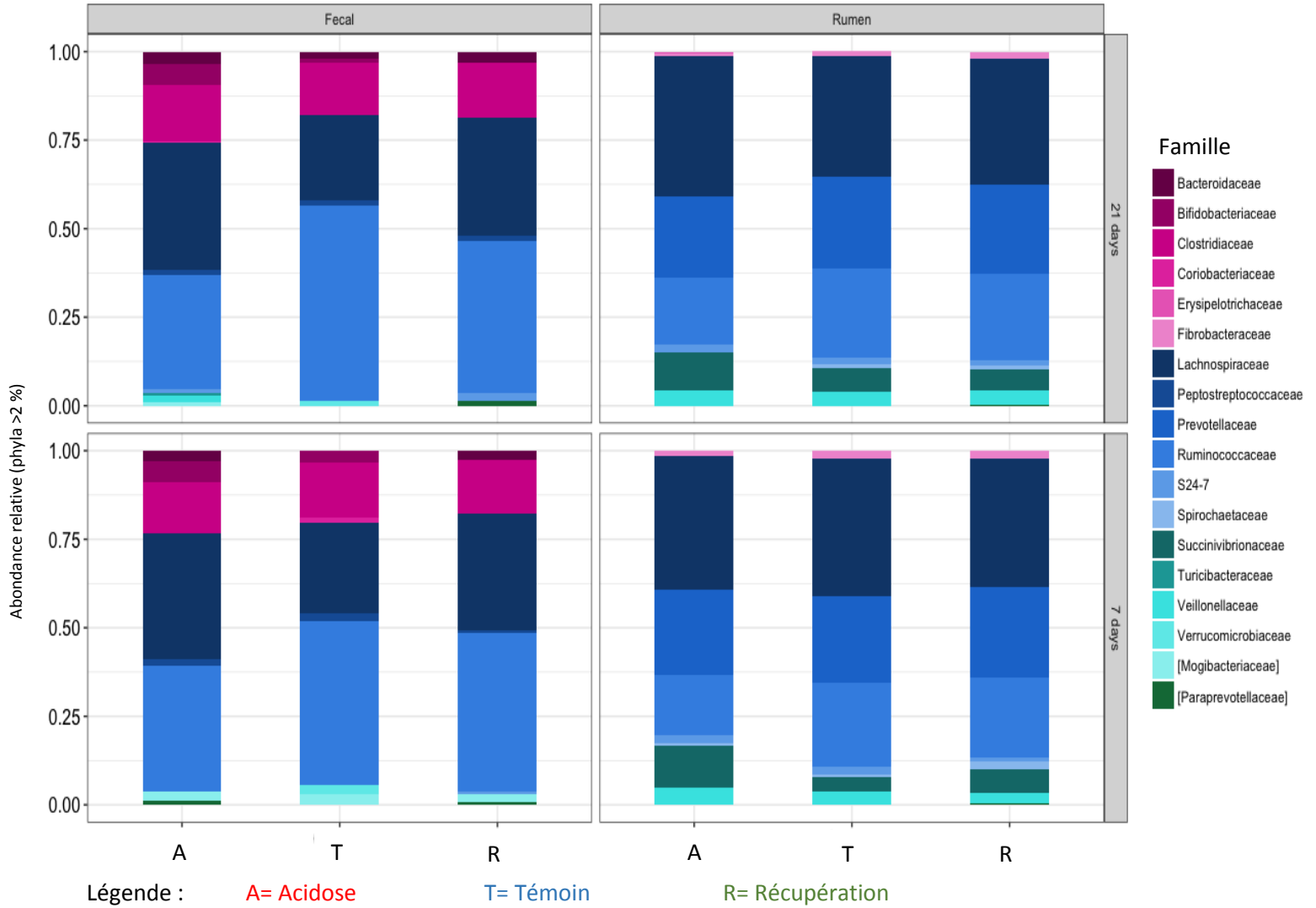
Légende : A= Acidose T= Témoin R= Récupération

**Figure 14 :** Diversité bactérienne alpha, selon les méthodes Chao1, Shannon et Simpson, du contenu ruminal et fécal de chaque traitement aux jours 7 et 21 de la période.



**Figure 15 :** Diversité bactérienne  $\beta$  du contenu ruminal et fécal aux jours 7 et 21 selon les traitements alimentaires appliqués

Comme dans les phylums, la composition bactérienne des familles varie aussi entre le rumen et les fèces (Figure 16). Par rapport au témoin, la famille des *Bifidobacteriaceae* (bactéries gram positives appartenant au phylum *Actinobacteria*) a fortement augmenté chez les vaches en acidose aux jours 7 et 21. Dans le rumen, peu de changement dans la composition des familles est apparu en réponse aux traitements sauf pour la famille des *Succinivibrionaceae*. L'abondance relative de cette famille de bactéries a augmenté aux jours 7 et 21 chez les vaches consommant une ration acidogène. Au jour 21, les vaches qui ont transféré vers une ration de récupération ont démontré une abondance relative semblable au groupe témoin.

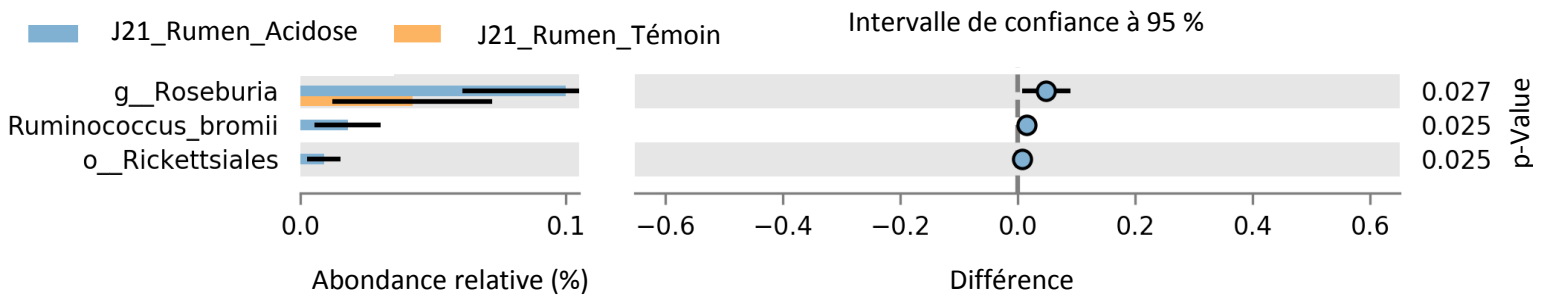


**Figure 16 :** Abondance relative de familles bactériennes retrouvées dans le contenu ruminal et fécal aux jours 7 et 21 selon les traitements appliqués

Les bactéries appartenant au genre *Roseburia* (appartenant à la famille des *Lachnospiraceae*) ont augmenté ( $P < 0,05$ , Figure 17) dans le rumen des vaches en acidose comparativement au témoin, et pourraient servir d'indicateur de l'ASAR chez les vaches laitières. L'abondance relative d'autres groupes de bactéries tels que, les *Ruminococcus bromi* et les *Rickettsiales* a également augmenté durant l'acidose ( $P < 0,05$ ), mais la différence par rapport au témoin est très petite.



Selon l'étude des populations bactériennes du contenu ruminal et fécal, on constate que certains marqueurs bactériens démontrent un potentiel pour le diagnostic de l'ASAR. Toutefois, d'autres investigations sont requises afin de mieux préciser les recommandations à venir.



**Figure 17:** Identification de groupes bactériens dans le rumen de vaches en acidose

## 2.9 Classes de susceptibilité à l'acidose

La classification de l'ensemble des données (indice acidose), relatives aux vaches qui ont consommé une ration acidogène durant les jours 3 à 21, démontrent 7 fois des cas de vaches tolérantes ( $0,05 \times ET$ ) et 5 fois des cas considérés sensibles ( $0,05 \times ET$ ) à l'ASAR. Tel que démontré dans le tableau 7, la CVMS et la production laitière ont été plus importantes chez les vaches sensibles que les tolérantes ( $P = 0,03$ ,  $P = 0,06$  ; respectivement) alors que la teneur en matière grasse du lait a été plus basse chez les vaches sensibles ( $P = 0,04$ ). Quoique numériquement la production journalière de la matière grasse du lait ait été plus élevée chez les vaches sensibles que les tolérantes, la différence n'est pas significative. En accord avec les groupes respectifs, les vaches sensibles à l'ASAR ont démontré des valeurs de pH ruminal (moyen et maximum) plus faibles que les vaches tolérantes sans toutefois que des différences ne soient apparues au niveau des valeurs de pH minimum. De plus, ces vaches ont démontré de bas pH ( $< 5,6$  et  $5,8$ ) pendant une période beaucoup plus longue que les vaches tolérantes ( $P < 0,001$ ). Ces résultats indiquent que les vaches hautes productrices sont plus à risques de développer l'ASAR. Compte tenu que ces données ont été obtenues sur une courte période (21 jours), une étude à plus long terme est recommandée.

**Tableau 7** : Performances des vaches ayant reçu une ration acidogène durant les jours 3, 7, 14 et 21 selon leur degré de susceptibilité à l'ASAR

	Groupe		ET	Valeur <i>P</i>
	Sensible	Tolérante		
Nombre d'observations (n=44)	6	7		
CVMS, kg/j	32,28	26,93	2,81	0,03
Production laitière, kg/j	38,48	33,02	3,87	0,06
Matière grasse, %	3,67	3,90	0,32	0,04
Matière grasse, kg/j	1,39	1,29	0,24	0,73
pH moyen	5,50	6,16	0,19	0,03
pH maximum	6,49	7,14	0,17	0,02
pH minimum	4,83	5,34	0,10	0,40
Variance du pH	0,14	0,12	0,05	0,67
Nombre d'heures sous le pH 5,8, h/j	17,24	1,72	1,89	< 0,001
Nombre d'heures sous le pH 5,6, h/j	14,54	0,46	1,70	< 0,001
Indice de susceptibilité à l'acidose, pH 5,8 x min/kg	34,80	2,96	4,43	< 0,001

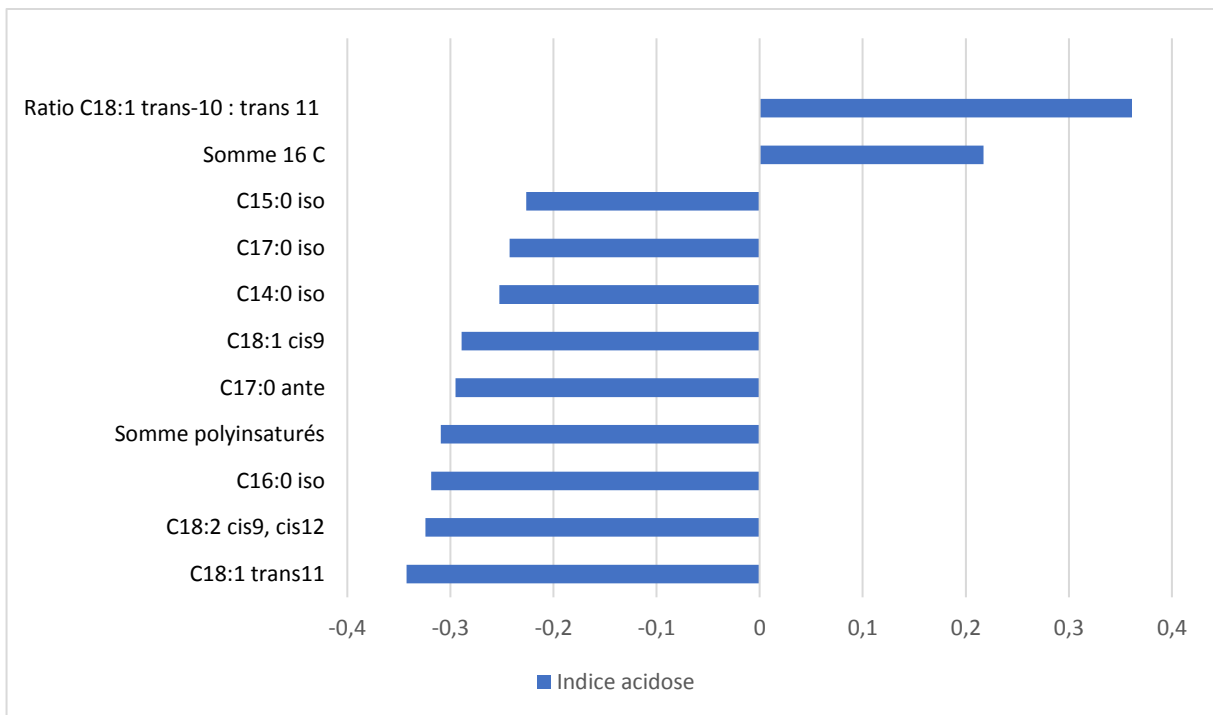
## 2.10 Les acides gras du lait et l'acidose

Parmi le profil complet des acides gras du lait des vaches qui ont reçu une ration acidogène, seuls les acides gras présentés à la figure 18 ont une corrélation significative avec l'incidence d'acidose ( $P < 0,001$ ). Les corrélations, positives ou négatives, entre ces acides gras et l'acidose vont dans le sens de ce qui était attendu.

Une relation positive apparaît entre le ratio C18:1 *trans*-10 : *trans* 11 et l'incidence d'ASAR alors que l'acide gras C18:1 *trans*-11 (voie normale de la biohydrogénation) a plutôt une association négative avec ce désordre métabolique (Figure 18). Il a été démontré que les voies de biohydrogénation dans le rumen sont altérées lorsque le pH ruminal est bas et que la synthèse de l'acide gras C18 :1 *trans*-10 augmente (Fuentes et al., 2009).

L'ASAR et les teneurs en C15:0 iso, C17:0 iso, C14:0 iso, C16:0 iso et C17:0 ante iso, ont une relation négative et ces acides gras sont le reflet du changement des populations microbiennes au sein du rumen. Il est probable que les bactéries du rumen qui ont synthétisé ces acides

gras ont été affectées par la ration acidogène (Fievez et al., 2012). Finalement, la corrélation entre l'acide gras C18:2 *cis* 9, *cis*12, la somme des acides gras polyinsaturés et l'ASAR est négative, ce qui pourrait être lié aux effets négatifs de faibles pH ruminiaux et l'impact sur la vitesse de la lipolyse dans le rumen (Gerson et al., 1985). La diminution de la lipolyse ruminale aurait pour effet d'acheminer une plus grande quantité d'acides gras insaturés à l'intestin et par conséquent, à la glande mammaire.



**Figure 18** : Relation entre les acides gras du lait et l'acidose ruminale

## CONCLUSION

Les vaches qui ont consommé la ration acidogène (29 % amidon, 24 % NDF) ont démontré des valeurs de pH (moyennes et minimums) à la baisse dans le rumen et le réticulum comparativement à un groupe de vaches témoin qui consommait une ration conventionnelle (19 % amidon, 31 % NDF). Ces valeurs de pH ont toutefois été plus élevées dans le réticulum que dans le rumen. La mesure simultanée du pH en continu dans ces 2 sites démontre que la durée sous la limite de pH 5,6, considéré critique s'il y demeure au-delà de 3 heures par jour, a été d'environ 2 fois plus courtes dans le réticulum que dans le rumen (102 vs. 270 minutes ; réticulum vs. rumen). Ces résultats concordent avec la faible relation positive ( $R^2 = 0,33$ ) qui existe entre ces 2 sites. Ainsi, puisque l'usage de bolus téléométriques à la ferme nécessiterait de mesurer le pH dans le réticulum, les valeurs de pH cible pour diagnostiquer l'acidose subclinique devraient donc être ajustées en conséquence.

La consommation d'une ration acidogène induisant l'acidose subaiguë du rumen, a également eu des répercussions sur les performances laitières des vaches, la composition du lait, de même que sur certains métabolites sanguins. Quoique la consommation des vaches n'a pas été affectée négativement et que la production laitière a plutôt augmenté après 10 jours sous un tel régime, on observe une diminution de la teneur et de la production journalière de la matière grasse du lait. L'impact à la baisse sur la matière grasse du lait a été subit, tout comme la chute du pH, puisque l'effet apparaît après seulement 3 jours. Par contre, cet effet sur la matière grasse du lait disparaît à plus long terme. Pour ce qui est des autres composants du lait, la production journalière de protéine et de lactose du lait augmente après 2 à 3 semaines sous un régime riche en concentrés alors que les teneurs en BHB et en urée du lait diminuent dès le jour 3 et demeurent plus basses tout le long de la période d'acidose. Malgré que les vaches étaient en acidose subclinique (pH ruminal < 5,6 pendant plus de 3 heures consécutives), les performances n'ont pas été affectées négativement à long terme. Ceci peut s'expliquer par la hausse de la consommation de la ration acidogène qui contenait une faible teneur en NDF.

Tel qu'attendu, la consommation d'une ration riche en concentrés a favorisé une augmentation de la teneur en insuline dans le sang et conséquemment, une diminution des acides gras non estérifiés plasmatiques. Il est suggéré que l'augmentation de la sécrétion d'insuline a fort probablement réduit la disponibilité des acides gras non estérifiés du tissu adipeux. Compte tenu

que les acides gras impliqués traditionnellement dans la baisse de la matière grasse du lait (C18 :2 *trans*-10, cis12 et C18 :1 *trans*-10) n'ont pas été augmentés de façon importante, d'autres mécanismes indépendants pourraient être en cause. La hausse de la sécrétion d'insuline et la diminution des acides gras préformés (issus du tissu adipeux et de l'aliment) dans le lait nous laissent entrevoir que cette voie pourrait être impliquée dans la baisse de la matière grasse du lait.

Ainsi, la mesure du pH dans le rumen des vaches est une des méthodes pouvant permettre le diagnostic de l'ASAR. Toutefois, notre étude démontre que d'autres indicateurs ont le potentiel de devenir des outils de diagnostic tels que, certains acides gras du lait et groupes bactériens retrouvés dans les fèces des vaches. Cette étude a également permis de constater que l'évaluation de la taille des particules dans le fumier des vaches n'est pas un bon prédicteur de la présence de l'ASAR. Finalement, les résultats indiquent que les vaches hautes productrices sont plus à risques de développer l'ASAR. Compte tenu que ces données ont été obtenues sur une courte période (21 jours), une étude à plus long terme est recommandée.

## RÉFÉRENCES

Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83 : 1598-1624.

Andersen, P. H. 2003. Bovine endotoxemia—some aspects of relevance to production diseases. A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44:141.

Annison, E. F., R. Bickerstaffe et J. L. Linzell. 1974. Glucose and fatty acid metabolism in cows producing milk of low fat content. *J. Agric. Sci.* 82 : 87-95.

Alzahal, O., E. Kebreab, J. France et B.W. McBride. 2007. A mathematical approach to predicting biological values from ruminal pH measurements. *J. Dairy Sci.*, 90, 3777-3785.

Boivin, M., R. Gervais, et P. Y. Chouinard. 2013. Effect of grain and forage fractions of corn silage on milk production and composition in dairy cows. *Animal* 7 : 245-254.

Bauman, D. E. et J. M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23 : 203–327.

Caporaso, J.G., J. Kuczynski, J. Stombaugh, K. Bittinger, F.D. Bushman, E.K. Costello, N. Fierer, A. Gonzalez Pena, J.K. Goodrich, J.I. Gordon, G.A. Huttley, S.T. Kelley, D. Knights, J.E. Koenig, R.E. Ley, C.A. Lozupone, D. McDonald, B.D. Muegge, M. Pirrung, J. Reeder, J.R. Sevinsky, P.J. Turnbaugh, W.A. Walters, J. Widmann, T. Yatsunenko, J. Zaneveld et R. Knight. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5) : 335–336. [En ligne] <http://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>

Colman, E., W. B. Fokink, M. Craninx, J. R. Newbold, B. De Baets et V. Fievez. 2010. Effect of induction of subacute ruminal acidosis on milk fat profile and rumen parameters. *J. Dairy Sci.* 93 : 4759–4773.

Corl, B. A., S. T. Butler, W. R. Butler, et D. E. Bauman. 2006. Short communication: Regulation of milk fat yield and fatty acid composition by insulin. *J. Dairy Sci.* 89:4172-4175.

Dado, R. G. et M. S. Allen. 1993. Continuous computer acquisition of feed and water intakes, chewing, reticular motility, and ruminal pH of cattle. *J. Dairy Sci.* 76 : 1589-1600.

Duffield, T., J. C. Plaizier, A. Fairfield, R. Bagg, G. Vessie, P. Dick, J. Wilson, J. Aramini et B.W. McBride. 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 : 59-66.

Edgar, R.C. et H. Flyvbjerg. 2015. Error filtering, pair assembly and error correction for next-generation sequencing reads. *Bioinformatics*, 31, 3476–3482. <http://doi:10.1093/bioinformatics/btv401>.

Enjalbert, F., Y. Videau, M.C. Nicot et A. Troegeler-Meynadier. 2008. Effects of induced subacute ruminal acidosis on milk fat content and milk fatty acid profile. *J. Animal Physiol. and Animal Nutrition* 92 : 284–291.

Fairfield, A. M., J. C. Plaizier, T. F. Duffield, M. I. Lindinger, R. Bagg, P. Dick et B.W. McBride. 2007. Effects of a prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90 : 937–945.

Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I., et Vlaeminck, B. 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. *Animal Feed Science and Technology*, 172: 51-65.

Fuentes, M. C., S. Calsamiglia, P. W. Cardozo, et B. Vlaeminck. 2009. Effect of pH and level of concentrate in the diet on the production of biohydrogenation intermediates in a dual-flow continuous culture. *J. Dairy Sci.* 92:4456-4466.

Gao, X. et M. Oba. 2014. Relationship of severity of subacute ruminal acidosis to rumen fermentation, chewing activities, sorting behavior, and milk production in lactating dairy cows fed a high-grain diet. *J. Dairy Sci.* 97: 3006-3016.

Gianesella, M., M. Morgante, C. Stelletta, L. Ravarotto, E. Giudice et R.J. Van Saun. 2010. Evaluating the effects of rumenocentesis on health and performance in dairy cows. *Acta Veterinaria Brno* 79 : 459–468.

Griinari, J. M., D. A. Dwyer, M. A McGuire, D. E. Bauman, D. L. Palmquist et K. V. Nurmela. 1998. Trans-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 : 1251–126.

Griinari, J. M., M. A. McGuire, D. A. Dwyer, D. E. Bauman et D. L. Palmquist. 1997. Role of insulin in the regulation of milk fat synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1076-1084.

Guo, Y., X. Xu, Y. Zou, Z. Yang, S. Li et Z. Cao. 2013. Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp. *J. Animal Sci. and Biotechnology* 4 : 31.

Heinrichs, J. et P. Kononoff. 2002. Evaluating particle size of forages and TMRs using the New Penn State Forage Particle Separator [En ligne]  
[http://storti.com/documenti/doc\\_app/evaluating-particle-size-of-forages.pdf](http://storti.com/documenti/doc_app/evaluating-particle-size-of-forages.pdf).

Khafipoor, E., D. O. Krause et J.C. Plaizier. 2007. Induction of subacute ruminal acidosis (SARA) by replacing alfalfa hay with alfalfa pellets does not stimulate inflammatory response in lactating dairy cows. *J. Animal Sci.* 85 (Suppl. 1)/*J. Dairy Sci.* 90 (Suppl. 1)/*Poultry Sci.* (Suppl. 1), 654.

Kimura, A., S. Sato, H. Goto, N. Yamagishi, K. Okada, H. Mizuguchi et K. Ito. 2012. Simultaneous estimation of the pH of rumen and reticulum fluids of cows using a radio-transmission pH measurement system. *J. Veterinary Medical Sci.* 74 :p. 531–535.

- Kleen, J. L., G. A. Hooijer, J. Rehage et J.P. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *J. Veterinary Medicine* 50 : 406–414.
- Lane, G. T., C. H. Noller, V. F. Colenbrander, K. R. Cummings et R.B. Harrington. 1968. Apparatus for obtaining ruminoreticular samples and the effect of sampling location on pH and volatile fatty acids, *J. Dairy Sci.* 51 : 114-116.
- Li, S., A. M. Danscher et J.C. Plaizier. 2013 Subacute Ruminal Acidosis (SARA) in dairy cattle: new developments in diagnostic aspects and feeding management. *Canadian J. Animal Sci.* 94 (1) : 353-364.
- Lock, A. L., B. M. Teles, J.W. Perfield, D.E. Bauman et L.A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing trans-10, cis-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep, *J. Dairy Sci.* 89 : 1525-1532.
- Mackle, T. R., D. A. Dwyer, K. L. Ingvarsen, P. Y. Chouinard, J. M. Lynch, D. M. Barbano et D.E. Bauman. 1999. Effects of insulin and amino acids on milk protein concentration and yield from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82 : 1512-1524.
- Martin, M. 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*, [S.l.], v. 17, n. 1, p. pp. 10-12. [En ligne] <http://dx.doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.
- Medeiros, S. R., D.E. Oliveira, L.J. Aroeira, M.A. JMcGuire, D.E. Bauman et D.P. Lanna. 2010. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid to grazing cows in early lactation, *J. Dairy Sci.* 93 : 1126-1137.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th edition. Washington, DC: National Academy Press.
- Nocek, J. E. 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80 :1005–1028.
- Oetzel, G. R. 2003. Subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Advances in Dairy Technology*,15: 307–317.
- Penner, G. B., K. A. Beauchemin et T. Mutsvangwa. 2006. An evaluation of the accuracy and precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system. *J. Dairy Sci.* 89 : 2132–2140.
- Plaizier, J. C., D. O. Krause, G. N. Gozho et B.W. McBride. 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal* 176 : 21-31.
- Rico, D.E. et K.J. Harvatine. 2013. Induction of and recovery from milk fat depression occurs progressively in dairy cows switched between diets that differ in fiber and oil concentration. *J. Dairy Sci.* 96:6621-6630.
- Rico, D.E. S.H. Preston, J.M. Risser et K.J. Harvatine. 2015a. Key rumen microbial populations are rapidly changed during induction of and recovery from diet-induced milk fat depression in dairy cows. *B. J. Nut.* 114 : 358–67.



Rico, D.E., A.W. Holloway et K.J. Harvatine. 2015b. Effect of diet fermentability and unsaturated fatty acid concentration on recovery from diet-induced milk fat depression. *J Dairy Sci.* 98:7930-43

Sato, S., A. Ikeda, Y. Tsuchiya, K. Ikuta, I. Murayama, M. Kanehira, K. Okada et H. Mizuguchi. 2012. Diagnosis of subacute ruminal acidosis (SARA) by continuous reticular pH measurements in cows. *Veterinary Research Communications* 36 : 201–205.

Seal, C. J. et C. K. Reynolds. 1993. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. *Nutrition research reviews* 6:185-208.

Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K., Tzamelis, I., Yin, H., & Flier, J. S. 2006. TLR4 links innate immunity and fatty acid–induced insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 116 (11), 3015-3025.

Stone, W. C. 1999. The effect of subclinical acidosis on milk components. In: *Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Cornell Univ., Ithaca, NY, p. 40–46.

Stone, W. C. 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87 : 13–26.

Sukhija, P.S. et Palmquist, D.L. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36: 1202-1206.

Zhang J.M. et An J. 2007. Cytokines, Inflammation and Pain. *International anesthesiology clinics.* 45 : 27-37.