

Etude méthodologique sur la mesure des différences artérioveineuses mammaires chez la vache laitière

par H. RULQUIN

avec la collaboration technique de Jeanne FLECHET, Renée LEFAIVRE, A OLLIER et Claire SORNET

Laboratoire de la Production laitière, I.N.R.A.
Theix, 63110 Beaumont.

Summary. *A methodological study of mammary arteriovenous measurement in dairy cows.*

The effects of feeding frequency and diet composition on mammary arteriovenous (AV) differences were observed in lactating dairy cows.

Two diets with 30 or 70 p. 100 concentrate (table 1) were offered 2 or 8 times daily in limited amounts. Circadian patterns of mammary AV differences in the main blood metabolites and in milk production (table 2) were studied in two cows with an exteriorized carotid. Diet digestibility and ruminal fermentation profiles were studied in two other cows fitted with a rumen cannula (tables 3, 4).

1. Circadian patterns of arterial levels and AV differences in acetate and β -hydroxybutyrate depended on feeding frequency (fig. 2). With two feedings per day, the arterial levels reached a maximum 4 or 5 hrs after feeding, and the circadian patterns of AV differences were strongly related to those of the arterial levels. With 8 feedings per day, the circadian changes in AV differences were smaller (fig. 2), and their coefficients of variation decreased from 13 to 9 p. 100. On the other hand, packed cell volume and arterial glucose did not show any noticeable circadian changes, even with 2 feedings per day.

2. The mean arterial levels and AV differences in acetate, β -hydroxybutyrate and most of the essential amino acids (EAA) decreased (-16 , -8 and -10 p. 100) (table 5) when the feeding times were increased from 2 to 8 per day. The EAA decreased more with the high concentrate (-19 p. 100) than with the low concentrate (-8 p. 100) diet (table 6).

3. With the « high concentrate » diet, the arterial levels and AV differences in acetate were lower (-25 p. 100), while those of β -hydroxybutyrate were higher ($+13$ p. 100), although the ruminal fermentations were not very different.

« Continuous feeding » stabilized the AV differences, thus permitting the number of blood samples required to be reduced (50 p. 100). But this technique caused some physiological modifications, and the results obtained are not applicable to the standard practice of two feedings per day.

Introduction.

La mesure des différences artérioveineuses mammaires a déjà été utilisée sur des vaches conscientes pour étudier les relations entre le métabolisme mammaire et la nutrition de l'animal (Annisson, Bickerstaffe et Linzell, 1974 et Spires *et al.*, 1975).

Pour obtenir des résultats fiables les mesures doivent être effectuées, sans perturber l'animal (Zierler, 1961) et en nombre suffisant pour être représentatives des phénomènes à l'échelle d'une journée. Cela nécessite soit la prise en compte des variations nycthémerales des différences artério-veineuses (Zierler, 1961), soit une stabilisation de celles-ci par une alimentation continue. Cependant, par rapport à la pratique courante de deux distributions d'aliment par jour, une alimentation continue peut entraîner des modifications de la digestion (Kaufman, 1976) et du métabolisme de l'animal. Ces modifications peuvent être importantes chez les vaches laitières qui reçoivent le plus souvent d'assez fortes rations d'aliments concentrés en énergie et en azote deux fois par jour. Il importe de vérifier si des résultats obtenus expérimentalement avec une alimentation continue sont extrapolables à une alimentation fractionnée.

Cet essai sur vaches laitières a été réalisé pour :

- 1: mettre au point la mesure des différences artérioveineuses mammaires des principaux précurseurs des constituants du lait ;
- 2: connaître les évolutions nycthémerales et la valeur moyenne de ces différences artério-veineuses suivant la fréquence d'alimentation (2 ou 8 distributions d'aliment par jour) ;
- 3: comparer les effets de la proportion d'aliments concentrés (30 et 70 p. 100) sur ces différences artério-veineuses et selon le nombre de distributions des aliments (la digestibilité des rations et certains phénomènes digestifs dans le rumen étant par ailleurs mesurés).

Matériel et Méthodes.

Animaux. — Deux vaches de type Pie Noire (nos 74059 et 74102) âgées de 35 mois ont été utilisées dans cet essai. Elles se trouvaient en seconde lactation et pesaient respectivement 540 et 432 kg. Six mois auparavant, leur carotide gauche avait été placée en position sous-cutanée selon une modification de la technique de McDowell et al. (1966).

Schéma expérimental. — L'essai a débuté dès le vêlage. Il a compris deux périodes expérimentales (11 semaines chacune) avec inversion des 2 régimes. Chaque période a été subdivisée en deux sous-périodes : les 7 premières semaines durant lesquelles les rations ont été distribuées en deux fractions égales par jour, puis les 4 semaines suivantes durant lesquelles les mêmes rations ont été distribuées en 8 fractions égales par jour.

Les régimes. — Deux régimes ont été utilisés. L'un C30, se composait, sur la base de la matière sèche, de 30 p. 100 d'aliment concentré, 45 p. 100 de foin et 25 p. 100 de pulpes de betteraves déshydratées. L'autre, C70, se composait de 70 p. 100 d'aliment concentré et de 30 p. 100 de foin. L'aliment concentré contenait, 78 p. 100 de maïs condensé et 22 p. 100 de tourteau de soja pour le régime C30 ; et, 85 p. 100 de maïs condensé et 15 p. 100 de tourteau de soja pour le régime C70. Les caractéristiques chimiques des aliments utilisés et des régimes sont données dans le tableau 1. La vache 74102 a reçu successivement les régimes C70 puis C30 et la vache 74059 les régimes C30 puis C70.

TABLEAU 1

Composition chimique des aliments et des régimes

Nature de l'aliment ou du régime	en p. 100 de la matière sèche			
	Matières organiques	Cellulose Weende	Azote	Extrait éthéré
Foin de prairie naturelle 2 ^e coupe ...	90,9	28,7	2,23	2,84
Pulpes de betteraves déshydratées...	92,4	19,5	1,73	0,84
Maïs grain condensé *	95,8	2,3	1,79	4,09
Tourteau soja	92,8	4,1	8,58	2,88
Régime C30	93,1	18,5	2,42	2,64
Régime C70	94,2	9,6	2,63	3,63

* Contient 0,5 p. 100 NaCl et 2,5 p. 100 de carbonate de chaux.

Rationnement et distribution. — Les aliments ont été distribués en quantités limitées pour couvrir exactement les besoins énergétiques des vaches et pour éviter des refus. Le rapport maïs/soja a été constamment ajusté de manière à couvrir exactement les besoins azotés des vaches. Les fourrages et les concentrés ont été distribués simultanément mais dans deux bacs différents à 6 et 17 h dans le cas de deux distributions, ou toutes les 3 heures à partir de 6 h dans le cas de huit distributions.

Prélèvements sanguins. — Les prélèvements sanguins ont été réalisés à l'aide de deux cathéters, l'un inséré dans l'artère carotide et l'autre dans la veine abdominale sous-cutanée 3 à 4 cm après son émergence de la mamelle. La pose percutanée des cathéters s'est effectuée 24 h avant le début des prélèvements et sous anesthésie locale (Procaine 2 p. 100) pour la carotide. Le cathéter artériel en téflon (long. 51 mm ; diamètre 1,25 mm) a été placé dans le sens du courant sanguin. Afin d'éviter une contamination éventuelle du sang veineux mammaire par le sang des veines collatérales de la paroi abdominale, le cathéter veineux en polyéthylène (long. 120 mm ; diamètre 2,3 mm) a été placé à contre-courant et de manière à ce que son extrémité pénètre de 8 à 9 cm dans la mamelle. Les cathéters ont été suturés à la peau, puis prolongés jusqu'au milieu du flanc par des tubes en silicone médical de manière à permettre le prélèvement simultané sous vide du sang artériel et veineux sans avoir à toucher au lieu d'insertion des cathéters. La coagulation sanguine a été évitée par le remplissage du système de prélèvement avec 2 ml d'une solution stérile de sérum physiologique hépariné (10 p. 100 en volume). Avant chaque prélèvement sanguin, cette solution et environ 5 ml de sang ont été aspirés à la seringue et éliminés. Une cinétique des différences artérioveineuses mammaires a été réalisée sur les deux vaches en 7^e, 11^e, 19^e et 22^e semaine de lactation. La première prise de sang a toujours été effectuée à 7 h, les suivantes se succédant toutes les 3 h pendant 24 h.

Mesures et échantillonnages. — Les quantités de lait produites et les quantités d'aliment ingérées par les animaux ont été enregistrées journalièrement. Quatre échantillons journaliers de lait (pondérés sur les traites du matin et du soir) ont été réalisés chaque semaine. Cependant, les jours de prises de sang, le lait de chaque traite a été

échantillonné séparément. Le jour suivant les prises de sang, du jus de rumen a été prélevé par tubage œsophagien 3 h après le repas du matin.

Pour compléter les mesures relatives à la digestion, deux vaches porteuses d'une large canule du rumen ont été utilisées. Ces vaches, âgées de 35 mois étaient en première lactation et avaient vêlé en même temps que les précédentes vaches. Chacune des vaches fistulées du rumen a été couplée à une des vaches à carotide extériorisée, de manière à suivre exactement le même schéma expérimental. En 6^e et 18^e semaines (2 repas par jour) la digestibilité apparente des deux régimes a été mesurée sur les 4 vaches par collecte totale des fèces pendant 5 jours. Le jour des prises de sang sur les vaches à carotide extériorisée, et aux mêmes heures, du jus de rumen a été prélevé sur les vaches fistulées du rumen.

Les analyses. — Aussitôt après le prélèvement du sang, l'hématocrite a été déterminé à l'aide d'une centrifugeuse à micro-hématocrite, et un échantillon pondéré sur la journée a été réalisé pour l'analyse des acides aminés libres du sang selon la technique de Moore et Stein modifiée par Pawlak et Pion (1968). Puis le sang a été centrifugé et déféqué (1 vol. de plasma pour 2 vol. HClO₄ 0,6 M). Sur le plasma déféqué le glucose a été déterminé par la méthode à la glucose oxydase-peroxydase (Trinder, 1969), l'urée par la méthode à la diacétylmonoxyme (Michel, 1971), le bêtahydroxybutyrate suivant une adaptation de la méthode de Williamson et Mellanby (1974) et l'acétate suivant une modification de la méthode de Guynn et Veech (1975).

Sur tous les échantillons de lait, les taux de matières grasses et de protéines ont été déterminés à l'aide d'un « Milko-tester ». Sur les échantillons des traites séparées, la teneur en urée a été déterminée après défécation (1 vol. de lait pour 10 vol. TCA, 10 p. 100) selon la méthode de Michel (1971) et la teneur en lactose sur un échantillon déféqué (1 vol. de lait pour 2 vol. de HClO₄ 0,6 M) selon la méthode de Kurz et Wal-lenfels (1974).

La composition en acides gras du lait a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. La teneur en ammoniacque du jus de rumen, après adjonction d'un conservateur (1 vol./1 vol. NaCl 10 p. 100) a été déterminée par la méthode de Berthelot adaptée à un auto-analyseur. L'analyse des teneurs en acides gras volatils du jus de rumen a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse. Les échantillons d'aliments et de fèces ont été analysés individuellement pour la matière sèche, les matières minérales (12 h à 550 °C), l'azote (Kjeldahl), la cellulose (Weende) et l'extrait éthéré.

Résultats.

Ingestion, production, digestion.

Ingestion et production. — Les refus ont été négligeables, si bien que les rapports entre les quantités d'aliment effectivement ingérées par les animaux durant la dernière semaine de chaque période expérimentale (tabl. 2), ont été très proches de ceux qui avaient été prévus.

Les effets du type de régime et de la fréquence d'alimentation sur les quantités de lait produites n'ont pas été suffisants pour pouvoir être distingués de ceux du stade de

lactation (tabl. 2). La production de la vache 74102 a fortement baissé lorsqu'elle est passée du régime C70 au régime C30. Cette vache avait déjà présenté une très mauvaise persistance en première lactation. Les deux vaches ont produit un lait de composition différente. En moyenne les teneurs en matières grasses et en protéines se sont normalement accrues avec l'avancement de la lactation tandis que celle en lactose a diminué (tabl. 2). Il n'apparaît pas de différences nettes dans la composition du lait et la composition en acides gras des matières grasses du lait suivant le nombre de distribution des aliments (tabl. 2). Le type régime n'a eu aucune influence sur les teneurs en matières grasses, en protéines et en lactose du lait. Cependant, il a légèrement modifié la teneur en urée du lait et la composition en acides gras des matières grasses du lait. Avec le régime C70, en raison probablement de sa teneur en matière azotée plus élevée, la teneur en urée du lait a été supérieure de 30 p. 100 à celle obtenue avec le régime C30. La proportion en acides gras à 16 carbones a été plus élevée pour le régime C70 (31.5 contre 26.3 p. 100) alors que celle des acides gras à 18 carbones a été plus faible (35.4 contre 42.9 p. 100). La proportion des acides gras insaturés a été plus élevée pour le régime C70 que pour le régime C30 (33.1 contre 27.6 p. 100).

TABLEAU 2

Ingestions et productions

Régime	C30				C70			
	Vaches		Vaches		Vaches		Vaches	
Nbre de repas/jour	2	8	2	8	2	8	2	8
Stade de lactation (semaines).....	7	11	19	21	19	21	7	11
Quantités ingérées (kg MS) :								
— Foin	5,2	4,9	6,3	5,6	2,4	2,3	4,0	3,9
— Pulpes	2,9	2,8	3,5	3,4	—	—	—	—
— Maïs	2,7	2,8	3,3	3,1	5,6	5,3	9,4	8,7
— Tourteau	0,8	0,7	0,9	0,9	0,9	0,8	1,8	1,7
Total	11,6	11,2	14,0	13,0	8,9	8,4	15,2	14,3
Production (kg) :								
— lait	19,4	16,6	15,4	15,2	13,5	12,6	32,2	30,1
— lait 4 p. 100	18,5	16,0	13,1	13,5	12,7	12,6	27,3	25,6
Composition du lait :								
— taux butyreux (g/kg)	36,8	37,4	30,2	32,7	36,2	40,2	29,9	30,1
— taux protéique (g/kg)	31,8	32,6	30,3	32,0	34,3	35,0	28,9	27,8
— lactose (g/kg)	47,1	47,2	44,2	40,1	45,5	44,1	49,6	47,1
— urée (g/kg)	0,19	0,25	0,35	0,29	0,32	0,27	0,40	0,39
Composition des matières grasses du lait (g/100 g) :								
C4 à C12	14,4	14,3	14,5	13,7	13,8	12,5	17,5	14,4
C14	11,8	13,6	12,8	13,0	11,6	10,3	11,2	12,2
Somme des C16	30,1	35,2	29,4	31,3	26,1	25,5	25,5	25,2
Somme des C18	36,9	32,2	36,3	36,1	41,8	46,4	42,4	41,1

Digestion et caractéristiques fermentaires. — Pour des niveaux d'alimentation similaires (3 fois les besoins énergétiques d'entretien) la digestibilité des matières organiques n'a pas été différente suivant le type de régime (tabl. 3). Par rapport au régime C30, le régime C70 s'est caractérisé par une digestibilité beaucoup plus faible de la cellulose Weende ($P < 0,05$) et une digestibilité plus élevée des matières azotées ($P < 0,05$) et de l'extrait éthéré ($P < 0,01$).

TABLEAU 3
Digestibilité de la ration

Régimes	C30	C70
Quantités ingérées (kg MS)	13,5 ± 0,91	12,6 ± 1,63
Coefficients de digestibilité (p. 100) :		
— Matière sèche	72,7 ± 0,63	73,7 ± 0,41
— Matière organique	75,4 ± 0,58	75,6 ± 0,44
— Matière cellulosique (cellulose Weende)	71,4 ± 1,01	64,4 ± 2,00
— Extrait éthéré	59,3 ± 0,84	75,9 ± 0,92
— Matière azotée ($N \times 6,25$)	61,8 ± 1,06	66,0 ± 0,33

(Moyennes de 4 vaches ± erreur standard).

Avec deux distributions d'aliment par jour, seuls, parmi les caractéristiques des fermentations dans le rumen, la teneur en ammoniacque et le pH du jus de rumen ont présenté des évolutions nycthémerales nettes (fig. 1). La teneur en ammoniacque a été maximum 1 h après le repas, puis elle a diminué rapidement pour atteindre un minimum 7 à 8 h après le repas. Le pH a été maximum avant le repas et a atteint son minimum 3 à 4 h après le repas. Ces évolutions ont disparu lorsque la ration a été distribuée en 8 fois par jour.

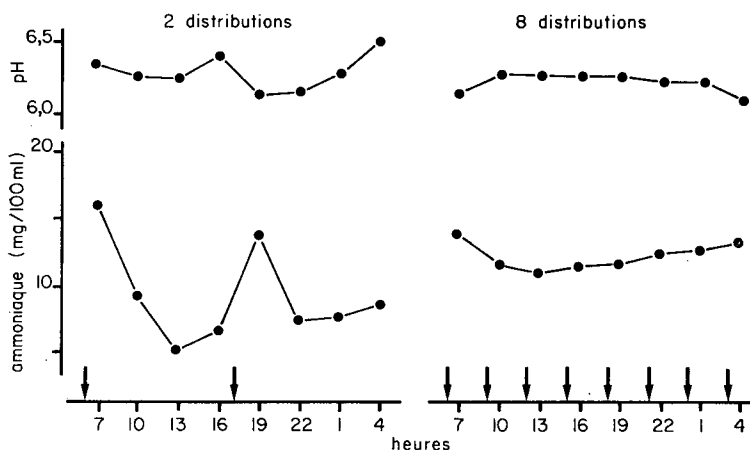


FIG. 1. — Évolutions nycthémerales du pH et de la teneur en ammoniacque du jus de rumen. (Moyenne des 2 vaches et des 2 régimes) ↓ = distribution d'aliments.

Le passage de 2 à 8 repas s'est traduit par une augmentation dans le jus de rumen des proportions d'acide acétique (62.2 contre 68.4 p. 100) et une diminution de celles de l'acide butyrique (15.7 contre 12 p. 100) pour les vaches à carotide extériorisée. Chez les vaches fistulées du rumen, ce passage s'est traduit par une légère augmentation de la teneur moyenne en acides gras volatils et en ammoniacque (tabl. 4). Par rapport au régime C30, le régime C70 conduit aussi bien chez les vaches à carotide extériorisée que chez les vaches fistulées du rumen à une élévation des proportions d'acide butyrique et des acides gras volatils mineurs. Quel que soit le type de régime le rapport des concentrations d'acide acétique sur celles d'acide propionique a été de 3,7. Pour les vaches fistulées du rumen, le régime C70 s'est aussi traduit par une élévation de la teneur en ammoniacque du jus de rumen (tabl. 4).

TABLEAU 4

Caractéristiques fermentaires des rations

	Nombre de repas/jour		Régime	
	2	8	C30	C70
pH.....	6,28 ± 0,12	6,41 ± 0,05	6,39 ± 0,08	6,31 ± 0,11
Acidité totale (mmole/l)	88,7 ± 3,99	94,8 ± 0,88	67,5 ± 0,39	66,0 ± 0,80
Composition (moles p. 100) :				
— C2	67,1 ± 0,54	66,4 ± 0,88	67,5 ± 0,39	66,0 ± 0,80
— C3	17,9 ± 0,88	17,3 ± 0,34	18,3 ± 0,37	17,0 ± 0,73
— C4	12,0 ± 0,50	13,1 ± 0,92	11,6 ± 0,28	13,5 ± 0,79
Iso C4 + Iso C5 + C5	3,0 ± 0,23	3,1 ± 0,34	2,6 ± 0,07	3,5 ± 0,12
Ammoniacque (mg/100 ml)	9,4 ± 1,87	12,4 ± 1,66	8,7 ± 0,7	13,2 ± 1,97

(Moyennes de la journée et de deux vaches ± erreur standard).

Les paramètres sanguins.

Les variations nyctémérales des teneurs artérielles et des différences artério-veineuses.

— Les variations nyctémérales des teneurs artérielles ont été similaires entre vaches et aussi entre régimes excepté pour l'acétate. Aussi, l'étude de l'effet du nombre de repas a été effectuée sur la moyenne des deux vaches et des deux régimes, pour l'hématocrite, l'urée, le glucose et le bêtahydroxybutyrate. Pour l'acétate cet effet a été étudié séparément sur les deux régimes.

Lorsque les rations ont été distribuées en deux fois par jour, il a été possible de distinguer deux types de constituants sanguins. Ceux dont le taux artériel n'a pas présenté de variations nyctémérales importantes, c'est-à-dire le glucose et l'hématocrite, et ceux qui ont présenté des variations importantes, c'est-à-dire l'acétate, le bêtahydroxybutyrate et l'urée (fig. 2). Les variations nyctémérales des taux artériels d'acétate et de bêtahydroxybutyrate ont été similaires, l'amplitude de ces variations étant plus grande pour l'acétate. Les teneurs ont été minimales avant le repas puis maximales 4 à 5 h après. Le régime C70 s'est distingué du régime C30 par une amplitude des variations nyctémérales du taux d'acétate beaucoup plus faible. Le taux

artériel d'urée a été maximum 1 h après le repas puis a diminué assez rapidement pour atteindre un minimum 7 à 8 h après le repas pour ensuite légèrement remonter (fig. 2).

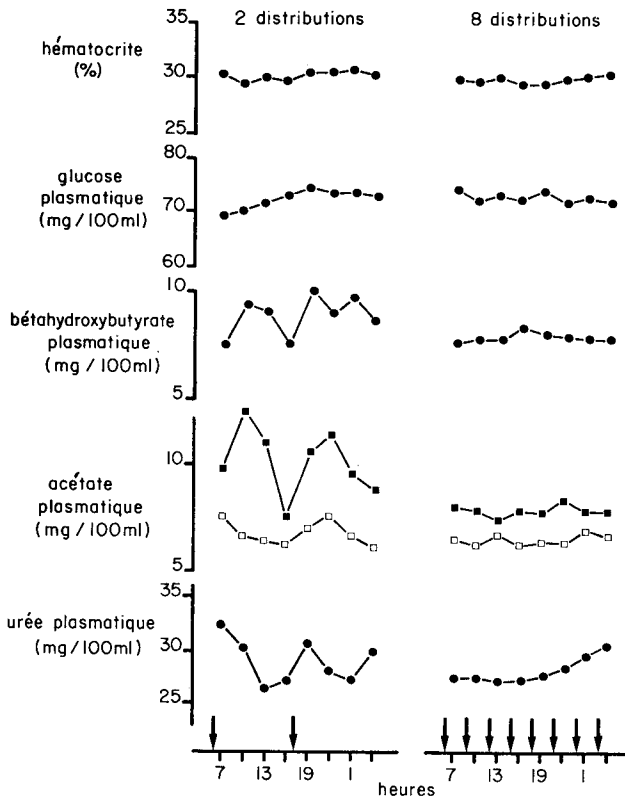


FIG. 2. — Évolutions nycthémerales des taux artériels

↓ = Distribution d'aliment ; ● = Moyenne des deux vaches et des deux régimes ; ■ = Moyenne des deux vaches régimes C30 ; □ = Moyenne des deux vaches régime C70.

Lorsque les rations ont été distribuées en 8 repas par jour, les variations nycthémerales du taux artériel de l'hématocrite, du glucose, de l'acétate, du bêtahydroxybutyrate ont été très atténuées (fig. 2). La teneur artérielle en urée est restée stable durant la journée pour ensuite s'élever progressivement durant la nuit (fig. 2).

Excepté pour l'urée et l'hématocrite dont les différences artérioveineuses ont toujours été nulles, les variations nycthémerales des différences artérioveineuses mammaires en glucose, acétate et bêtahydroxybutyrate ont suivi celles des taux artériels en raison des très faibles variations des taux veineux. Les taux artériels et les différences artérioveineuses de glucose, d'acétate, et bêtahydroxybutyrate ont évolué de la même façon et avec la même amplitude le jour et la nuit. Sur le nycthémère les coefficients de variation des taux artériels de ces 3 métabolites ont été plus

élevés avec deux distributions d'aliment (3, 15, 10 p. 100) qu'avec huit distributions (2, 7 et 6 p. 100). Les coefficients de variation de leurs différences artério-veineuses ont été supérieurs à ceux des taux artériels, mais ils ont été aussi plus élevés avec deux distributions d'aliment (11, 17 et 12 p. 100) qu'avec huit distributions (9, 8 et 8 p. 100).

Les différences artério-veineuses (D, mg/100 ml) et les taux artériels (A, mg/100 ml) mesurés à une heure déterminée ont été en relation très étroite pour l'acétate et le bêtahydroxybutyrate, alors que cela n'a pas été le cas pour le glucose :

Acétate : $D = 0.67 A - 0.17$ ($r = 0.95$; $\sigma_{\text{res}} = 0.40$; $n = 64$)

Bêtahydroxybutyrate : $D = 0.35 A + 0.31$ ($r = 0,91$; $\sigma_{\text{res}} = 0.31$; $n = 64$)

Glucose : $D = 0.15 A + 4.48$ ($r = 0.19$; $\sigma_{\text{res}} = 2.47$; $n = 64$).

Les taux artériels et les différences artério-veineuses moyens. — Sur l'ensemble de l'essai les taux artériels plasmatiques moyens (mg/100 ml) ont été de : 71,2 pour le glucose, 7,89 pour l'acétate, 8,82 pour le bêtahydroxybutyrate, 28,8 pour l'urée et l'hématocrite moyen a été de 29 p. 100. Les différences artério-veineuses mammaires moyennes (mg/100 ml) ont été de : 15,1 pour le glucose, 5,2 pour l'acétate et 3,4 pour le bêtahydroxybutyrate. Les pourcentages d'extraction moyens (différence artério-veineuse \times 100/taux artériel) ont été de 21 p. 100 pour le glucose, 63 p. 100 pour l'acétate, 39 p. 100 pour le bêtahydroxybutyrate. Ces paramètres n'ont pas varié avec le stade de lactation excepté une baisse du glucose. Respectivement en 7^e, 11^e, 19^e et 21^e semaine de lactation les différences artério-veineuses de glucose ont été en moyenne de : 17,9 ; 15,7 ; 13,7 ; 13,1 mg/100 ml et les taux d'extraction de : 26 ; 22 ; 20 et 19 p. 100.

— *Effets de la fréquence de distribution des aliments.* L'hématocrite, les taux artériels d'urée et de glucose et les différences artério-veineuses de glucose n'ont pas été modifiés par la fréquence de distribution des aliments. L'augmentation du nombre de distributions d'aliment s'est traduite par une diminution des taux artériels et des différences artérioveineuses d'acétate (— 16 p. 100) et de bêtahydroxybutyrate (— 8 p. 100), sans modification des pourcentages d'extraction (tabl. 5). Les diminutions concernant l'acétate ont été plus importantes avec le régime C30 qu'avec le régime C70.

Avec le régime C70, le passage de 2 à 8 distributions d'aliment a provoqué une diminution du taux artériel des acides aminés indispensables (— 19 p. 100) et surtout de leur différence artério-veineuse (— 41 p. 100). Avec le régime C30, cet effet a été faible pour les teneurs (— 8 p. 100) et nul pour les différences artérioveineuses (tabl. 6). Avec le régime C70 les taux artériels de tous les acides aminés indispensables ont diminué de plus de 10 p. 100, excepté ceux d'isoleucine qui n'ont pas été modifiés. Avec le régime C30, les taux artériels de lysine, de méthionine, et d'isoleucine ont présenté les baisses les plus importantes. Quel que soit le type de régime, l'augmentation du nombre de distribution des aliments s'est traduite pour la valine, l'histidine, la méthionine, la phénylalanine et la lysine par une diminution des différences artério-veineuses et (sauf pour la lysine) par une diminution des pourcentages d'extraction (tabl. 6). Le taux artériel en acides aminés non indispensables a diminué avec l'augmentation de la fréquence de distribution des aliments uniquement pour le régime

TABLEAU 5

Hématocrite et constituants sanguins

Régimes		C30				C70			
		74059		74102		74059		74102	
Vaches		2		8		2		8	
Nombre de repas/24 h		2		8		2		8	
Hématocrite (p. 100)	A	28	28	32	32	28	27	29	29
	A-V	0	0	0	0	0	0	0	0
Glucose	A	68,2	69,9	75,1	74,5	68,9	68,0	72,3	72,7
	A-V	16,5	16,1	13,9	14,2	13,5	11,9	19,2	15,2
	E	24	23	19	19	20	18	27	21
Bétahydroxybutyrate	A	7,7	6,4	9,9	9,1	7,6	7,7	11,9	10,4
	A-V	3,0	2,5	3,8	3,4	3,0	3,1	4,4	3,9
	E	39	40	38	38	39	40	37	38
Acétate	A	9,7	8,2	10,7	7,6	6,1	6,0	7,8	7,2
	A-V	6,4	5,2	6,9	5,0	4,2	4,0	5,2	4,6
	E	66	64	65	61	68	68	68	64
Urée	A	18,6	19,9	31,7	30,3	30,2	26,2	36,3	36,7
	A-V	-0,2	-0,1	0,0	0,0	0,2	-0,3	-0,8	0,0
	E	—	—	—	—	—	—	—	—

A = teneur artérielle plasmatique (mg/100 ml) ; A-V = différence artério-veineuse (mg/100 ml) ; E = pourcentage d'extraction p. 100 (A-V/A × 100).

C70. Cette diminution a été très nette pour l'acide aspartique (— 23 p. 100), la citrulline (— 24 p. 100) et la glutamine (— 21 p. 100). Les effets sur les différences artério-veineuses et les pourcentages d'extraction des acides aminés non indispensables ont été faibles et non systématiques.

— *Effets du type de régime.* Les paramètres concernant l'hématocrite et le glucose n'ont pas été modifiés par la nature du régime. Avec le régime C70 les taux artériels et les différences artério-veineuses ont été plus faibles pour l'acétate (— 25 p. 100) et plus élevés pour le bétahydroxybutyrate (+ 13 p. 100) (tabl. 5). Ces écarts ont été plus importants (surtout pour l'acétate) avec 2 distributions d'aliment qu'avec 8. Les taux d'extraction d'acétate et de bétahydroxybutyrate n'ont pas été modifiés par le type de régime. En raison probablement de la teneur en matières azotées plus élevée, les taux d'urée ont été plus élevés (+ 29 p. 100) avec le régime C70.

Le taux artériel des acides aminés indispensables a été légèrement plus faible avec le régime C70. Ce sont principalement les taux de la lysine, la valine, l'isoleucine et l'arginine qui ont été plus faibles, cependant les différences artério-veineuses de ces acides aminés (valine exceptée) n'ont pas été différentes de celles obtenues avec le régime C30 (tabl. 6). Le taux artériel des acides aminés non indispensables a été plus élevé avec le régime C70. Ce sont principalement l'acide glutamique, la glutamine, l'asparagine et la sérine qui ont présenté des taux artériels plus élevés. Les différences artério-veineuses et les pourcentages d'extraction de ces acides aminés ont aussi été

TABLEAU 6

Acides aminés libres du sang

Régimes	C30						C70					
	2 repas		3 repas		2 repas		3 repas		2 repas		8 repas	
	A	A-V	E	A	A-V	E	A	A-V	E	A	A-V	E
Nombre de repas												
Méthionine.....	0,43	0,17	40	0,30	0,11	37	0,35	0,22	63	0,31	0,14	44
Phénylalanine	0,87	0,27	31	0,85	0,24	28	0,90	0,39	43	0,80	0,26	33
Leucine.....	2,25	0,51	23	2,04	0,62	30	2,61	1,00	38	2,13	0,55	26
Thréonine	1,70	0,13	7	1,68	0,54	32	2,22	0,67	30	1,46	0,13	9
Lysine	1,48	0,51	34	1,24	0,44	35	1,16	0,58	50	0,83	0,42	50
Arginine	0,53	0,23	43	0,52	0,25	48	0,47	0,27	57	0,39	0,21	54
Isoleucine	1,36	0,38	28	1,21	0,37	31	1,05	0,39	37	1,04	0,40	38
Histidine.....	1,54	0,24	15	1,41	0,06	4	1,49	0,21	14	1,26	0,17	13
Valine	2,71	0,32	12	2,56	0,18	7	2,27	0,76	33	1,87	0,39	21
Total acides aminés indispensables	12,87	2,76	21	11,81	2,81	24	12,52	4,49	36	10,09	2,67	26
Acide glutamique	1,06	0,25	24	1,18	0,32	27	1,29	0,43	33	1,22	0,43	35
Asparagine	0,39	0,14	36	0,38	0,14	37	0,47	0,15	32	0,41	0,15	37
Proline.....	0,96	0,15	16	1,19	0,26	22	1,31	0,19	15	1,25	0,18	14
Ornithine	0,60	0,18	30	0,71	0,15	21	0,54	0,26	48	0,45	0,25	56
Acide aspartique.....	1,64	-0,09	-	1,87	0,16	9	2,13	0,28	13	1,63	0,09	6
Glutamine	1,79	0,33	18	1,77	0,44	25	2,53	0,80	32	1,39	0,51	26
Glycine	2,41	-0,04	-	2,39	0,04	2	3,25	0,45	14	2,70	-0,48	-18
Citrulline	1,44	-0,21	-	1,33	0,07	5	1,78	0,16	9	1,36	0,20	15
Sérine	0,99	0,13	13	0,86	0,19	22	1,27	0,33	26	1,23	0,42	34
Alanine.....	2,92	0,05	2	1,97	0,22	11	1,94	0,38	20	1,90	0,13	7
Total acides aminés non indispensables	13,4	0,89	7	13,7	1,99	15	16,6	3,43	21	14,1	1,88	13
Total acides aminés	26,3	3,65	14	25,5	4,8	19	29,1	7,92	27	24,2	4,55	19

A-V = différence artério-veineuse (mg/100 ml) ; $E = \frac{A-V}{A} \times 100$.

plus élevés. Avec le régime C70 l'ornithine a présenté des taux artériels plus faibles, mais des différences artério-veineuses et des pourcentages d'extraction plus élevés qu'avec le régime C30.

Discussion.

Le sang prélevé dans la veine sous-cutanée abdominale peut être contaminé par du sang non mammaire suite à une insuffisance des valvules de la veine pudique externe (Peeters *et al.*, 1979). Cette insuffisance n'est cependant pas très fréquente chez les vaches, qui comme dans cet essai, sont en seconde lactation (Linzell, 1974).

La technique de prélèvement utilisée dans cet essai permet d'obtenir simultanément et très rapidement du sang artériel et veineux sans que l'animal cesse ses activités. Elle semble correcte puisque l'hématocrite ne varie pas et n'est pas différent entre artère et veine (Linzell, 1974). Les taux moyens d'extraction mammaire de glucose, d'acétate et bêtahydroxybutyrate mesurés dans cet essai (21, 63, 39 p. 100) sont d'ailleurs très proches de ceux obtenus (21, 61 et 31 p. 100) par Annison, Bickerstaffe et Linzell (1974). Pour apprécier les différences artério-veineuses mammaires avec une précision de 5 p. 100, en se basant sur le constituant sanguin le plus variable, 4 prélèvements seraient nécessaires en alimentation « continue » et 8 dans le cas de 2 distributions par jour. Cependant, si le nombre de prélèvements dépend de la fréquence d'alimentation, la répartition de ceux-ci par rapport à la distribution des aliments en dépend aussi.

Effet de la fréquence d'alimentation.

Deux distributions par jour. — Les évolutions nyctémérales des teneurs artérielles d'acétate, de bêtahydroxybutyrate et d'urée ont correspondu à des évolutions prandiales. Bines et Davey (1978), Thye, Warner et Miller (1970) et Bines et Hart (1977) ont déjà observé que le maximum des taux (artériels ou jugulaires) d'acétate et de bêtahydroxybutyrate se situait 3 à 5 h après la distribution des aliments. Comme dans l'essai de Thornton (1970), les variations post-prandiales de la teneur en urée du plasma ont été liées à celles des teneurs en ammoniacque du jus de rumen. Le maximum de teneur en urée se situe 1 à 2 h après la distribution des aliments comme dans l'essai de Thomas et Kelly (1976). Avec des régimes à plus faible teneur azotée, généralement ingérés plus lentement, il a lieu plus tard : 7 à 9 h (Coggins et Field, 1976). Les évolutions post-prandiales de la teneur plasmatique en glucose sont sujettes à controverse, car pour certains les teneurs augmentent après la distribution des aliments (Bowden, 1973) pour d'autres, elles diminuent (Bines et Davey, 1978) ou encore comme dans cet essai elles n'évoluent pas (Thomas et Kelly, 1976).

Les différences artério-veineuses mammaires de glucose dépendent linéairement des taux artériels de glucose lorsque la plage de variation de ceux-ci est très étendue (Linzell, 1960). Dans cet essai, comme dans celui de Davis et Bickerstaffe (1978), la plage de variation des taux artériels de glucose a été très étroite, et aucune relation entre les différences artério-veineuses mammaires et les taux artériels de glucose n'a pu être établie. Par contre, tout comme chez la chèvre (Linzell, 1960), les valeurs des différences artério-veineuses mammaires d'acétate et de bêtahydroxybutyrate sont

étroitement liées à leurs concentrations artérielles respectives. De ce fait, le rapport entre le prélèvement d'acétate et de bêtahydroxybutyrate d'une part celui de glucose d'autre part est plus faible avant la distribution des aliments que 3 à 5 h plus tard.

Huit distributions par jour. — Le passage de deux à huit distributions d'aliment par jour a permis de stabiliser les taux artériels et les différences artério-veineuses mammaires d'acétate et de bêtahydroxybutyrate. Cependant, cette stabilisation s'est traduite par une diminution des valeurs moyennes des taux artériels et des différences artério-veineuses mammaires d'acétate, de bêtahydroxybutyrate et des acides aminés libres indispensables. La diminution des taux artériels d'acétate et de bêtahydroxybutyrate avec l'augmentation de la fréquence de distribution des aliments ne semble pas être due à une diminution de la production de leurs précurseurs ruminiaux. En effet, comme dans les essais où les animaux recevaient les rations en quantité limitée (Satter et Baumgardt, 1962 ; Bath et Rook, 1963) l'alimentation « continue » n'a pas modifié la composition en acides gras volatils ni le pH du jus de rumen. Dans notre essai, il est cependant très difficile de relier les paramètres sanguins aux paramètres de la digestion dans le rumen puisqu'ils n'ont pas été mesurés sur les mêmes vaches. Une réduction des teneurs en acides aminés libres du plasma, consécutive à l'augmentation de la fréquence d'alimentation a déjà été observée chez les monogastriques ou elle résulterait d'une augmentation de la captation des acides aminés par le muscle (Munro, 1970).

Il est nécessaire pour tenir compte des évolutions prandiales d'augmenter la fréquence des prélèvements sanguins durant les 4 à 5 h qui suivent la distribution des aliments lorsque celle-ci se fait 2 fois par jour, mais pas lorsqu'elle se fait 8 fois par jour. Techniquement, l'alimentation « continue » est avantageuse pour la mesure des différences artério-veineuses mammaires. En effet, par rapport à une alimentation traditionnelle, elle nécessite moins de prélèvements sanguins et n'impose aucune contrainte sur le moment de ces prélèvements. Cependant, elle modifie les valeurs moyennes des différences artério-veineuses mammaires.

Effet du type de régime.

En rapport avec les variations respectives d'acide acétique et butyrique dans le rumen, les taux artériels et les différences artério-veineuses ont été plus faibles pour l'acétate et plus élevées pour le bêtahydroxybutyrate avec le régime riche en concentré qu'avec le régime riche en fourrage. Les différences entre les deux types de régime n'ont cependant pas été aussi importantes que celles enregistrées par Annison, Bickerstaffe et Linzell (1974) et de plus elles ont été opposées pour le bêtahydroxybutyrate. En fait, le régime à forte proportion de concentré n'a pas conduit à une fermentation de type propionique qui est classiquement observée (Davis et Brown, 1970), mais une fermentation butyrique. Ceci peut provenir d'un effet tampon du carbonate de chaux inclus dans le concentré (Thomas et Rook, 1977), de la lenteur des fermentations du maïs dans le rumen, de la limitation des quantités distribuées (Remond, 1972).

Les écarts entre régime n'ont pas été les mêmes suivant que les différences artério-veineuses ont été mesurées avec une alimentation « continue » ou qu'elles ont été mesurées avec deux distributions d'aliment par jour. En effet, par rapport au régime pauvre en concentré, les différences artério-veineuses de bêtahydroxybutyrate

obtenues avec le régime riche en concentré ont été supérieures de 9 p. 100 avec 2 distributions et de 17 p. 100 avec 8 distributions ; celles d'acétate ont été inférieures, de 30 p. 100 avec 2 distributions et de 16 p. 100 avec 8 distributions. En raison de ces interactions entre la nature du régime et la fréquence d'alimentation, les mesures de différences artério-veineuses mammaires obtenues expérimentalement avec une alimentation « continue » ne peuvent être extrapolées à une alimentation traditionnelle. Ces interactions auraient pu être plus importantes si les régimes avaient conduit à des orientations des fermentations dans le rumen très différentes.

Les taux d'incorporation. — L'estimation du taux d'incorporation d'un métabolite (rapport entre les quantités prélevées par la mamelle et les quantités produites dans le lait) nécessite celle du débit sanguin ou plasmatique. La compilation des expériences où le débit plasmatique mammaire a été mesuré sur des vaches par thermodilution (Annison, Bickerstaffe et Linzell, 1974 ; Bickerstaffe, Annison et Linzell, 1974 ; Paterson et Linzell, 1974) a permis d'obtenir la relation suivante entre le débit plasmatique mammaire (l/min) et la production laitière journalière (kg/j) :

$$\text{Débit plasmatique} = 0.270 \text{ production de lait} + 0.671 \quad (r = 0.91 ; n = 54).$$

En utilisant cette relation, le taux d'incorporation du glucose plasmatique dans le lactose du lait aurait été de 146 p. 100 dans notre essai. Cette valeur est très proche de 139 p. 100 mesurés par Bickerstaffe, Annison et Linzell (1974). Exception faite de l'arginine pour laquelle notre estimation du taux d'incorporation est inférieure, celles des autres acides aminés indispensables sont toujours nettement supérieures aux mesures de Bickerstaffe, Annison et Linzell (1974) et de Peeters *et al.* (1979) (tabl. 7). Ces divergences peuvent provenir de notre estimation du débit et du fait que nos analyses ont été réalisées sur le sang et non sur le plasma.

Il semblerait d'après notre essai que l'alimentation continue conduite à une diminution des différences artério-veineuses des précurseurs importants des matières grasses du lait. Lorsque les animaux sont alimentés en quantités limitées, l'augmenta-

TABLEAU 7

Taux d'incorporation des acides aminés libres sanguins et du glucose dans le lait

Alimentation	Cet essai		Peeters <i>et al.</i> (1979)	Bickerstaffe <i>et al.</i> (1974)
	2 distributions	8 distributions	2 distributions	continue
Méthionine	158 ± 17	104 ± 18	83	77
Phénylalanine	125 ± 18	103 ± 18	95	72
Leucine	128 ± 49	135 ± 21	99	98
Lysine	133 ± 29	107 ± 15	121	91
Arginine	142 ± 11	138 ± 17	233	209
Isoleucine	133 ± 13	141 ± 17	137	98
Histidine	161 ± 42	110 ± 20	61	92
Valine	128 ± 34	88 ± 19	120	139
Glucose	149 ± 5	143 ± 8	119	139

Taux d'incorporation = quantité prélevée par la mamelle/quantité sécrétée dans le lait.

tion de la fréquence de distribution des aliments ne modifie pas la production de lait, ni sa composition, ni la composition en acides gras des matières grasses du lait (Thomas et Kelly, 1976). Il est possible que la diminution des différences artério-veineuses soit compensée par une augmentation du débit sanguin et qu'ainsi les prélèvements mammaires ne soient pas modifiés.

Conclusion.

Cette étude de caractère essentiellement méthodologique, n'a été entreprise que sur un nombre restreint d'animaux et de ce fait n'a pu mettre clairement en évidence l'effet de chacun des facteurs sur les différences artério-veineuses mammaires. Cependant il apparaît qu'avec une alimentation continue les différences artério-veineuses mammaires ne varient pas durant le nyctémère, alors qu'avec une alimentation traditionnelle (deux distributions d'aliment par jour) les différences artério-veineuses mammaires de certains constituants sanguins présentent des pics post-prandiaux. Ainsi, l'augmentation de la fréquence de distribution des aliments permet de réduire le nombre de prélèvements, mais elle modifie les différences artério-veineuses mammaires, et ces modifications ne sont pas les mêmes suivant le type de régime.

Expérimentalement, l'alimentation « continue » est avantageuse car elle permet de maintenir la mamelle en état stationnaire, mais les résultats obtenus avec cette technique ne sont pas extrapolables à la pratique puisque généralement les animaux sont alimentés deux fois par jour. Aussi, pour des études de comparaison de régime, une alimentation traditionnelle semble mieux adaptée, à condition d'effectuer un nombre de mesures suffisant pour tenir compte des évolutions post-prandiales des différences artério-veineuses mammaires. Il apparaît en outre indispensable que les mesures des différences artério-veineuses et les mesures des caractéristiques digestives et fermentaires des régimes soient effectuées sur le même animal.

Reçu en mars 1980.

Accepté en septembre 1980.

Remerciements. — Nous remercions vivement M. Lefavre pour la réalisation des opérations chirurgicales et M. Pion pour les dosages d'acides aminés.

Références

- ANNISON E. F., BICKERSTAFFE R., LINZELL J. L., 1974. Glucose and fatty acid metabolism in cows producing milk of low fat content. *J. agric. Sci., Camb.*, **82**, 87-95.
- BATH I. H., ROOK J. A. F., 1963. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids. I: The effects of level of intake, frequency of feeding, the ratio of hay to concentrates in the diets, and of supplementary feeds. *J. agric. Sci.*, **61**, 341-348.
- BICKERSTAFFE R., ANNISON E. F., LINZELL J. L., 1974. The metabolism of glucose, acetate, lipids and amino acids in lactating dairy cows. *J. agric. Sci., Camb.*, **82**, 71-85.
- BINES J. A., DAVEY A. W. F., 1978. Metabolic changes associated with intake by cows of complete diets containing straw and concentrates in different proportions. *Br. J. Nutr.*, **39**, 567-578.
- BINES J. A., HART J. C., 1977. Milk or meat, 87-98. In LISTER D., *Blood profiles in animal production*. Occasion Publ. n° 1, Brit. Soc. anim. Prod.
- BOWDEN D. M., 1973. Effects of postfeeding interval on blood constituents related to energy metabolism in non pregnant Angus and Hereford heifers. *Can. J. anim. Sci.*, **53**, 641-646.

- COGGINS C. R. E., FIELD A. C., 1976. Diurnal variation in the chemical composition of plasma from lactating beef cows on three dietary energy intakes. *J. agric. Sci., Camb.*, **86**, 595-602.
- DAVIS S. R., BICKERSTAFFE R., 1978. Mammary glucose uptake in the lactating ewe and the use of Methionine arterio-venous difference for the calculation of mammary blood flow. *Aust. J. biol. Sci.*, **31**, 133-139.
- DAVIS C. L., BROWN R. E., 1970. Low fat milk synchome, 545-565. In PHILLIPSON A. T., *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriol Press.
- GUYNN R. W., VEECH R. L., 1975. Enzymatic determination of acetate, 302-307. In LOWENSTEIN J. M. *Methods in enzymology*, Vol. **35**, part B, Acad. Press, N.Y.
- KAUFMAN W., 1976. Influence of the composition of the ration and the feeding frequency on pH regulation in the rumen and on feed intake in ruminants. *Livestock Prod. Sci.*, **3**, 103-114.
- KURZ G., WALLENFELS K., 1974. Lactose and other B-D Galactosides. In H. U. BERGMAYER *Methods of enzymatic analysis*. Vol. **3**, 1180-1184. Acad. Press, N.Y., 2^e éd.
- LINZELL J. L., 1960. Mammary gland blood flow and oxygen, glucose and volatile fatty acid uptake in the conscious goat. *J. Physiol.*, **153**, 492-500.
- LINZELL J. L., 1974. Mammary blood flow and methods of identifying and measuring precursors of milk, 143-225. In FALCONNER I. R. *Lactation*. Butterworths, London.
- McDOWELL R. E., UNDERWOOD P. C., LEHMANN R. H., BARRADA M. S., 1966. Procedure for exteriorizing the carotid artery in the bovine. *J. Dairy Sci.*, **49**, 78-80.
- MICHEL M. C., 1971. *Analyse quantitative de quelques substances azotées et glucidiques en milieu biologique. Essai de rationalisation*. Th. Doct. Univ., Clermont-Ferrand.
- MUNRO H. N., 1970. Free amino acid pools and their role in regulation, 299-386. In H. N. MUNRO *Mammalian protein metabolism*. Acad. Press, New York, London.
- PATERSON J. Y. F., LINZELL J. L., 1974. Cortisol secretion rate, glucose entry rate and the mammary uptake of cortisol and glucose during pregnancy and lactation in dairy cows. *J. Endocr.*, **62**, 371-383.
- PAWLAK M., PION R., 1968. Influence de la supplémentation des protéines de blé par des doses croissantes de lysine sur la teneur en acides aminés libres du sang et du muscle de rat en croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 517-530.
- PEETERS G., HOUVENAGHEL A., ROETS E., MASSART-LEEN A. M., VERBEKE R., DHONDT G., VERSCHOOTEN F., 1979. Electromagnetic blood flow recording and balance of nutrients in the udder of lactating cows. *J. anim. Sci.*, **48**, 1143-1153.
- REMOND B., 1972. Alimentation des vaches laitières avec des rations à proportion variable d'aliments concentrés : production et composition du lait, et digestion dans le rumen. *Ann. Zootech.*, **21**, 551-566.
- SATTER L. D., BAUMGARDT B. R., 1962. Changes in digestive physiology of bovine associated with various feeding frequencies. *J. anim. Sci.*, **21**, 897-900.
- SPIRES H. R., CLARK J. H., DERRIG R. G., DAVIS C. L., 1975. Milk production and nitrogen utilization in response to postruminal infusion of sodium caseinate in lactating cows. *J. Nutr.*, **105**, 1111-1121.
- THOMAS P. C., ROOK J. A. F., 1977. Manipulation of rumen fermentation, 83-109. In W. HARESIGN, D. LEWIS. *Recent advances in animal nutrition*. Butterworths, London.
- THOMAS P. C., MORAG E. KELLY, 1976. The effect of frequency of feeding on milk secretion in the Ayrshire cow. *J. Dairy Res.*, **43**, 1-7.
- THORNTON R. F., 1970. Factors affecting the urinary excretion of urea nitrogen in cattle. II. Plasma urea nitrogen concentration. *Aust. J. agric. Res.*, **21**, 145-152.
- THYE F. W. WARNER R. G., MILLER P. D., 1970. Relationship of various blood metabolites to voluntary feed intake in lactating ewes. *J. Nutr.*, **100**, 565-572.
- TRINDER P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. clin. Biochem.* **6**, 24-27.
- WILLIAMSON D. H., MELLANBY J., 1974. D (-)- β -hydroxybutyrate. In H. U. BERGMAYER, *Methods of enzymatic analysis*. Vol. **4**, 1836-1839. Acad. Press, N.Y., 2^e éd.
- ZIERLER K. L., 1961. Theory of the use of arteriovenous concentration differences for measuring metabolism in steady and non-steady states. *J. clin. Invest.* **40**, 2111-2125.