

Université de Montréal

**ÉVALUATION DE LA VALEUR PRONOSTIQUE DE LA LACTATÉMIE ET DE LA
TROPONINÉMIE LORS DE SYNDROME VACHE À TERRE**

par

JOSIANE LABONTÉ

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires option sciences cliniques

Avril 2016

© Josiane Labonté, 2016

Résumé

Le syndrome vache à terre (SVT) est rencontré chez la vache laitière et est une condition d'urgence à évolution rapide où le pronostic est réservé à sombre. Les seuls tests complémentaires disponibles actuellement nécessitent l'utilisation des services d'un laboratoire commercial. La présence d'hypoperfusion locale et systémique ainsi que de lésions cardiaques à la nécropsie rend potentiellement intéressant le dosage de la lactatémie (LAC) et de la troponinémie (cTnI) sanguine. Ces deux biomarqueurs pouvant être analysés à l'aide d'appareils portatifs. L'objectif de la présente étude était d'évaluer la valeur pronostique de la LAC et de la cTnI dosées à la ferme, directement au chevet de la vache laitière atteinte de SVT. Le pourcentage d'issue négative (mort ou euthanasie) à sept jours suivant l'inclusion (d7) était de 63.1 %. La lactatémie n'était pas associée au pronostic vital de l'animal lors de SVT. Par contre, une valeur sanguine de cTnI >0.7 ng/mL était associée à une issue négative à d7 (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative respectivement de 54.1 %, 78.4 %, 82.0 % et 48.3 %). L'utilisation d'un modèle de régression logistique multivariable a montré que cette hypertroponinémie était associée à un risque d'issue négative à d7 5.5 fois (IC_{95%}: 2.1-14.6) plus grand que le groupe présentant une cTnI ≤ 0.07 ng/mL. De plus, les animaux ayant une FC >100 BPM étaient 3.7 fois plus à risque (IC_{95%}: 1.5-10.2) de subir une issue négative à d7 que ceux présentant une FC ≤ 100 BPM.

Mots-clés: Syndrome vache à terre, vache laitière, lactatémie, troponinémie, pronostic, première ligne, bien-être animal

Abstract

Downer cow syndrome (DCS) is observed in dairy cattle and is an emergency condition that progresses rapidly and whose prognosis is reserved to poor. The only available complementary tests require the services of a commercial laboratory. The presence of local and/or systemic hypoperfusion, along with the presence of cardiac lesions at necropsy renders the dosage of lactatemia (LAC) and cardiac troponin I (cTnI) in the blood potentially interesting. These two biomarkers being measurable through the analysis of portable equipment, the present study objective was to evaluate the prognostic value of measuring LAC and cTnI directly at the side of the dairy cow affected by DCS. The percentage of negative outcome (death or euthanasia; NO) seven days following the study inclusion (d7) was 63.1%. LAC was not associated with the prognosis of the animal suffering from DCS. However, a blood cTnI value of $>0.7\text{ng/mL}$ was associated with a NO before d7 (sensitivity, positive and negative predictive values of 54.1, 78.4, 82.0, and 48.3%, respectively). The use of a logistic multivariable model demonstrated that hypertroponinemia was associated with a NO risk 5.5 greater ($95\%CI: 2.1-14.6$) by d7 than animals presented with a blood cTnI value of $\leq 0,07\text{ng/mL}$. The animals presenting a HR $> 100\text{BPM}$ were 3.7 times more at risk ($95\%CI: 1.5-10.2$) of exiting the herd by d7 than the animals with a HR of $\leq 100\text{BPM}$.

Keywords : Downer cow syndrome, dairy cow, lactatemia, cardiac troponin, prognosis, first line, animal welfare

Table des matières

RÉSUMÉ	II
ABSTRACT	III
TABLE DES MATIÈRES	IV
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES SIGLES	X
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XI
REMERCIEMENTS	XIV
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1: RECENSION DE LA LITTÉRATURE	2
1.1 LA VACHE À TERRE	2
1.1.1 DÉFINITION ET POPULATION À RISQUE	2
1.1.2 CAUSES.....	2
1.1.3 SIGNES CLINIQUES ET TRAITEMENTS	4
1.1.4 PRONOSTIC.....	4
1.1.5 DIFFÉRENCIATION ENTRE LA VACHE EN DÉCUBITUS ET LE SYNDROME VACHE À TERRE	5
1.2 SYNDROME VACHE À TERRE	5
1.2.1 HISTORIQUE DU SYNDROME VACHE À TERRE	5
1.2.2 DÉFINITION	6
1.2.3 POPULATION À RISQUE.....	9

1.2.4 SIGNES CLINIQUES	9
1.2.5 PATHOPHYSIOLOGIE	10
1.2.5.1 SYNDROME D'ÉCRASEMENT	10
1.2.5.2 SYNDROME DE COMPARTIMENTATION	12
1.2.6 LÉSIONS PATHOLOGIQUES.....	14
1.2.7 DIAGNOSTIC.....	15
1.2.8 PRONOSTIC.....	15
1.3 IMPORTANCE DU BIEN-ÊTRE ANIMAL LORS DE SYNDROME VACHE À TERRE.....	22
1.4 LA TROPONINÉMIE	23
1.4.1 ISOFORMES DE LA TROPONINE	23
1.4.2 PHYSIOLOGIE D'UNE CONTRACTION MUSCULAIRE CARDIAQUE	23
1.4.3 CINÉTIQUE DE LIBÉRATION DE LA TROPONINE I LORS DE DOMMAGE CARDIAQUE	25
1.4.4 TROPONINÉMIE SANGUINE NORMALE	25
1.4.5 DOSAGE DE LA TROPONINÉMIE.....	26
1.4.6 HYPERTROPONINÉMIE.....	29
1.4.7 VALEUR PRONOSTIQUE DE LA TROPONINÉMIE.....	29
1.5 LA L-LACTATÉMIE.....	33
1.5.1 LACTATE ET SES ISOMÈRES.....	33
1.5.2 MÉTABOLISME DU L-LACTATE.....	33
1.5.3 DOSAGE DE LA LACTATÉMIE	36
1.5.4 LACTATÉMIE SANGUINE NORMALE.....	38
1.5.5 HYPERLACTATÉMIE ET ACIDOSE LACTIQUE	40
1.5.6 VALEUR PRONOSTIQUE DE LA LACTATÉMIE	43
<u>HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE</u>	<u>47</u>
<u>CHAPITRE 2: ARTICLES</u>	<u>48</u>
2.1 MEASUREMENT OF CARDIAC TROPONIN I IN HEALTHY LACTATING DAIRY COWS USING A POINT OF CARE ANALYZER (I-STAT-1).....	48
2.2 PROGNOSTIC VALUES OF CARDIAC TROPONIN I AND L-LACTATEMIA BLOOD VALUES IN DAIRY COWS AFFECTED BY DOWNER COW SYNDROME.....	63

CHAPITRE 3 : AUTRES RÉSULTATS	97
CHAPITRE 4: DISCUSSION GÉNÉRALE	101
4.1 DÉFINITION DE CAS	101
4.2 IMPRESSION CLINIQUE	101
4.3 VALEUR PRONOSTIQUE DE LA LACTATÉMIE.....	102
3.4 VALEUR PRONOSTIQUE DE LA TROPONINÉMIE	104
4.5 VALEUR PRONOSTIQUE DE LA FRÉQUENCE CARDIAQUE	105
4.6 IMPORTANCE DU SYSTÈME CARDIO-VASCULAIRE LORS DE SYNDROME VACHE À TERRE	105
4.7 ANALYSE BIOCHIMIQUE.....	106
4.8 RETOUR SUR LE PROTOCOLE.....	106
4.9 DIRECTIONS FUTURES.....	107
CONCLUSION.....	109
BIBLIOGRAPHIE	110
ANNEXE 1: MARCHE À SUIVRE POUR L'INCLUSION DES CAS	XVI
ANNEXE 2: FICHE D'INCLUSION	XVII
ANNEXE 3: QUESTIONNAIRE TÉLÉPHONIQUE	XX

Liste des tableaux

Revue de littérature

TABLEAU I. CAUSES LES PLUS FRÉQUENTES D'ÉPISODE DE DÉCUBITUS CHEZ LA VACHE LAITIÈRE.	3
TABLEAU II. CATÉGORISATION DES CAUSES PRIMAIRES DE SYNDROME VACHE À TERRE, LEURS TESTS COMPLÉMENTAIRES POSSIBLES AINSI QUE LEUR PRONOSTIC..	7
TABLEAU III. COMPARAISON DES RÉSULTATS DE RÉGRESSION LOGISTIQUE POUR UN SEUIL CRITIQUE À 5% D'ISSUE POSITIVE SUR LES VARIABLES DE CRÉATINE KINASE ET D'ASPARTATE AMINOTRANSFÉRASE PROVENANT DE VACHES ATTEINTES DE SYNDROME VACHE À TERRE.....	21
TABLEAU IV. VALEURS DE RÉFÉRENCES DE TROPONINÉMIE CHEZ LES GRANDS ANIMAUX POUR CERTAINS APPAREILS PORTATIFS	26
TABLEAU V. HOMOLOGIE ENTRE LA TROPONINE CARDIAQUE ANIMALE PAR RAPPORT À LA TROPONINE CARDIAQUE HUMAINE.....	28
TABLEAU VI. VALEURS SANGUINES BASALES DE LACTATÉMIE RAPPORTÉES DANS LA LITTÉRATURE	39
TABLEAU VII. MÉCANISMES ENTRAÎNANT UNE ACIDOSE LACTIQUE DE TYPE A OU DE TYPE B ET LEURS CAUSES CONNUES.....	42
TABLEAU VIII. PRÉSENCE OU ÉLIMINATION (MORT OU RÉFORME) DES VACHES INCLUSES AU MOMENT DES SUIVIS TÉLÉPHONIQUES	97

TABLEAU IX.	DISPERSION PAR FERME DES 218 VACHES ATTEINTES DE SYNDROME VACHE À TERRE INCLUSES DANS L'ÉTUDE.	98
TABLEAU X.	AGRÉMENT ENTRE LES IMPRESSIONS CLINIQUES DES MÉDECINS VÉTÉRINAIRES ET L'ISSUE RÉELLE À D7 DE 90 VACHES ATTEINTES DE SYNDROME VACHE À TERRE.	98
TABLEAU XI.	PROBABILITÉ D'ISSUE NÉGATIVE (MORT, EUTHANASIE, RÉFORME) SELON LA FRÉQUENCE CARDIAQUE ET LA VALEUR SÉRIQUE DE TROPONINES CARDIAQUE I DANS UNE COHORTE DE 218 VACHES ATTEINTES DE SYNDROME VACHE À TERRE.	99
TABLEAU XII.	PROBABILITÉ D'ISSUE NÉGATIVE (MORT, EUTHANASIE, RÉFORME) SELON LA FRÉQUENCE CARDIAQUE ET LA VALEUR SÉRIQUE DE CRÉATINE KINASE DANS UNE COHORTE DE 218 VACHES ATTEINTES DE SYNDROME VACHE À TERRE.	100

Article 2

TABLEAU I.	DESCRIPTIVE STATISTICS OF MAIN VARIABLES OF INTEREST COLLECTED IN 218 CASES OF DCS ON THE DAY OF INCLUSION.	86
TABLEAU II.	UNIVARIABLE ANALYSIS ON CLINICAL INFORMATION OBTAINED ON THE DAY OF INCLUSION IN 218 DOWNER COWS	87
TABLEAU III.	OPTIMAL THRESHOLDS FOR LACTATE, CARDIAC TROPONIN I AND HEART RATE BASED ON THE MAXIMAL SUM OF SENSITIVITY AND SPECIFICITY TO PREDICT EARLY ELIMINATION OF COWS AFFECTED BY DOWNER COW SYNDROME.	90
TABLEAU IV.	FINAL MODEL FOR PREDICTION OF PROBABILITY OF NEGATIVE OUTCOME 7 DAYS AFTER THE INITIAL DIAGNOSIS OF DOWNER COW SYNDROME.	91
TABLEAU V.	WEB SUPPLEMENT: CHARACTERISTICS OF DIFFERENT CUT OFFS VALUES FOR HEART RATE, LACTATE AND CARDIAC TROPONIN I IN RESPECT OF THE NEGATIVE OUTCOME IN 218 COWS AFFECTED BY DOWNER COW SYNDROME	94

Liste des figures

Revue de littérature

FIGURE 1. SYNTHÈSE DU PROCESSUS MENANT LA VACHE EN DÉCUBITUS AU SYNDROME VACHE À TERRE.....	13
FIGURE 2. REPRÉSENTATION D'UNE CONTRACTION MUSCULAIRE D'UN MYOFILAMENT CARDIAQUE	24
FIGURE 3. SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA RESPIRATION CELLULAIRE.	35

Article 1

FIGURE 1 . COMPARISON OF CARDIAC TROPONIN (CTNI) CONCENTRATIONS IN COWS WITH NORMAL RATE (≤ 84 BEATS PER MINUTE) AND COWS WITH TACHYCARDIA (>84 BEATS PER MINUTE).....	62
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Article 2

FIGURE 1. PROBABILITY OF NEGATIVE OUTCOME ON COWS AFFECTED BY DOWNER COW SYNDROME BY DAY 7 AND ITS 95%CI DEFINED BY THE LEAST SQUARES MEANS ACCORDING TO THE FINAL LOGISTIC MODEL ACCOUNTING FOR FARM RANDOM EFFECT.....	92
FIGURE 2. ROC CURVE BASED ON THE FINAL LOGISTIC MODEL.....	93

Liste des sigles

AABP:	American Association of Bovine Practitioners
ACVIM:	American Association of Veterinary Internal Medicine
AMVPQ:	Association des Médecins Vétérinaires Praticiens du Québec

Liste des abréviations

AST	Aspartate aminotransférase
CI	Confidence interval
CK	Créatine kinase
CRT	Capillary refill time
cTnl	Troponines cardiaques I ou cardiac troponins I
D7,30,60	Jour 7, 30, 60 (diem)
DIM	Days in milk
Fx	Fracture
HR	Heart rate
IC	Intervalle de confiance
JEL	Jours en lait
LAC	L-lactatémie ou L-lactatemia
LSM	Least square means
n	Nombre
mmol/L	Millimole par litre
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NAD+	Forme oxydée du NADH
ng/mL	Nanogramme par millilitre
NO	Negative outcome ou issue négative
mm	Muscles
MS	Musculoskeletal
OR	Odds ratio
P	Plasma
PO	Positive outcome ou issue positive
POC	Point-of-care

ROC	Receiver operating characteristic curve
RR	Respiratory rate
S	Sang
Se	Sensitivity, sensibilité
SE	Standard error
SEM	Standard error means
SH	Sang hépariné
Sp	Specificity, spécificité
SVT	Syndrome vache à terre
VAT	Vache à terre

*À la mémoire d'Irène Clair Labonté,
Femme d'exception qui a su faire sortir
ses filles et petites-filles des sentiers battus*

Remerciements

Réaliser un projet de mémoire est un exploit en soi. Le faire en conciliant la famille et le travail est, je dois maintenant l'avouer, une tâche monumentale.

Je tiens tout d'abord à remercier du fond du cœur l'équipe de recherche qui m'a appuyé tout au long du projet. Dr Sébastien Buczinski a été un directeur de maîtrise des plus stimulants. Sa patience, son éternel optimisme et ses encouragements constants m'ont poussé à persévérer dans ce projet malgré les moments où la motivation était cachée. Mes codirecteurs Dr Jocelyn Dubuc et Dr Jean-Philippe Roy ont su guider ce projet par leurs judicieux conseils. Leurs opinions mesurées et leur soutien indéfectible auront été un grand plus dans cette aventure.

Un merci tout particulier à Dr Guillaume Boulay, qui m'a bien outillé alors de mon arrivée comme étudiante aux cycles supérieurs.

Il aurait été impossible de compléter ce projet sans l'aide des 32 vétérinaires provenant de la clinique ambulatoire bovine de la Faculté de médecine vétérinaire de l'UdeM, du bureau vétérinaire Richmond, du bureau vétérinaire d'Upton, de la clinique vétérinaire de Coaticook et de la clinique vétérinaire de Saint-Césaire. Votre participation à la collecte de données a été appréciée et essentielle.

La collaboration des producteurs laitiers a été tout aussi indispensable. Merci aux 152 fermes qui m'ont permis de prendre des nouvelles des animaux inclus dans cette étude, autant lors des périodes calmes de la vie d'agriculteur que durant celles plus exigeantes.

Mon conjoint, Marcel Leu, ne se doutait pas du contrat qu'il venait de signer quand, par un beau dimanche après-midi, il acceptait que je retourne aux études à temps partiel. Merci de m'avoir appuyée sans relâche et encouragée dans la poursuite ardue de cet idéal.

Je tiens à mentionner le soutien offert par Alexis et Julianne Leu. Vos œuvres d'art enfantines n'étaient pas toujours sur les bonnes feuilles, mais elles ont à tous coups réussi à m'arracher un sourire !

Le financement d'un tel projet est chroniquement un enjeu. Mes remerciements vont aussi au ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et l'Agence canadienne d'inspection des aliments (via le Programme de soutien à l'innovation agroalimentaire), Pfizer santé animale (maintenant Zoetis, bourse d'excellence à un étudiant aux cycles supérieurs), ainsi qu'Abaxis (une partie des cartouches de dosage des troponines cardiaques a été gracieusement offerte) pour leur soutien financier.

Introduction

Le syndrome vache à terre est une condition d'urgence en médecine bovine et est généralement rencontrée chez la vache laitière (1, 2). Le traitement de ces cas est ardu vu la difficulté d'établir un bon diagnostic primaire et d'évaluer, lors de l'examen physique, l'impact des lésions secondaires au décubitus qui se sont développées (3-5). L'un des principaux dommages collatéraux est le développement de lésions aux muscles et aux nerfs périphériques impliqués dans le décubitus. Ces lésions peuvent se manifester aussitôt que trois à six heures suivant le début de l'état non ambulateur (6, 7).

En considérant que la rentabilité d'une entreprise laitière passe entre autres par la diminution des coûts d'exploitation et du contrôle des dépenses(8), la détermination des chances de retour en production de l'animal atteint est essentielle. Qui est plus, plusieurs pays dont le Canada (9), ont désormais interdit le transport d'animaux non ambulatoires vers des destinations autres qu'un endroit où ces animaux recevraient des soins vétérinaires appropriés (10). La valorisation de la carcasse est de plus impossible dans les abattoirs fédéraux canadiens qui désirent exporter leurs produits vers les États-Unis (11). Comme le pronostic de cette condition s'assombrit au fil du temps (5, 12-14), il est important de se soucier des souffrances subies par l'animal atteint en limitant ces dernières lorsque le pronostic est sombre (10).

La créatine kinase (CK) et l'aspartate aminotransférase (AST) ont été désignés comme des tests complémentaires utiles à l'émission d'un pronostic lors de syndrome vache à terre (SVT)(12, 15). L'obtention de ces résultats d'analyse en condition de pratique privée peut par contre prendre plus de 24 heures. La présence récente sur le marché de multiples appareils portatifs rend désormais possible le dosage de divers biomarqueurs sanguins directement au chevet de l'animal. L'identification rapide des animaux chez lesquels le pronostic sera sombre à la ferme permettrait de faire des choix plus éclairés de pair avec le producteur quant au devenir de chaque animal. Cette étude s'est donc intéressée à deux biomarqueurs ayant un intérêt pronostique potentiel lors de SVT à la ferme, à savoir la troponinémie et la L-lactatémie.

CHAPITRE 1: Recension de la littérature

1.1 La vache à terre

1.1.1 Définition et population à risque

Pour le médecin vétérinaire praticien bovin, la vache à terre (VAT) représente un animal qui était debout la dernière fois qu'il a été observé par l'éleveur et trouvé en décubitus au moment de l'appel, incapable de se relever. Les animaux les plus à risque de s'exposer à un épisode VAT sont les vaches laitières en période péripartum (1, 4, 13, 16, 17). Une étude menée sur 143 VAT en 1987 a montré que 44.2 % de ces cas étaient liés à une dystocie et 36.5 % à une fièvre du lait (13). La vache laitière atteinte d'hypocalcémie clinique (fièvre vitulaire) est souvent évoquée comme l'exemple type de la VAT (1, 5). L'incidence de la fièvre vitulaire varie entre 3.5 et 7 % (18). Le risque de présenter une fièvre vitulaire en période péripartum augmente avec le nombre de lactations (18) et la cote de chair des animaux (19). Par contre, l'effet d'une forte production laitière sur l'incidence de la fièvre vitulaire ne fait pas l'unanimité dans la littérature (20, 21).

1.1.2 Causes

Les causes d'épisode VAT chez les bovins sont multiples (5, 10, 22). Les principales étiologies sont souvent regroupées grâce à l'acronyme 4M (23) et sont présentées dans le tableau I.

Tableau I. Causes les plus fréquentes d'épisode de décubitus chez la vache laitière.

Métabolique	Hypocalcémie Hypomagnésémie Hypokaliémie Hypophosphatémie
Musculosquelettique/ Neurologique	Musculosquelettique Luxation coxofémorale Fracture tête fémorale Rupture des mm gastrocnémiens Rupture des mm adducteurs des membres postérieurs Neurologique Parésie/paralyse Sciatique Obturatrice Péronéenne Tibiale Radiale Système nerveux central Lésion spinale Lymphosarcome spinal
Mammite aiguë	
Métrite aiguë	
Causes autres	(Toute maladie primaire engendrant un état de choc sévère)

mm: muscles.

1.1.3 Signes cliniques et traitements

Un décubitus sternal ou latéral et une incapacité à se relever caractérisent cette condition pathologique. Les VAT présenteront de plus des signes cliniques liés à l'étiologie primaire du décubitus. Par exemple, lors d'un épisode VAT lié à une fièvre vitulaire, les animaux atteints peuvent montrer de l'anorexie, de l'abattement, une atonie ruminale et une tachycardie. Une incapacité à se maintenir en décubitus sternal, un abattement sévère (potentiellement un coma) et une tachycardie ≥ 120 BPM peuvent si l'hypocalcémie n'est pas traitée plus tôt (16). Lors de parésie secondaire à une dystocie, il sera possible d'observer des signes d'atteinte neurologique liée aux nerfs sciatique ou obturateur (24). L'identification de la cause du décubitus permettra au praticien de mettre en place les traitements appropriés (par exemple une calcithérapie). Ces traitements ne seront pas discutés dans le cadre de ce mémoire.

1.1.4 Pronostic

Le pronostic de la VAT dépend bien entendu de la cause du décubitus. Par exemple, de 37 à 76 % des vaches laitières présentées en hypocalcémie clinique répondront à une calcithérapie unique (25, 26). Le pourcentage de récurrence à la suite de cette calcithérapie est variable selon les études, oscillant entre 3.7 % et 70 % (25). Malgré tout, entre 90 et 97 % des vaches atteintes de fièvre vitulaire se relèveront malgré des calcithérapies multiples (25, 27).

Une non-réponse au traitement mis en place ou un prolongement du décubitus malgré la résolution du problème primaire peut amener l'animal en SVT. L'apparition de dommages musculaires et neurologiques secondaires au décubitus caractérise l'évolution de l'animal vers le SVT (7).

1.1.5 Différenciation entre la vache en décubitus et le syndrome vache à terre

Il est important de bien différencier la VAT du syndrome vache à terre (SVT)(28). La VAT sera ici illustrée par l'exemple de la fièvre vitulaire, la cause la plus fréquente de décubitus. Un animal ne se relevant pas dans les heures suivant une ou deux calcithérapies peut alors être classé comme un animal souffrant de SVT (25, 29). Il y a donc un possible amalgame entre les causes primaires (l'hypocalcémie dans ce cas-ci) et secondaires (ischémie locale des muscles et nerfs impliqués dans le décubitus) qui favorisera la poursuite de l'état non ambulatoire (5, 28). La durée et le développement plus ou moins rapide de lésions secondaires du décubitus sont donc associés à la définition du SVT, ce qui n'est pas le cas de la VAT.

Le SVT est ainsi une complication de n'importe quelle cause de décubitus bovin (7, 30). L'examen clinique de chaque VAT doit nous amener à déterminer le plus précisément possible la cause primaire du décubitus, mais aussi à évaluer l'étendue des dommages secondaires au décubitus prolongé qui caractérise le SVT (28, 31).

1.2 Syndrome vache à terre

1.2.1 Historique du syndrome vache à terre

L'écrivain Upton Sinclair a décrit pour la première fois la vache « downer » en 1905 alors qu'il dépeignait les bovins incapables de se lever présentés aux abattoirs de Chicago (32). Au cours des années 50, le terme « downer cow » était associé à des suites d'une hypocalcémie clinique péripartum. Une « downer cow » était une vache qui ne répondait pas à une ou à plusieurs calcithérapies. À ce moment, le SVT était donc ni plus ni moins qu'une complication de la fièvre vitulaire (14, 17, 33).

Une étude danoise des années 70 a soulevé le point qu'une hypocalcémie était sous-jacente dans seulement 52 % des cas de vaches à terre (34). Bien que l'hypocalcémie clinique en période périvélage soit la source la plus fréquente de cas

de SVT, Victor Cox *et coll.*(1982) ont indiqué que ce syndrome devait plutôt être vu comme une complication de n'importe quelle cause primaire de décubitus (7).

De nos jours, il est possible de retrouver cette condition pathologique à part entière sous une multitude de noms: syndrome de la vache couchée (35), downer cow syndrome (34), recumbent cow (15) ou encore nonambulatory cattle (10, 15, 36).

1.2.2 Définition

Diverses définitions du SVT sont présentes dans la littérature et aucune d'entre elles ne fait l'unanimité. Plusieurs descriptions font référence à un épisode d'hypocalcémie clinique. Pour l'un, une VAT n'ayant pas répondu à une première calcithérapie intraveineuse dans les dix minutes suivant le traitement devient un SVT (14). Une première équipe suédoise appliquait plutôt ce terme à un animal toujours au sol après deux calcithérapies (37). Par ailleurs, un second groupe de recherche parle de SVT lorsque la vache est toujours en décubitus 24 heures après un traitement de calcium intraveineux (34). Puisque le dosage du calcium sanguin est rarement effectué lors de fièvre du lait, Cox préconise de définir un SVT comme un décubitus sternal qui dure depuis plus de 24 heures malgré l'apparence relativement alerte de l'animal (5, 38). Fenwick a de son côté distingué un type de SVT qu'il a qualifié de non alerte (39). Plus récemment, certains chercheurs ont étendu la définition du SVT à tout animal incapable ou non désireux de se lever depuis 12 heures et plus (16, 20, 40). Grâce à cette définition plus large, il est possible de reclasser les différentes causes de SVT sous les catégories alertes et non-alertes (40, 41). La première catégorie représente les animaux conscients de leur environnement. Un bon état général et un appétit près de la moyenne sont couramment observés. Le second groupe rassemble les animaux présentant de l'abattement et des signes vitaux anormaux tels que de la fièvre, de la tachycardie ou de la déshydratation. Ces catégories ne sont pas mutuellement exclusives: un animal du groupe non alerte peut évoluer vers le groupe alerte et vice-versa (41). Un résumé exhaustif est exposé au tableau II.

Tableau II. Catégorisation des causes primaires de syndrome vache à terre, leurs tests complémentaires possibles ainsi que leur pronostic.

Catégorie	Causes de décubitus	Tests complémentaires	Pronostic
Alerte	<u>Musculosquelettique</u>	Radiographie	Réservé à fatal
	Fracture		
	Luxation	Échographie	
	Ruptures musculaires		
	Arthrite, cellulite-abrasion	Dosage sérique CK et AST	
	Contusions musculaires		
	<u>Neurologique</u>		Bon à réservé, selon le nerf atteint
	Parésie/paralyse		
	Sciaticque		
	Obturatrice		
Péronéenne			
Tibiale			
Radiale			
Lésion spinale	Radiographie	Bon à sombre	
Lymphosarcome spinal	Analyse du liquide céphalorachidien Analyse hématologique Échographie Radiographie	Sombre	

Non-alerte

<u>Mammite aiguë</u>	Culture de lait Analyse hématobiochimique	Bon à réservé
<u>Métrite aiguë</u>	Analyse hématobiochimique	Bon à réservé
<u>Métabolique</u>		
Hypocalcémie	Analyse biochimique	Bon à réservé
Hypomagnésémie		
Hypokaliémie		
Hypophosphatémie		
Acétonémie	Dosage des BHB	Réservé
Toxémie de gestation	Dosage des BHB	Sombre
<u>Méningoencéphalite</u>	Analyse du liquide céphalorachidien	Réservé
<u>Hémorragie sévère</u>	Analyse hématobiochimique	Sombre
<u>Hydroallantoïde</u>	Échographie abdominale	Réservé
<u>Digestive</u>		
Volvulus		
Abomasal	Échographie abdominale Chirurgie abdominale exploratrice	Sombre
Cécal		
Mésentérique		
Indigestion vagale	Analyse hématobiochimique Échographie abdominale	Sombre
Indigestion par acidose ruminale aiguë	Analyse biochimique Lactatémie Analyse du liquide ruminal	Réservé
Péritonite	Échographie abdominale Paracentèse	Réservé

CK: créatine kinase ; AST: aspartate aminotransférase

1.2.3 Population à risque

Toute VAT est susceptible d'évoluer vers le SVT. Dans le cas des animaux atteints d'hypocalcémie clinique, entre 3.8 % et 28.2 % de ces vaches progresseront vers un SVT (33, 34, 41). La durée du décubitus au moment de la première calcithérapie lors de fièvre vitulaire semble grandement influencer la transition vers un SVT. Une étude australienne rapporte une incidence de SVT de 2.3 %, 26.2 %, 31.9 % et 38.9 % pour des durées de décubitus respectivement de moins de 6 heures, 7 à 12 heures, 12 à 18 heures et plus de 18 heures lors du premier traitement (1). Ce même auteur a rapporté qu'entre 1.9 et 3.4 % des vaches atteintes d'hypocalcémie clinique deviendraient des SVT non alertes ou atypiques (39).

Une incidence de 21.4 cas de SVT par 1000 vaches-années à risque a été calculée grâce à un sondage fait auprès de 723 troupeaux du Minnesota. Leur définition d'un cas de SVT était simplement une vache laitière en décubitus sternal depuis 24 heures et plus (38). Plus de la moitié (58 %) des animaux affectés débutait leur épisode SVT dans les 24 h suivant le vêlage et de ce nombre, 41 % des vaches avaient présenté des difficultés au vêlage (38). Un autre 37 % des animaux ayant été inclus ont commencé leur décubitus entre 1 et 100 jours en lait (JEL)(38). Selon les propriétaires sondés, les vaches fortes productrices semblaient plus fréquemment atteintes (38).

1.2.4 Signes cliniques

Les signes cliniques lors de SVT sont multiples et dépendent en partie de la cause primaire du décubitus. Comme mentionné plus tôt, la présence de dommages secondaires aux membres postérieurs suite au décubitus prolongé caractérise les cas de SVT (5, 42). Une enflure, un mouvement ou une position anormale ou encore une perte de sensibilité localisée des membres postérieurs peuvent être notés (7, 43). Il est possible d'observer une urine jaune foncé ou brune allant de pair avec une myoglobinurie (7). Les animaux catégorisés alertes présentent généralement un état mental et un appétit normal (40, 41). Ces vaches peuvent ramper (*creeper cow*)(7, 29).

Les vaches non alertes, quant à elles, ont plutôt tendance à être peu réactives à leur environnement. Elles présentent des signes vitaux anormaux allant fréquemment de pair avec un problème systémique (40-42). Ces animaux peuvent parfois être montrés en décubitus latéral (17, 39).

1.2.5 Pathophysiologie

Alors que la VAT doit déjà être gérée comme une urgence médicale(44), celle qui évolue vers le SVT représente une course contre la montre pour limiter les dommages tissulaires secondaires au décubitus (10). En effet, le poids et la conformation physique de la vache laitière ne lui permettent pas de passer de longues périodes au sol (28). Une série d'observations australiennes a souligné que suite à une hypocalcémie clinique, l'incidence de SVT allait en augmentant avec la durée du décubitus prétraitement (1). Il a été démontré expérimentalement que les dommages neuromusculaires causés par un décubitus sternal maintenu sous une anesthésie générale de 6 à 12 heures étaient déjà suffisants pour que 50 % (8/16) des vaches à priori saines deviennent des cas de SVT alertes (7).

Tout bovin non ambulateur pour une période prolongée est donc susceptible aux dommages musculaires secondaires au décubitus (7, 34). L'incapacité à se relever s'expliquerait en partie par les syndromes d'écrasement (rhabdomyolyse traumatique) et de compartimentation (aussi nommé le syndrome des loges)(7).

1.2.5.1 Syndrome d'écrasement

Le syndrome d'écrasement, ou rhabdomyolyse traumatique, est bien décrit en médecine humaine et est couramment associé à des blessures secondaires aux accidents de véhicules, aux guerres et aux désastres naturels (45-47). L'alcool et l'héroïne sont désormais aussi des agents étiologiques fréquents du syndrome d'écrasement aux États-Unis (45). Ce syndrome peut ainsi atteindre toute personne dont la masse musculaire d'un membre est comprimée durant quatre à six heures, parfois moins, et dont la circulation sanguine locale est compromise (47). Laisse sans traitement adéquat, cette condition est fatale (45-47).

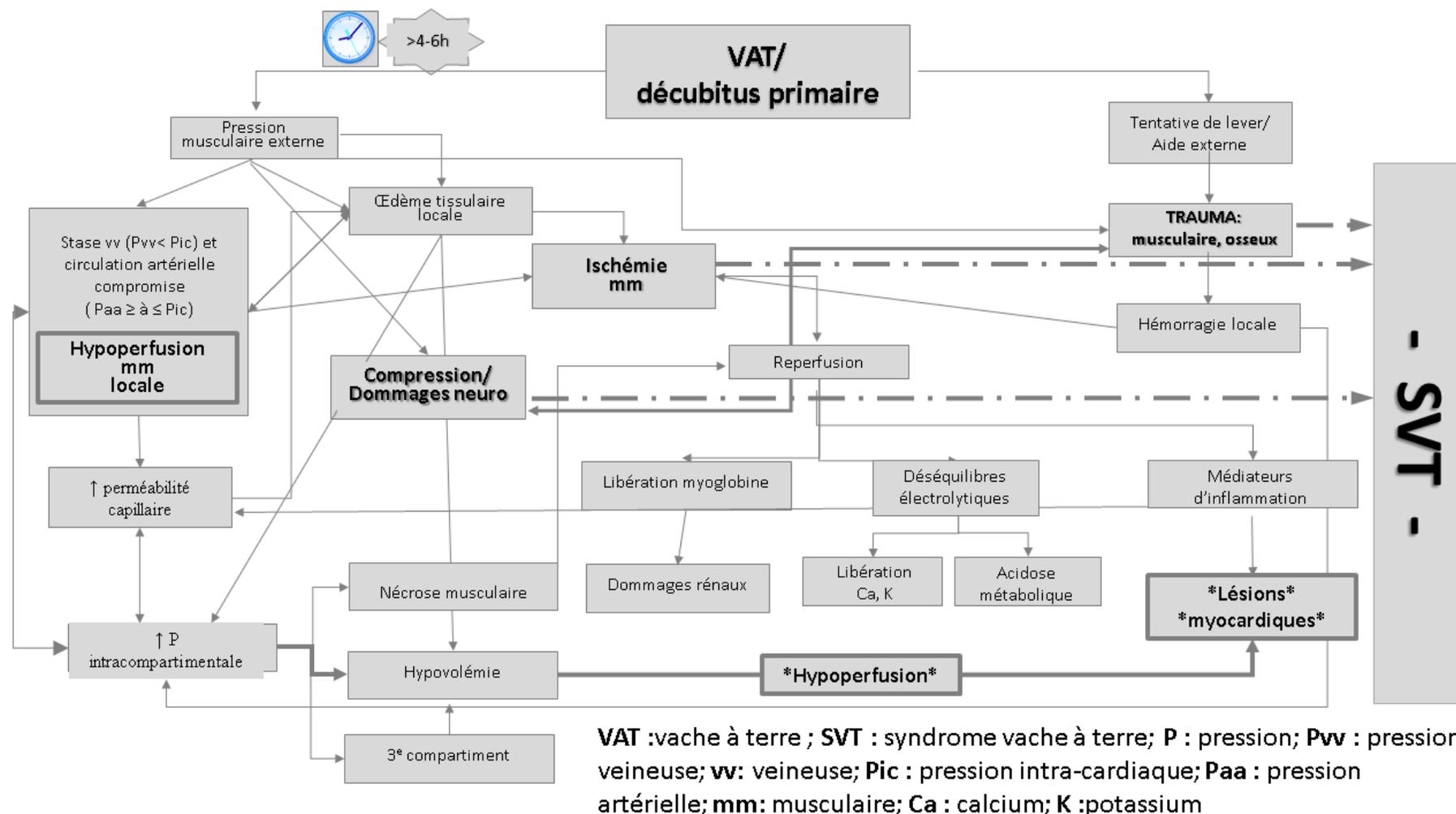
La pathophysiologie du syndrome d'écrasement adaptée au SVT est schématiquement représentée à la figure 1. Au cours d'une compression musculaire prolongée, une stase veineuse s'établit et la circulation artérielle se poursuit. Les capillaires sont alors plus perméables et un œdème s'installe. Une ischémie musculaire apparaît à mesure que la perfusion artérielle devient inefficace. Une acidose métabolique locale se produit tandis que le métabolisme anaérobique s'enclenche. L'anoxie cellulaire secondaire à l'hypoperfusion locale favorise la perte d'intégrité cellulaire et la mort des myocytes impliqués, libérant entre autres de la myoglobine, de l'urate, du phosphate, du potassium et de la créatine kinase (CK). Ces déchets métaboliques se retrouveront dans la circulation systémique lors de la reperfusion musculaire. La myoglobine, l'urate et le phosphate peuvent précipiter dans la portion distale des tubules rénaux (46) et ainsi causer une obstruction tubulaire menant à une oligurie et une insuffisance rénale aiguë (47, 48). L'hyperkaliémie secondaire peut, quant à elle, provoquer des dysrythmies cardiaques chez l'homme, et ce, moins d'une heure suivant la fin de la compression musculaire (45). Une étude a rapporté des arythmies et de la tachycardie parmi des cas de SVT hypocalcémiques en période péripartum (49, 50). Puisqu'il y a perte d'intégrité des sarcolemmes, le calcium et le sodium s'accumulent librement dans les myocytes. En quittant le milieu extracellulaire, ces deux électrolytes aggravent l'œdème musculaire et la diminution du volume intravasculaire (46). Par ailleurs, l'hypercalcémie intracellulaire activera les protéases présentes dans les myocytes comprimés et contribuera aussi à la lyse cellulaire (45). La reperfusion des muscles ischémiques entraînera en circulation des enzymes protéolytiques, des radicaux libres et du lactate (45).

Le syndrome d'écrasement permet donc d'expliquer les effets systémiques qu'une compression musculaire prolongée (ou d'un décubitus prolongé dans le cas qui nous intéresse). Le syndrome de compartimentation survient quant à lui une fois que la pression extérieure est relâchée (45, 46).

1.2.5.2 Syndrome de compartimentation

Les mammifères domestiques ont, comme l'homme, certains groupes musculaires englobés de fascias épais, inélastiques et imperméables (7). Lorsque la pression externe prolongée est retirée de ces groupes musculaires, un œdème et des hémorragies locales peuvent se développer dans ceux-ci (47). Le syndrome de compartimentation réfère donc à la perte de perfusion sanguine secondaire à une augmentation locale de pression dans un groupe musculaire non compliant (7, 45). Les muscles impliqués se retrouvent à nouveau ischémiques, ce qui favorise la poursuite la lyse cellulaire débutée par le syndrome d'écrasement (45). Une perte de la fonction nerveuse locale survient également suite à cette augmentation de pression (47).

Figure 1. Synthèse du processus menant la vache en décubitus au syndrome vache à terre.



1.2.6 Lésions pathologiques

Les trouvaillles de nécropsie des vaches atteintes de SVT clinique ou induit expérimentalement sont similaires (5, 42). Des zones musculaires ischémiques pâles et d'autres déchirées et hémorragiques sont localisées en portion haute des membres pelviens (17, 37). L'observation de muscles déchirés et l'hémorragie légère à très sévère qui y est associée se limite à la portion médiale de la cuisse, où se retrouvent les muscles adducteurs (37, 42). La distribution des lésions d'ischémie est généralement irrégulière et disséminée dans les muscles impliqués (7, 17). De ce fait, le syndrome de compartimentation n'explique pas entièrement la physiopathologie du SVT(17). Une décoloration et du tissu cicatriciel peuvent être notés dans la portion du nerf sciatique qui passe sur le grand trochanter du fémur (17, 42). Le même type de lésion peut être identifié sur le nerf péronéen (aussi nommé le nerf fibulaire commun). La lésion sera alors localisée sur la portion latérale du grasset, là où se situe la tête de la fibula (51). Les lésions présentes aux nerfs sciatique et péronéen semblent être des trouvaillles plus significatives que d'impressionnantes lésions musculaires d'ischémie pour expliquer le décubitus secondaire lors de SVT(5, 7).

À l'histologie, Curtis a noté une dégénérescence de l'épithélium tubulaire rénal chez plusieurs de ses cas de SVT (33).

Des lésions au muscle cardiaque ont été observées par certains chercheurs. À l'examen macroscopique, les découvertes les plus fréquentes d'une équipe japonaise ont été des zones focales pâles et jaunâtres disséminées à travers le myocarde accompagné par un exsudat fibrineux localisé à l'épicarde (49). Chez les 13 vaches holsteins incluses dans cette étude, l'examen microscopique a révélé une dégénérescence myocardique multifocale aiguë présente dans l'atrium, le ventricule gauche et le septum interventriculaire (49). Des infiltrations cellulaires de type monocellulaire ainsi que de la fibrose interstitielle à l'intérieur des zones nécrosées ont aussi été notées parmi les cas de SVT ayant survécu plus de 3 jours après le début du décubitus (n=5). Ce sont plutôt des neutrophiles qui ont été remarqués dans les lésions nécrotiques détectées chez les vaches en décubitus depuis une à deux journées (n=8)(49). Une équipe suédoise a aussi observé ce type de lésions microscopiques

chez 10 % des cas de SVT (défini par un décubitus prolongé suite à une hypocalcémie, traitée par deux fois par calcithérapie, sans succès) soumis à un examen pathologique (37). Il semble donc qu'une proportion importante de vaches atteintes de SVT présente des lésions myocardiques sans qu'une maladie cardiaque primaire soit diagnostiquée. D'autres lésions pathologiques liées à l'étiologie primaire du SVT (mammite ou métrite aiguë, par exemple) peuvent aussi être mises en évidence à la nécropsie. Ces lésions ne seront par contre pas détaillées dans le cadre de ce mémoire.

1.2.7 Diagnostic

Déterminer la cause primaire la plus probable du décubitus est souvent une chose peu évidente et laborieuse avec les moyens disponibles à la ferme (28). Une anamnèse détaillée, un examen clinique incluant un examen myoarthrosquelettique méticuleux, une évaluation des électrolytes et des marqueurs d'intégrité musculaire ainsi que les tests complémentaires appropriés (tableau II) peuvent aider le médecin vétérinaire à mieux cerner le diagnostic étiologique primaire et l'étendue des dommages secondaires (43). Néanmoins, le pronostic peut changer rapidement puisque ce syndrome est un continuum entre la cause primaire et les causes secondaires (42). Un suivi rigoureux des cas de SVT est donc nécessaire afin d'ajuster les soins mis en place suite à l'évolution de l'animal, mais aussi le pronostic (29).

1.2.8 Pronostic

La multitude de causes primaires au décubitus, l'évolution variable des lésions musculaires et nerveuses secondaires chez les animaux atteints de SVT ainsi que l'influence de leur environnement immédiat rendent l'émission d'un pronostic ardue (1, 10, 29). Toutes causes primaires confondues, les chances de rétablissement lors de SVT restent limitées. Dans les années 80, un sondage réalisé au Minnesota auprès de 723 fermes laitières mentionnait un taux de guérison de 33 % chez les animaux en décubitus depuis plus de 24 heures, 23 % des animaux prenaient le chemin de l'abattoir et 44 % des vaches atteintes mourraient ou étaient euthanasiées (38). Ce

pourcentage de rémission est similaire à celui compilé dans une étude rétrospective canadienne portant sur 82 cas de SVT (n=55/82, 67%). Par contre, les vaches présentant une maladie systémique (ex.: mammite aiguë) ou un vêlage difficile, ainsi que les taures, étaient exclues de cette étude (33). Les prochaines sections s'attarderont sur différents facteurs pouvant influencer l'issue d'un cas de SVT géré à la ferme. Pour l'année 2004, Green a rapporté que plus de 80% des vaches laitières non ambulatoires subiront une issue négative. Ces données provenaient de questionnaires remplis par les producteurs laitiers dans le cadre du National Animal Health Monitoring System Nonambulatory Dairy cattle Study (52).

1.2.8.1 Influence de la balnéothérapie sur le pronostic

Il est possible de référer un cas de SVT en hôpital vétérinaire pour lui faire bénéficier d'un traitement de balnéothérapie. Peu d'études se sont attardées à l'issue des animaux ayant pu profiter de ces traitements en « piscine ». Des pourcentages de succès de 37 à 90 % ont tout de même été rapportés (36, 40, 41). La grande différence entre ces taux de retour à un état ambulateur s'explique par une sélection minutieuse ou non des animaux qui séjourneront dans le système de flottaison. Une équipe canadienne s'est récemment intéressée à l'utilisation du même système de flottaison directement à la ferme (36). Les cas de SVT inclus devaient être alertes et ne pas présenter de lésions myoarthrosquelettiques détectables à l'examen physique. Leur pourcentage de réussite final (animal capable de se lever et de se coucher normalement dans les 7 jours suivants la dernière séance de balnéothérapie) a été de 50 %. Ils se sont aussi intéressés à la durée du décubitus avant le premier traitement de balnéothérapie. Plus ce délai était court, meilleures étaient les chances de guérison (rapports de cote de 4.37 [IC_{95%}: 4.34-4.40] du groupe <12 h vs ≥12 h)(36). À la lumière de ces données, il apparaît intéressant d'identifier les cas de SVT aux pronostics sombres sans la présence de soins plus soutenus à la ferme, telle la balnéothérapie, et ainsi référer ceux-ci rapidement.

1.2.8.2 Durée du décubitus

Un décubitus de plus courte durée devrait logiquement résulter en un meilleur pronostic et les données présentes dans la littérature vont dans ce sens. Andrews a observé un taux de guérison d'environ 50 % après quatre jours de décubitus en utilisant une définition de cas caractérisant des vaches atteintes de SVT alertes ([1] état mental normal [2] sans réponse à deux calcithérapies [3] décubitus >24 h malgré examen physique normal) (29). Lors d'un sondage, les producteurs américains affirmaient que près de la moitié de leurs animaux ayant présenté un épisode non ambulatoire d'une durée de moins de six heures se rétablissait (10, 52), ce qui nous rappelle les résultats de l'expérience de décubitus sous anesthésie de Cox (7). Un autre sondage américain a utilisé un seuil de 24 heures de décubitus pour évaluer le pourcentage de guérison des cas de SVT. Un tiers (32.9 %) des animaux non ambulatoires depuis <24 heures redevenaient ambulatoires. Le pourcentage de guérison chutait à 8.2 % chez les SVT au sol \geq 24 heures (20). Une étude israélienne réalisée en contexte ambulatoire a rapporté quant à elle une prévalence d'issue négative passant de 24 % à 81 % entre le premier jour de décubitus et le quatrième jour parmi les cas de SVT inclus dans leur étude (15). L'issue négative de cette précédente recherche était décrite comme la mort ou l'euthanasie de l'animal. Les conclusions d'une étude canadienne récente s'intéressant à l'utilisation de la balnéothérapie en pratique privée chez 34 vaches laitières vont aussi dans ce sens(36). Les animaux dont le décubitus durait depuis moins de 12 heures avant leur première séance de balnéothérapie présentaient les meilleures chances d'issue positive (rapport de cote [OR]: 4.27, IC_{95%}: 4.34-4.40). Ce risque allait en diminuant avec l'augmentation de la durée du décubitus (24 heures: OR: 2.7 ; IC_{95%}: non disponible ; 36 heures: 1.7 ; non disponible ; 48 h: 1.02 ; 0,99-1.05)(36).

1.2.8.3 Observation clinique de l'évolution de l'animal

La réévaluation de l'animal non ambulatoire au fil des jours est primordiale (10, 36). Le médecin vétérinaire ou le propriétaire doit alors déterminer si l'état de la vache s'améliore ou non pour justifier la suite des traitements. Cette étape est subjective et

l'est tout autant dans la littérature. Une vache classée comme un cas de SVT alerte est jugée comme une bonne candidate à la guérison. La présence d'appétit, de tentatives de relevé ou de reptation va aussi dans ce sens (4). Au contraire, un pronostic sombre sera attribué à un animal qui n'essaie pas de se mouvoir, qui est ou devient anorexique, abbatu et déshydraté, qui retourne en décubitus latéral malgré les repositionnements ou qui présente des lésions myoarthrosquelettiques détectables (4, 33, 36). Sans chiffrer son observation, l'équipe de Curtis affirmait que la fréquence cardiaque et respiratoire des vaches en SVT augmentait avant leur mort (33).

1.2.8.4 Facteurs environnementaux

Lors de SVT, une partie de la guérison est ainsi attribuable à la vache atteinte. Par contre, l'importance des facteurs environnementaux peut être sous-estimée par les gens qui s'occuperont de l'animal durant son épisode non ambulatoire. L'objectif des soins mis en place doit être de minimiser le développement des lésions secondaires citées précédemment. La motivation du producteur et de son personnel à s'investir dans ces soins est indispensable (48). Le médecin vétérinaire doit s'assurer de bien souligner l'importance de la litière sur laquelle reposera l'animal non ambulatoire. Un cas de SVT gardé sur une surface bétonnée a peu de chances de redevenir ambulatoire (43, 48). Une profonde litière de sable ou de paille est à préconiser. Ainsi, le confort de l'animal sera maximisé et les traumatismes secondaires aux tentatives de relever seront limités (17, 28, 48).

Le déplacement des animaux non ambulatoires est aussi un moment clé. La traction de l'animal directement sur le sol à l'aide de câbles attachés à celui-ci peut causer des lésions pouvant assombrir le pronostic de la condition (10, 36). L'American Association of Bovine Practitioners (AABP) s'oppose d'ailleurs fortement à la pratique de trainer l'animal sur le sol (appelée dragging en anglais)(23). Pour ce faire, l'utilisation d'un contre-plaqué sur lequel repose la vache était déjà mentionnée dans les années 80(17). Plus récemment, la compagnie québécoise Animal Skidder a adapté un traîneau utilisé par les chasseurs de gros gibiers pour son utilisation chez les bovins adultes en décubitus(53).

L'usage du serre-hanche (pince de Bagshaw) peut occasionner des blessures secondaires majeures nuisant au pronostic. Selon la littérature, il ne devrait être utilisé que pour de courtes périodes (10 à 15 minutes à la fois) et les pinces doivent être bien rembourrées (6, 31). Malgré tout, les opinions sur l'utilisation du serre-hanche lors de cas de SVT sont divergentes parmi les médecins vétérinaires.

Finalement, les soins de support minutieux favoriseront une évolution positive lors de cas de SVT (36, 41). Ces soins sont exigeants pour le personnel impliqué (15, 29), mais encourageront le bien-être de l'animal et possiblement l'issue de l'animal. Parmi ceux-ci, notons la disponibilité d'un « buffet » de nourriture appétente et d'eau à proximité, un repositionnement fréquent de l'animal, un nettoyage soutenu de la litière, une traite régulière si l'animal est en lactation ainsi qu'une protection du soleil et des intempéries (28, 36).

1.2.8.5 Indicateurs de lésions musculaires

Les dosages sériques de la créatine kinase (CK) et de l'aspartate aminotransférase (AST) sont fréquemment augmentés lors de SVT et sont utilisés par les vétérinaires praticiens québécois pour les supporter dans leur prévision pronostique lors de SVT. La première enzyme se retrouve dans les cellules des muscles cardiaques et striés. Elle est une indicatrice spécifique et sensible de dommages musculaires chez les animaux domestiques (54). Qu'elle soit cardiaque ou squelettique, une augmentation de la valeur sanguine de CK indique donc une atteinte musculaire aiguë. Par contre, la demi-vie de cette enzyme est de seulement deux à quatre heures chez les bovins (54, 55). Sa valeur retourne vers la normale dans les 12 à 24 heures suivant un dommage musculaire ponctuel(55). Une valeur sérique de CK qui reste élevée suggère des lésions musculaires continues et actives(54, 55). En appliquant une analyse statistique ROC sur les variables sériques obtenues de 262 cas de SVT, Shippel et son équipe ont établi des seuils optimaux pour chaque jour passé en décubitus entre autres pour la CK. Le seuil général de la CK, tout jour de décubitus confondu, pour déterminer une issue négative était de 2330 U/L (sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative : 63,89, 76 et 80%). La valeur

critique de CK à laquelle aucune vache n'a survécu était de 34 305 U/L (15). L'intérêt pronostique de ce biomarqueur ne fait pas l'unanimité et certains avancent que l'accent devrait plutôt être mis sur l'AST (6, 12, 15).

L'AST est présente dans les muscles striés, le foie, les reins et les érythrocytes. Son augmentation est donc moins spécifique aux dommages musculaires et doit être interprétée avec la valeur de la CK. L'association de ces 2 biomarqueurs est intéressante vu la relâche plus lente de l'AST suite à une insulte musculaire et sa longue demi-vie sérique (56). La valeur sanguine de cette enzyme va en effet persister lors de dommages musculaires secondaires au décubitus (6, 54).

Une étude australienne a déterminé des valeurs seuil de la CK pour chaque jour de décubitus et une unique valeur seuil d'AST auxquelles l'animal géré à la ferme présentait moins de 5 % de chances de rétablissement (12). Cette étude n'incluait par contre que des animaux en période péripartum. Dans les années 2000, une étude israélienne a reproduit des résultats similaires en appliquant les analyses statistiques réalisées par l'équipe australienne (régression logistique) à ses propres données (15). De son côté, cette étude incluait tout cas de SVT, qu'il soit alerte ou non. Dans les deux cas, aucune mention des soins mis en place à la ferme n'était présente. Les résultats de la régression logistique de ces 2 études sont présentés à la table III et sont similaires. L'équipe de Shpigel a de plus établi un seuil optimal d'AST à 171 U/L pour une prévalence d'issue négative globale de 37% sur leur population à l'étude (sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative : 58, 94,85 et 80%)(15). La valeur sérique critique de l'AST à laquelle aucune vache n'a présenté d'issue positive était de 694 U/L. L'AST est donc plus intéressante, lorsqu'utilisée seule, que la CK pour déterminer l'issue négative d'un cas de SVT. Bien qu'utiles, les tests pour ces deux biomarqueurs demandent un délai d'analyse pour le médecin vétérinaire en pratique privée, qui varie d'une région du Québec à l'autre. Il est donc impossible d'avoir en main ces résultats au moment de la visite vétérinaire

Tableau III. Comparaison des résultats de régression logistique pour un seuil critique à 5% d'issue positive sur les variables de créatine kinase et d'aspartate aminotransférase provenant de vaches atteintes de syndrome vache à terre.

Durée du décubitus (jr)	Shpigel et coll. 2003, n=262			Clark et coll. 1987, n=433		
	NO (%)	Valeur seuil de CK (U/L)	Valeur seuil d'AST (U/L)	NO (%)	Valeurs seuil de CK (U/L)	Valeur seuil d'AST (U/L)
1	24			55	18 600	
2	69			65	16 300	
3	69	16 000	702		14 000	890
4	81			75	10 900	

Jr :jour; NO : issue négative (mort ou euthanasie); CK : créatine kinase; AST : aspartate aminotransférase
 Données tirées de «Value of measurements of the serum activity of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover» par Shpigel NY, Avidar Y et Bogin E, 2003, The Veterinary Record, volume 152, pp773-776 ainsi que de «The ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows» par RG Clark, Henderson HV, Hoggard GK et coll. 1987, New Zealand Veterinary Journal, volume 35, pp 126-13

1.3 Importance du bien-être animal lors de syndrome vache à terre

Le bien-être animal est un enjeu important pour notre société (10, 23). Le SVT est une condition médicale bovine où ce bien-être est rapidement remis en question. Malgré des rapports anecdotiques où des vaches soient redevenues ambulatoires après plus de 10 à 30 jours de décubitus (29, 33), il faut se rappeler que ces rétablissements miraculeux ne sont pas la norme. De plus, l'investissement monétaire en soins et en médicaments dans le traitement de ces cas lourds à la ferme demande au médecin vétérinaire d'établir rapidement un pronostic aussi fiable que possible (10). Il serait perçu comme inhumain de laisser un animal dépérir lorsqu'on peut d'emblée savoir que ses chances de survie sont quasi nulles (10, 57). Une euthanasie humanitaire peut parfois être le seul traitement réaliste à envisager lorsque les chances de récupérer sont minces et que la souffrance, la détresse et la douleur sont identifiables chez l'animal affecté (3, 9, 10, 36, 57).

Or, aucun test objectif et rapide n'est actuellement disponible à la ferme pour orienter le praticien. La présence d'hypoperfusion et la description de lésions myocardiques à la nécropsie dans la littérature lors de SVT nous invitent à considérer la troponinémie (cTnI) et la l-lactatémie (LAC) comme de possibles marqueurs pronostiques d'intérêt. De plus, ces deux biomarqueurs peuvent être évalués directement au chevet de l'animal.

1.4 La troponinémie

1.4.1 Isoformes de la troponine

Le complexe des troponines fait partie intégrante de l'appareil de contraction musculaire chez les mammifères (58). Composé de trois sous-unités distinctes (les troponines I, T et C), ce complexe est retrouvé uniquement dans les filaments fins qui composent les sarcomères des muscles striés (59).

La troponine C ne présente aucune différence entre ses isoformes cardiaques et musculaires. Son dosage est donc non spécifique (60).

Bien que la troponine cardiaque T (cTnT) possède entre 6 à 11 acides aminés différents de son isoforme squelettique, son dosage chez le bovin s'est avéré inutile. En effet, le seul test quantitatif disponible sur le marché dosant la cTnT humaine s'est avéré peu sensible lors de la quantification de cTnT bovine (61, 62).

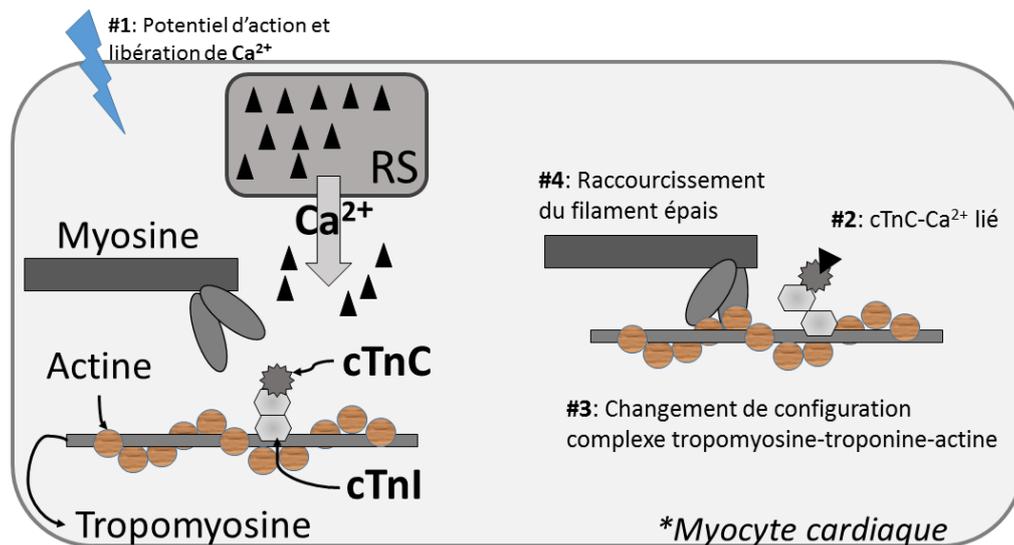
Quant à la troponine cardiaque I (cTnI), elle présente une homologie de 40 % avec son isoforme squelettique (59). Cette différence permet donc de bien identifier l'isoforme cardiaque lors de dosage sanguin suite à des insultes aux cellules myocardiques, même en présence de dommages musculosquelettiques importants (63). Une mention de la troponinémie dans la suite de ce mémoire fera référence à la valeur sanguine de cTnI.

1.4.2 Physiologie d'une contraction musculaire cardiaque

Un schéma simple du rôle des troponines lors d'une contraction musculaire est présenté à la figure 2. Avant l'atteinte d'un potentiel d'action, la troponine cardiaque C (cTnC) est libre de tout calcium. La cTnI inhibe l'actomyosine ATPase et prévient ainsi l'interaction entre la myosine et l'actine (58, 64, 65). Une fois le potentiel d'action nécessaire à l'initiation de la contraction musculaire atteint, la concentration intracytoplasmique de calcium augmente (66). La liaison du calcium à la cTnC entraîne un changement de conformation du groupe

troponines/tropomyosine/actine qui est contenu dans les filaments minces et expose les sites de liaison de l'actine (65, 67). L'interaction entre l'actine et la myosine est alors possible. Une fois lié, le filament épais d'où provient la myosine se raccourcit: la contraction musculaire a lieu. Le calcium est pompé à nouveau dans le réticulum sarcoplasmique et la cTnI favorise la phase de relaxation musculaire avant le prochain potentiel d'action.

Figure 2. Représentation d'une contraction musculaire d'un myofilament cardiaque



cTnC: troponine cardiaque C ; **cTnI**: troponine cardiaque I ; **RS**: réticulum sarcoplasmique. Inspiré de cvphysiology.com. Adapté et traduit avec l'autorisation de Dr R. Klabunde.

1.4.3 Cinétique de libération de la troponine I lors de dommage cardiaque

La majorité de la cTnI est sous forme liée dans les sarcomères des cardiomyocytes et seulement 2 à 4 % de la cTnI est présente sous forme libre dans le cytoplasme (58, 64). La nature, la durée et la progression d'une lésion induite aux cardiomyocytes influencent la cinétique de libération des troponines (60). Lorsqu'un dommage aigu survient, cette libération se passe généralement en deux phases (68). La première phase correspond à une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire qui permet la libération rapide du pool cytoplasmique de cTnI (64, 68). Cette phase réversible est possible lors d'ischémie survenant durant un épisode inflammatoire ou de toxicité. La seconde phase de libération est associée à la nécrose des cardiomyocytes lésés. La libération du pool structurel permet la libération sur plusieurs jours des cTnI liées (60, 63, 64, 68). Les cTnI qui se retrouvent en circulation sanguine sont ainsi en majorité sous forme de complexes binaires ou tertiaires (60). La demi-vie plasmatique de la cTnI est évaluée à deux heures chez l'homme (63, 64). Lors d'infarctus du myocarde, la concentration sanguine de cTnI commencera à augmenter en 2 à 12 heures et sera à son maximum en 18 à 24 heures (63, 64). Vu sa cinétique de libération, la cTnI sera détectable jusqu'à 7 à 10 jours suivant l'infarctus (63, 68). La cTnI sanguine est ensuite dégradée par le foie, le pancréas et le système réticulo-endothélial et est excrétée par les reins (69).

1.4.4 Troponinémie sanguine normale

Des valeurs de référence ont déjà été émises pour d'autres espèces à l'aide de différents appareils. Un résumé ciblant les grands animaux est présenté dans le tableau IV. Les valeurs sanguines de cTnI chez un humain ou un animal normal sont basses, voire sous la limite de détection de certains tests utilisés (61, 70).

Tableau IV. Valeurs de références de troponinémie chez les grands animaux pour certains appareils portatifs

Espèce	Étude	Appareil utilisé	Valeurs de référence (ng/ml)	Nombre d'animaux
Équin				
– poulain	Slack et coll, 2005	Access	0,01-0,51	53 ^S
– adulte	Phillips, 2003	Dimension	<0.04–0.11	20 ^S
	Kraus et coll, 2010	i-STAT 1	0,0-0.06	83 ^P
Bovin				
– veau	Peek et coll, 2008	Access	0,01-0,05	9 ^S
– vache	Varga et coll, 2009	ADVIA Centaur Tnl-Ultra	0,01-0,07	30 ^S
	Varga et coll, 2013	i-STAT 1	≤0.02	30 ^S
Alpaca				
	Blass et coll, 2011	i-STAT 1	< 0.02-0.07	23 ^S
Chevreuil				
	Boesch et coll, 2014	i-STAT 1	0,00-0.07	52 ^{SH}

SH: sang hépariné, P: plasma, S : sérum

1.4.5 Dosage de la troponinémie

1.4.5.1 Analyse de la troponinémie

L'homologie entre la cTnl humaine et la cTnl mammalienne est très élevée (tableau V) (59). Cette forte homologie permet d'utiliser les kits ELISA développés en médecine humaine pour le dosage de la cTnl animale (59). Les premiers tests ont été réalisés à la fin des années 80. Depuis, leur sensibilité analytique ainsi que leur rapidité d'analyse se sont grandement améliorées (64, 71). Il est maintenant possible de tester ce biomarqueur à l'aide d'appareils portatifs en quelques minutes

au chevet des patients. La limite inférieure de détection varie d'un appareil à l'autre (71, 72). L'absence de standardisation sur le type d'anticorps employé, les épitopes visés sur la cTnI et de molécule indicatrice utilisée lors de l'ELISA rend hasardeuse l'interprétation d'un test versus les résultats obtenus avec d'autres appareils. Tant qu'il n'y aura pas standardisation parmi la panoplie de tests disponibles sur le marché, il est recommandé d'établir un intervalle de référence pour chaque espèce animale et pour chaque appareil utilisé (64, 71).

L'unité portative i-STAT 1 (Abaxis North America, Union City, CA) emploie un ELISA à deux sites avec un anticorps monoclonal murin et un autre caprin dirigés vers la cTnI humaine. Des anticorps spécifiques à la cTnI humaine sont présents sur un capteur électrochimique fixé à une puce de silicium. Un conjugué anticorps/phosphatase alcaline, spécifique à un épitope de la cTnI humaine, est aussi présent sur cette puce. Au contact de l'échantillon à analyser, le conjugué d'enzymes s'y dissout. La cTnI de l'échantillon est alors marquée par la phosphatase alcaline et captée sur le capteur électrochimique. Un lavage retire l'échantillon marqué de la puce ainsi que les enzymes non conjuguées. Un substrat est présent dans le liquide de lavage et il est alors clivé par l'enzyme liée au sandwich anticorps/cTnI de l'échantillon/anticorps. Un produit détectable par électrochimie est libéré. Le capteur mesurera ce produit dont la quantité sera proportionnelle à la troponinémie de l'échantillon (73).

L'usage de l'appareil portatif i-STAT 1 a été validée pour la détection de la cTnI bovine en utilisant du sang, du plasma et du sérum (74, 75). Lors de l'utilisation de sang entier, il est recommandé d'utiliser un tube contenant du lithium hépariné (74). Par contre, aucune étude ne s'est encore attardée à établir un intervalle de référence chez la vache laitière en début de lactation avec cet appareil.

Tableau V. Homologie entre la troponine cardiaque animale par rapport à la troponine cardiaque humaine

Animal	Homologie rapportée
vache	96.4 %
souris/ rat	92.8 %
lapin	91.4 %
poulet	71.5 %

Données tirées de « Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay » écrit par O'Brien PJ, Landt Y and Ladenson JH, 1997, Clinical chemistry, volume 43, pages 2333-2338

1.4.5.2 Conservation de l'échantillon

Une fois en circulation, la cTnI sera sensible aux protéases sériques (58, 71). L'effet de cette dégradation sur la troponinémie sera influencé par la taille des complexes de troponines largués (cTnI liée ou libre)(76). Peu d'études se sont attardées sur ce point critique, autant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire (77). Une diminution significative de la cTnI sérique a été observée lors d'entreposage à température ambiante ou à 4°C pour 48 heures chez les bovins (75). La conservation et le délai d'analyse de l'échantillon sanguin sont donc importants au moment de l'interprétation des résultats. Ces constats ont incité une équipe de recherche à recommander l'analyse des échantillons le jour même ou bien leur congélation à -20° (76). Par contre, cette évaluation a été faite sur un sérum bovin auquel uniquement de la cTnI bovine libre, donc la moins stable, avait

été ajoutée. La stabilité de la cTnI présente naturellement dans le plasma d'alpaga a par ailleurs été validée pour une réfrigération de 24 heures à 4°C (78).

1.4.6 Hypertroponinémie

Les troponines cardiaques ont une sensibilité et une spécificité élevées pour les dommages myocardiques aigus et leurs dosages sont désormais les tests de choix lors de suspicion d'atteinte cardiaque en médecine humaine (63, 68, 79). L'hypertroponinémie peut d'ailleurs être de cause primaire cardiaque ou extracardiaque. La médecine vétérinaire a suivi l'engouement pour ces biomarqueurs et la troponinémie est de plus en plus utilisée (58, 60, 64).

Une hypertroponinémie a été détectée chez le cheval lors maladies cardiaques naturelles (80, 81) et expérimentales (82), de coliques (83), d'endotoxémie induite expérimentalement (84) et de choc septique (85). Chez le bovin, une augmentation de la cTnI a entre autres été observée lors d'atteintes cardiaques (86-90), de réticulopéritonite traumatique (90, 91), d'endotoxémie (92), d'intoxication expérimentale au monensin (76), de fièvre aphteuse (87), de pneumonie suppurative chronique (90, 93) et de SVT en condition hospitalière (94).

1.4.7 Valeur pronostique de la troponinémie

La troponinémie est maintenant reconnue comme la référence absolue en médecine humaine pour la détection d'infarctus myocardique (63, 64, 68). L'arrivée de ce biomarqueur a modifié la définition de l'infarctus myocardique chez l'homme et a permis d'augmenter la prévalence de diagnostic d'infarctus de 28 à 195 % selon les seuils utilisés (95). Toute augmentation lors de condition pathologique cardiaque est considérée comme anormale et est associée avec un risque de mauvaise évolution à court ou long terme (64, 67). La valeur pronostique négative de ces augmentations chez l'homme est bien décrite dans la littérature (63, 68, 96). L'amplitude de l'augmentation de la troponinémie peut nous aider à identifier les patients qui bénéficieraient de thérapies plus agressives (64, 97). La médecine

vétérinaire commence à s'intéresser à ce biomarqueur. Cette section s'attardera uniquement à la littérature dédiée aux grands animaux.

1.4.7.1 Valeur pronostique de la troponinémie chez le cheval

Quelques études seulement sont présentes dans la littérature concernant la valeur pronostique de la troponinémie chez les chevaux et elles ont toutes eu lieu en milieu hospitalier. L'une d'elles a démontré qu'un cheval en colique était 4.17 fois plus à risque d'issue négative s'il présentait une cTnI sanguine supérieure à 0.1 ng/mL à son admission (98). Cette hypertroponinémie était significativement associée à l'hyperlactatémie et à la mortalité lors de colique. Les auteurs ont émis l'hypothèse que l'endotoxémie secondaire aux lésions intestinales pourrait expliquer les dommages myocardiques provoquant cette augmentation de la cTnI (98).

Une autre étude à ce sujet a pour sa part démontré que la cTnI pourrait être un indicateur précoce d'issue négative suite aux chirurgies d'urgence pour abdomen aigu. En effet, les chevaux ayant eu un dosage de la cTnI >0.06 ng/mL lors de leur admission était 38 fois plus à risque (IC_{95%}: 3.35- 438.83) de mourir par rapport à ceux ayant eu une valeur normale (83). De plus, la troponinémie médiane de tous les chevaux non survivants était augmentée à tout moment en période postopératoire (12, 24, 48 et 72 heures) par rapport aux survivants (83). L'explication avancée pour cette augmentation serait l'apparition en circulation de divers facteurs inflammatoires provenant des intestins ischémiques (83, 99). La libération de facteurs inflammatoires semble donc jouer un rôle prédominant dans l'augmentation de la troponinémie sanguine lors d'ischémie intestinale chez le cheval.

1.4.7.2 Valeur pronostique de la troponinémie chez le bovin

Chez les bovins, il a été observé que la cTnI pouvait être augmentée lors de différentes conditions pathologiques cardiaques et extracardiaques (76, 90). Une étude prospective en milieu hospitalier ayant utilisé le i-STAT 1 a regroupé 50 animaux atteints de diverses maladies de production. Les vaches ayant eu une

issue négative (mort ou euthanasie, n=27) avaient une troponinémie sérique significativement plus élevée (médiane; étendue interquartile; maximum: 0.08 ng/mL; 0,03- 0.29 ng/mL; 26.8 ng/mL) que les vaches ayant survécu(n=23, médiane; étendue interquartile; maximum: 0.03 ng/mL; 0,01- 0.08 ng/mL; 2.48 mg/mL)($P<0.303$)(94). En fait, les animaux ayant présenté une troponinémie >0.05 ng/mL étaient 2.4 fois(IC_{95%}: 1.1- 7.3) plus à risque d'issue négative que les animaux présentant une troponinémie <0.02 ng/mL. Le groupe d'animaux ayant présenté un décubitus malgré les traitements visant les déséquilibres électrolytiques (n=8, dont 7 issues négatives) a obtenu les troponinémies les plus élevées de l'étude (médiane; minimum-maximum: 1.70 ng/mL; 0,15- 27.00 ng/mL). Des lésions de myocardite, d'endocardite et de péricardite ont été observées à la nécropsie chez deux des quatre vaches nécropsiées souffrant de SVT (94).

Une nécrose du myocarde a par ailleurs été observée chez des vaches laitières hypocalcémiques à terre en période péripartum (49, 50). De plus, ces animaux présentant des frémissements et un râlement ne répondaient pas, eux aussi, aux traitements prodigués (49, 50).

L'étendue des lésions myocardiques a été corrélée avec l'augmentation de la concentration sérique des cTnI lors d'une intoxication expérimentale au monensin (76). Dans cette dernière étude, les lésions de nécrose myocardique étaient détectables à l'histopathologie lorsque la troponinémie > 1.04 ng/mL.

La littérature concernant la troponinémie chez les équins et les bovins existe en faible quantité. Les résultats préliminaires de Varga *et coll.*(2013) portent à croire que la troponinémie pourrait être un indicateur pronostique lors de SVT chez la vache laitière (94). Les effets d'ischémie-reperfusion secondaires aux syndromes d'écrasement et de compartimentation, dont la mise en circulation de différents facteurs inflammatoires et un déséquilibre entre l'offre et la demande en oxygène du muscle cardiaque, pourraient favoriser l'apparition de lésions myocardiques durant le SVT. La libération de cTnI serait ainsi favorisée.

L'offre d'appareils portatifs sur le marché nous permet désormais de mesurer la cTnl à la ferme. L'étude préliminaire de Varga *et coll.*(2013) comportait un très petit nombre d'individus atteints de SVT (94). De plus, l'inférence entre une population hospitalière et une population ambulatoire est rarement possible. Une étude approfondie sur un plus grand nombre de cas de SVT est donc nécessaire pour déterminer si la troponinémie peut aider le médecin vétérinaire praticien dans l'émission d'un pronostic rapide et précis lors de la prise en charge de ce type de cas à la ferme.

1.5 La L-lactatémie

1.5.1 Lactate et ses isomères

L'acide lactique peut être produit sous deux isomères chez le bovin. Le D-lactate est créé lors de la fermentation bactérienne des hydrates de carbone transitant dans le tractus digestif (53). Ce métabolite peut alors se retrouver dans la circulation sanguine systémique et causer une acidose métabolique. Une augmentation de sa valeur sanguine est possible pendant une acidose ruminale suivant une surcharge en grain ou encore lors de diarrhée néonatale (100). Par contre, aucune méthode de dosage de la D-lactatémie au chevet de l'animal n'est actuellement offerte (73).

Il en va autrement pour le L-lactate (LAC), qui est un dérivé de la respiration cellulaire anaérobie chez les mammifères. Il est intéressant de noter que certains organes produiront tout de même du LAC en situation aérobie (101). Les références à la lactatémie présentes dans ce mémoire porteront uniquement sur la L-lactatémie.

1.5.2 Métabolisme du L-lactate

Un schéma de la respiration cellulaire est présenté à la figure III. La glycolyse est la première étape menant à la production d'énergie cellulaire. À la fin de cette séquence de 10 réactions, chaque molécule de glucose est transformée en 2 molécules de pyruvate et produit 2 molécules d'adénosine triphosphate (ATP)(102). La glycolyse n'exige pas d'oxygène pour avoir lieu. La présence ou non d'oxygène guidera la voie métabolique qui sera employée par la suite. Durant la respiration cellulaire aérobie, le pyruvate peut entrer dans les mitochondries pour participer au cycle de Krebs. C'est la voie métabolique qui est la plus rentable: 36 molécules d'ATP sont créées par molécule de glucose transformée (102). Au contraire, le pyruvate n'arrive plus à entrer dans les mitochondries pendant la respiration

cellulaire anaérobie pour subir la décarboxylation oxydative (103) ; la production d'énergie passe alors par la bioconversion du pyruvate en lactate (102). Cette réaction ne crée que 2 molécules d'ATP par molécule de glucose métabolisée. Certaines cellules, comme les globules rouges, sont des producteurs obligatoires de lactate. En effet, ces cellules ne possèdent pas les mitochondries et les enzymes nécessaires pour métaboliser le pyruvate (104).

Le foie, les reins et le myocarde ont la capacité de reconvertir ce LAC en pyruvate en recourant à l'enzyme lactate déshydrogénase (105). Ce retour du pyruvate dans le foie permet alors d'utiliser la voie métabolique la plus efficace pour la production d'énergie, soit le cycle de Krebs, ou encore de participer à la gluconéogenèse via le cycle de Cori. Ce processus est par contre saturable et un état d'hyperlactatémie peut rapidement s'installer (105). De plus, les mêmes organes impliqués dans la reconversion du LAC en pyruvate peuvent devenir producteurs de lactate lors d'hypoperfusion liée à une situation de choc (102, 103). Le rétablissement de la perfusion tissulaire est donc primordial dans ces conditions (102).

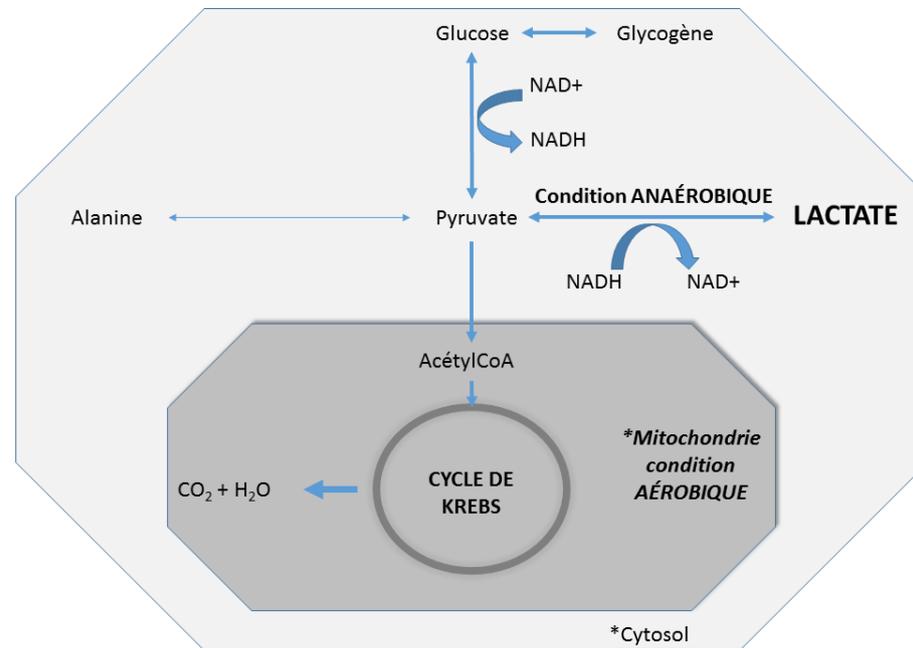


Figure 3. Schéma simplifié de la respiration cellulaire.

En présence d'oxygène, la production énergétique a lieu dans les mitochondries via le cycle de Krebs. Lors d'absence d'oxygène, le pyruvate est alors détourné vers la production de lactate. Cette production d'énergie cellulaire s'effectuera à ce moment dans le cytosol. NADH, nicotinamide adenine dinucleotide; NAD⁺, forme oxydée du NADH; acétylCoA, acétylcoenzyme A; CO₂, gaz carbonique; H₂O, eau.

Adaptation et traduction d'une figure tirée de « Lactate in veterinary critical care : pathophysiology and management » écrit par D.S. Pang et S. Boysen, *Journal of the American Animal Hospital Association*, volume 43, p. 272. © American Animal Hospital Association (2007). Reproduit avec permission

1.5.3 Dosage de la lactatémie

1.5.3.1 Prélèvement de l'échantillon

Le site de prélèvement influence légèrement la valeur de la lactatémie (106, 107). Par contre, cette différence n'est pas cliniquement significative (107). L'interprétation de la valeur obtenue ne sera donc pas influencée par le site de prélèvement (108). Comme la lactatémie augmente lors d'activité musculaire, il est important d'effectuer la prise de sang sur un animal calme. La lactatémie peut en effet augmenter en réponse au stress, à une blessure ou à une contention excessive (104). Une occlusion prolongée de la veine où le prélèvement est réalisé peut aussi occasionner une légère augmentation de la lactatémie non reliée à la condition de l'animal (103). Le moment où le prélèvement est effectué doit aussi être pris en considération. Il est effectivement préférable de procéder avant l'instigation de tout traitement, particulièrement lors de fluidothérapie (109).

1.5.3.2 Conservation de l'échantillon

Nous avons déjà mentionné que les érythrocytes sont des producteurs obligatoires de LAC. Si l'analyse sanguine n'est pas possible dans les 5 à 10 minutes suivant la prise de sang (103, 109, 110), il est impératif de limiter la production érythrocytaire de LAC. En effet, celle-ci peut augmenter de 20 % par heure lorsque l'échantillon est conservé à une température de 25°C (110). Un autre investigateur notait plutôt une augmentation aléatoire, mais considérable, de la lactatémie, même sur de courtes périodes (111). Une façon de limiter l'effet d'un délai d'analyse est d'utiliser un tube contenant du fluorure de sodium et/ou d'oxalate de potassium. Ces combinaisons de sels inhibent le cycle de la glycolyse (103, 112). La réfrigération à 4°C (103) ou encore la séparation du plasma des globules rouges par centrifugation sont aussi des options envisageables (103).

1.5.3.3 Analyse de la lactatémie

La lactatémie peut se mesurer par deux techniques, soit l'ampérométrie enzymatique et la spectrophotométrie enzymatique. La première technique est utilisée dans les appareils à gaz sanguins. Le lactate contenu dans l'échantillon est alors converti en pyruvate et en peroxyde d'hydrogène par l'enzyme lactate oxydase. Le peroxyde d'hydrogène est oxydé sur une électrode. Le courant produit est proportionnel à la concentration de lactate de l'échantillon (108). Plusieurs appareils portatifs utilisent cette technique, dont le i-STAT-1® (Abaxis, Union City, CA, USA) et le Lactate Pro® (Akray, Japon). L'analyse devrait s'effectuer rapidement sur du sang entier. Par contre, l'emploi d'un tube hépariné est recommandé si l'analyse a lieu plus tard (108). Les tubes contenant du fluorure de sodium ou du citrate de sodium sont déconseillés avec cette technique. Il a été observé que ces anticoagulants interféraient avec la mesure du LAC (108).

La spectrophotométrie est la seconde méthode utilisée. Le LAC est encore une fois converti en pyruvate par l'enzyme lactate oxydase. Cette fois-ci, c'est la nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) qui est détectée dans l'échantillon. L'absorption spectrophotométrique du NADH est proportionnelle à la concentration de lactate de l'échantillon. L'Accutrend® (Roche Diagnostics, Bâle, Suisse) et l'Accusport® (Boehringer, Mannheim, Allemagne) sont des appareils portatifs qui utilisent cette méthode. Advenant le cas d'une analyse rapide, un tube d'héparine de lithium devrait être utilisé lors du prélèvement. Si l'analyse est retardée, il est recommandé d'utiliser un tube de fluorure de sodium ou de citrate de sodium (110).

Plusieurs études ont montré de bonnes corrélations entre les valeurs de lactatémies obtenues par les appareils portatifs et les valeurs obtenues selon les méthodes de référence chez différentes espèces (113-115). Les valeurs de lactatémie étaient ainsi considérées fiables. Des conclusions similaires ont été tirées chez le bovin (116, 117). Bien que les mesures de lactatémie chez le bovin aient été rapportées un peu moins fiables (116, 117), l'utilisation d'un appareil portatif mesurant la lactatémie à la ferme est une avenue prometteuse.

1.5.4 Lactatémie sanguine normale

Vu la présence d'une multitude d'appareils dosant le LAC sur le marché et l'effet potentiel du stade physiologique (nouveau-nés, adultes, athlètes, lactation) sur la production basale de lactate, il est préférable et recommandé de déterminer un intervalle de référence pour chaque appareil utilisé et pour chaque population visée.

Quant à l'homme, sa lactatémie basale est inférieure à 1 mmol/L (101). Les valeurs de base chez les bovins et les équins adultes sont similaires et présentées dans le tableau VI.

Tableau VI. Valeurs sanguines basales de lactatémie rapportées dans la littérature

Catégorie	Études	Appareil utilisé	Intervalle (mmol/L)
Bovin			
Veaux, 3-4 jrs	Constable et coll. 1997	Sigma (Sphoto)	0.6-1.3 ^{SH}
Vaches tarées	Constable et coll. 1997	Sigma (Sphoto)	0.6-1.4 ^{SH}
Vaches <60 JEL	Figueiredo et coll. 2006	i-STAT	0.3-1.5 ^{SH}
Equins			
Poulain, 12 h d'âge	Castagnetti et coll 2010	Lactate Scout	1.5-4.1 ^{SE}
Poulain, 24 h d'âge	Castagnetti et coll 2010	Lactate Scout	1.3-2.9 ^{SE}
Poulain, 48 h d'âge	Castagnetti et coll 2010	Lactate Scout	1.1- 1.7 ^{SE}
Poulain, 72 h d'âge	Castagnetti et coll 2010	Lactate Scout	1.2-2.6 ^{SE}
Poulain, 2-8 sem	Lumsden et coll 1980	S.O. (Sphoto)	0.9-1.65 ^{SE}
Adultes	Williamson et coll. 1996	Accusport	<0.7 ^{SE}

JEL: jour en lait ; S.O.: sans objet ; Sphoto: spectrophotométrie ; SH, sang hépariné, SE: sang entier et fluorure de sodium ; sem : semaines.

1.5.5 Hyperlactatémie et acidose lactique

L'hyperlactatémie humaine se présente comme une augmentation légère à modérée (2 à 5 mmol/L) du LAC sans acidose métabolique. L'acidose lactique correspond à une augmentation sévère et persistante de la lactatémie (>5 mmol/L) entraînant alors une acidose métabolique (101).

1.5.5.1 Définitions et pathophysiologie

La lactatémie sanguine résulte d'un équilibre entre la perfusion tissulaire et l'oxygénation adéquate des tissus et le métabolisme du LAC. Il y aura acidose lactique lorsque la production du LAC dépasse son utilisation (101). Un organisme peut se retrouver en état physiologique d'hyperlactatémie lors d'une activité musculaire exigeante ou de tremblements (118). Un retour à une oxygénation normale des tissus permettra à la respiration cellulaire aérobie de reprendre son cours. Le LAC produit durant la précédente période anaérobie sera métabolisé dans le foie et dans les reins ; l'hyperlactatémie ne sera alors que transitoire (119). Par contre, un état pathologique peut amener l'organisme en acidose lactique lorsque les mécanismes de compensation sont épuisés (103).

L'hyperlactatémie peut être divisée en type A ou en type B (tableau VII). Les hyperlactatémies de type A surviennent lors d'un déficit relatif ou absolu en oxygène (103, 104). Celles de type de B se produisent plutôt en présence d'une oxygénation normale des tissus et sont subdivisées en 3 classes (103, 104). Les deux types d'hyperlactatémies peuvent coexister chez certains patients, dont ceux en septicémie (104).

Une mauvaise perfusion tissulaire locale ou systémique menant à l'hypoxie tissulaire est la cause la plus fréquente d'augmentation de la LAC (104, 105, 120). Elle entraîne une augmentation de production de LAC, mais aussi une diminution de l'utilisation de celui-ci par le foie, qui devient lui-même producteur de LAC dans ses conditions (101). La déshydratation, le choc, l'endotoxémie ainsi que l'hypoperfusion locale (114, 121, 122) sont tous des causes possibles de perfusion tissulaire inadéquate pouvant amener une augmentation de la lactatémie plasmatique.

La persistance de l'hyperlactatémie suite à la stabilisation d'un patient peut s'expliquer par un volume intravasculaire inadéquat, une restauration de la perfusion tissulaire insuffisante ou un métabolisme énergétique inadéquat (123).

Tableau VII. Mécanismes entraînant une acidose lactique de type A ou de type B et leurs causes connues.

Acidose lactique					
Type A		Type B			
Apport inadéquat en O₂	↑ de la demande en O₂	Utilisation inadéquate de l'O₂	Anomalies congénitales reliées au métabolisme du lactate	Médicaments et produits toxiques	Autres
Perte sanguine Choc cardiogénique Choc hypovolémique Choc septique Anémie importante Hypoxie importante Empoisonnement au monoxyde de carbone	Exercice Convulsions Tremblements	Syndrome de la réponse inflammatoire systémique Septicémie Insuffisance rénale Diabète mellitus Néoplasme Nutrition parentérale Déficience en thiamine	Encéphalomyopathie mitochondriale avec acidose lactique et syndrome de choc	Éthylène Propylène glycol Cathécholamines Cyanure Monoxyde de carbone Strychnine Salicylates Nitroprusside Bicarbonate Halothane Acétaminophène Terbutaline Charbon activé	Acidose D-lactique

O₂: oxygène. **Les conditions susceptibles d'être présentes lors de cas de SVT ont été mises en caractères gras.**

Adaptation et traduction d'un tableau tiré de « Lactate in veterinary critical care : pathophysiology and management » écrit par D.S. Pang et S. Boysen, 2007, Journal of the American Animal Hospital Association, 43, p. 273-274. © American Animal Hospital Association (2007). Reproduit avec permission.

1.5.6 Valeur pronostique de la lactatémie

La valeur pronostique de la lactatémie a été démontrée lors de plusieurs conditions pathologiques rencontrées en situation d'urgence, tant en médecine humaine que vétérinaire. L'hyperlactatémie est associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité dans les unités de soins intensifs humaines et équine (99, 104). La fréquence des mesures de lactatémie sera abordée dans un premier temps et la valeur pronostique de cette dernière chez les espèces équine et bovine suivra.

1.5.6.1 Fréquences des mesures de la lactatémie

Il a été montré encore récemment qu'il était possible d'obtenir une information grâce à la lactatémie en réalisant une évaluation ponctuelle (124, 125). Ainsi, les poulains admis en soins intensifs de néonatalogie et qui meurent durant leur hospitalisation avaient une lactatémie plus élevée lors de leur admission que les poulains survivants (106, 112, 126). Un seuil de > 5.0 mmol/L à l'admission en soins intensifs a été avancé pour prédire la non-survie de poulains (108). Par contre, des poulains ayant eu une lactatémie supérieure à ce seuil ont tout de même survécu. L'auteur proposait donc d'utiliser ce seuil pour ouvrir la discussion avec les propriétaires sur le pronostic et les coûts associés à la gestion des poulains nécessitant des soins intensifs. Cet exemple illustre aussi le fait que les étendues de valeurs de lactatémie entre les survivants et les non-survivants peuvent se chevaucher ce qui peut limiter sa valeur pronostique (104). L'évaluation ponctuelle de la lactatémie ne fait donc pas l'unanimité puisque c'est un processus dynamique qui peut évoluer dans le temps (104). Des mesures répétées permettront d'évaluer la gravité de la maladie, de vérifier la nécessité d'un traitement rapide et agressif ainsi que d'observer la réponse au traitement du patient (106, 109, 112, 123, 126). Un retour rapide à la normolactatémie était entre autres le meilleur indicateur de survie chez l'humain lors de choc septique et de septicémie sévère (99).

1.5.6.2 Valeur pronostique chez le cheval

La valeur pronostique de la lactatémie a été particulièrement étudiée chez le cheval en colique. Plusieurs études s'entendent pour affirmer que l'hyperlactatémie est un outil utile pour prévoir la survie lors de colique (127-130). Plus la lactatémie est élevée lors de l'admission en centre hospitalier, plus les chances de survie sont faibles (131). Encore une fois, bien que la valeur ponctuelle de lactatémie ait un intérêt pronostique, des études plus récentes confirment que la persistance d'un état d'hyperlactatémie ou un retour lent à la normolactatémie présente une valeur pronostique négative plus juste (109, 129, 132).

Bien qu'il ait été proposé de viser une diminution de 30 à 40 % dans les 4 à 8 heures suivant l'admission en centre hospitalier (132), la vitesse optimale de retour à la normolactatémie est inconnue (104). Chez des chevaux diagnostiqués avec un volvulus du côlon, la lactatémie moyenne était de retour à la normale en 24 heures suivant la correction chirurgicale chez les survivants (0.96 ± 0.06 mmol/L) et demeurait élevée chez les non-survivants (3.24 ± 2.08 mmol/L)(129). Une étude prospective incluant 250 chevaux vus en urgence en centre hospitalier a montré que la lactatémie était significativement plus élevée à tout moment de l'hospitalisation chez les chevaux non survivants (109). D'ailleurs, un rapport de cote de non-survie allant de 1.29 (IC_{95%}: 1.17-1.43) à 49.9 (IC_{95%}: 6.47-384.82) pour chaque 1 mmol/L d'augmentation respectivement à l'admission et à 72 heures post admission a été calculé (109). Le dosage répété de la lactatémie est donc un indicateur pronostique lors de colique chez le cheval. Par contre, cette façon de procéder est peu pratique pour le médecin vétérinaire en pratique ambulatoire.

1.5.6.3 Valeur pronostique de la lactatémie chez le bovin

Quelques études ont mis en évidence une association entre l'hyperlactatémie et une issue négative chez les bovins. Ces études se sont intéressées principalement à la valeur pronostique de la lactatémie lors de problèmes respiratoire et digestif.

Une étude portant sur 109 veaux de boucherie atteints de bronchopneumonie et référés en centre hospitalier a permis d'établir qu'une lactatémie supérieure à 4.0 mmol/L était un indicateur fiable de mortalité dans les 24 heures suivant le prélèvement sanguin (133). Plus récemment, l'équipe de Nagy a aussi confirmée que la lactatémie était augmentée chez des veaux laitiers en pneumonie mourant dans les 24 heures (moyenne; 2.8 ± 1.1 mmol/L, n=35) suivant la prise de sang par rapport à ceux vivant plus de 24 h (1.3 ± 0.5 mmol/L, n=7)(134). La mesure de la lactatémie lors de bronchopneumonie est ainsi intéressante économiquement puisqu'elle permettrait aux médecins vétérinaires et aux éleveurs de cesser les traitements précocement sur les animaux où un pronostic fatal est émis (133, 134).

L'intérêt pronostique de lactatémie en préopératoire lors de volvulus de caillette a été étudié à plusieurs reprises. Uniquement les résultats des deux plus récentes études seront discutés ici. La lactatémie augmente en fonction de la gravité de l'ischémie et de la déshydratation de l'animal (135). L'hyperlactatémie peut être secondaire à une augmentation du métabolisme anaérobie, lui-même dû à une hypovolémie et à une diminution de la perfusion tissulaire périphérique (120, 136). Lors de volvulus de la caillette, l'apport vasculaire à celle-ci est compromis. Il se développe alors une hypoperfusion locale de la caillette qui favorise le métabolisme anaérobie et la production de LAC qui y est associée (125). Il a ainsi été déterminé que les animaux en volvulus de la caillette avaient une lactatémie plus élevée (3.8 ± 2.9 mmol/L) que la valeur de référence des bovins en santé (0.6-1.4 mmol/L)(136). Les vaches en volvulus ou en dilatation de caillette ont présenté des lactatémies médianes et moyennes (respectivement 4.8 et 4.1 mmol/L) plus élevées que les vaches présentant un déplacement de caillette à gauche (médiane: 2.0 mmol/L ; moyenne: 1.2 mmol/L)(122, 125). La lactatémie est un bon indicateur pronostique lors de problèmes de caillette à droite en milieu hospitalier d'après une étude récente. Les animaux ayant une mauvaise évolution dans les 30 jours suivant leur chirurgie correctrice présentaient des lactatémies médianes (médiane, étendue interquartiles: 5.9 mmol/L, 4.9-9.3 mmol/L) plus élevées que celles des animaux

ayant eu une issue positive après la même période (3.2 mmol/L, 2.0-5.8 mmol/L)(125). Récemment, une étude prospective en milieu ambulatoire a montré qu'une lactatémie préchirurgicale supérieure à 6.0 mmol/L était associée à un risque plus élevé d'issue négative (réforme ou euthanasie) dans les 30 jours suivant la correction chirurgicale du problème de caillette à droite (124). Il est intéressant pour le médecin vétérinaire en pratique ambulatoire de voir que de telles conclusions se sont dégagées d'une mesure ponctuelle de la lactatémie.

Cette revue de littérature portant sur la lactatémie met en évidence l'absence d'études s'intéressant à la valeur pronostique de la lactatémie lors de SVT. Par contre, nous savons que la lactatémie peut nous renseigner sur la perfusion tissulaire et sur le degré d'ischémie cellulaire présent lors d'une condition pathologique. Nous avons aussi pu noter que l'hypoperfusion locale peut influencer la valeur sanguine de lactatémie. Les problèmes digestifs équins et bovins, où un état d'hypoperfusion est présent localement, ont été associés à des issues négatives lorsque la lactatémie était augmentée. Les syndromes d'écrasement et de compartimentation lors de SVT provoquent eux aussi une hypoperfusion locale et une ischémie cellulaire. Comme l'hypoperfusion est un point commun de ces pathologies, il est possible que la lactatémie puisse nous informer sur l'issue des SVT.

La validation d'appareils portatifs mesurant la lactatémie chez les bovins nous ouvre la porte à un test complémentaire rapide, peu dispendieux et prometteur à la ferme. Une étude est par contre nécessaire pour déterminer la valeur pronostique d'un tel biomarqueur lors de SVT.

Hypothèses et objectifs de l'étude

Notre hypothèse de recherche était que la présence d'ischémie musculaire secondaire aux dommages de compression existants lors de cas de SVT favoriserait un état d'hypoperfusion systémique (ou à tout le moins local) et l'apparition de lésions myocardiques qui seraient détectables par l'augmentation de la lactatémie et de la troponinémie sanguine. Nous postulons de plus que ces augmentations au-delà d'un certain seuil seraient liées à une issue négative pour l'animal atteint.

Notre objectif principal consistait donc à évaluer la valeur pronostique de ces deux biomarqueurs chez les vaches laitières atteintes de syndrome vache à terre directement à la ferme.

Une retombée secondaire de cette étude était de présenter aux producteurs un pronostic qui serait à la fois plus rapide et plus objectif lors de SVT.

Comme aucun intervalle de référence de cTnI n'avait été rapporté pour l'utilisation de l'appareil portatif i-STAT 1 chez la vache laitière en début de lactation, nous avons réalisé une étude préliminaire.

Notre hypothèse était que la cTnI sanguine chez ces vaches laitières saines à l'examen clinique et à l'échocardiographie serait près des limites inférieures de détection du test utilisé.

CHAPITRE 2: Articles

2.1 Measurement of cardiac troponin I in healthy lactating dairy cows using a point of care analyzer (i-STAT-1)

Article publié dans le *Journal of Veterinary Cardiology*, 2015, juin, 17(2): 129-33

**Measurement of cardiac troponin I in healthy lactating dairy cows
using a point of care analyzer (i-STAT-1)**

Short title: Cardiac troponin I in healthy lactating dairy cows

Josiane Labonté, DMV, Jean-Philippe Roy, DMV, MSc, Jocelyn Dubuc,
DMV, MSc, DVSc, Sébastien Buczinski*, Dr Vét, DÉS, MSc.

Clinique ambulatoire bovine, Département des sciences cliniques, Faculté
de médecine vétérinaire, Université de Montréal

* Corresponding author : e-mail address: s.buczinski@umontreal.ca

Keywords: Biomarker, echocardiography, reference interval, bootstrap

Abbreviations:

CI	confidence interval
CV	coefficient of variation
cTnI	cardiac troponin I
DIM	days in milk
POC	point of care

Abstract

Background: Cardiac troponin I (cTnI) has been shown to be an accurate predictor of myocardial injury in cattle. The point-of-care (POC) *i-STAT 1* immunoassay can be used to quantify blood cTnI in cattle. However, the cTnI reference interval in whole blood of healthy early lactating dairy cows remains unknown.

Objective: To determine a blood cTnI reference interval in healthy early lactating Holstein dairy cows using the POC analyzer *i-STAT 1*.

Methods: Forty healthy lactating dairy Holstein cows (0-60 days in milk) were conveniently selected from four commercial dairy farms serviced by the bovine ambulatory clinic of the Université de Montréal (St-Hyacinthe, Qc). Each selected cow was physically examined by a veterinarian and echocardiographed using a transthoracic approach. A cow-side blood cTnI dosage was also performed. A bootstrap statistical analysis method using unrestricted resampling was used to determine a reference interval for blood cTnI values.

Results: Forty healthy cows were recruited in the study. Median blood cTnI was 0.02 ng/ml (minimum: 0.00, maximum: 0.05). Based on the bootstrap analysis method with 40 cases, the 95th percentile of cTnI values in healthy cows was 0.036 ng/mL (90 % CI: 0.02 to 0.05 ng/mL).

Conclusions: A reference interval for blood cTnI values in healthy lactating cows was determined. Further research is needed to determine whether cTnI blood values could be used to diagnose and provide a prognosis for cardiac and noncardiac diseases in lactating dairy cows.

Introduction

The diagnosis and prognosis of cardiovascular diseases are challenging in dairy practice.¹ In fact, clinical signs of these diseases are neither sensitive nor specific to predict the outcome until heart failure occurs.¹ The availability of on-farm diagnostic tests is also very limited.¹ Any diagnostic tool that could be used on farms would be of interest for veterinarians in order to confirm or exclude myocardial injury. The troponin complex consists of three regulatory proteins (C, I and T) that are specific to muscle contraction in skeletal and cardiac muscle.² Cardiac troponin I (cTnI) and cardiac troponin T (cTnT) are isoforms that are expressed exclusively by cardiac myocytes and have been shown to be useful indicators of myocardial injury.² Cardiac troponin I has an amino acid sequence that shows more than 96% homology between bovine and humans.³ Hence, it is possible for veterinarians to use already existing human cTnI analysis kits.^{2,3} For example, the-point-of-care (POC) *i-STAT 1^a* immunoassay uses a two-site ELISA with one caprine and one murine monoclonal antibody directed against human cTnI; it was shown to be capable of detecting bovine cTnI.^{4,5} This test was developed for humans but has also been previously validated in cattle using blood or plasma samples⁴ and serum samples.⁵ With this test, the human-specific antibodies for cTnI are fixed on a silicon chip which also contains alkaline phosphatase enzyme conjugate (which is specific to cTnI). This enzyme will be dissolved upon contact with the sample and will bind any cTnI in the sample. The labeled cTnI will then be fixed to the human-specific antibodies, after which the chip will be rinsed with a wash solution containing a specific substrate for alkaline phosphatase. The substrate, in contact with fixed

alkaline phosphatase, will then be cleaved in an electrochemically-detectable product which is proportional to the cTnI concentration.⁶

Assessment of the blood concentration of cTnI in healthy animals using the-point-of-care (POC) *i-STAT 1* immunoassay has been reported recently in adult cows using serum samples⁵ and in calves.⁴ Unfortunately, no reference interval was mentioned; only the observed values were presented. The observed values in serum samples were lower than 0.02 ng/mL in 30 cows of different breeds (Jersey and Holstein) and in different physiological statuses (20 lactating cows, 10 dry cows).⁵ In 28 healthy Holstein 2.5 month old calves, the observed value ranged from 0.00 to 0.04 ng/mL, with no further inference regarding reference interval.

It is also important to note that the animals used in the previously mentioned studies were not scanned with echocardiography to exclude occult cardiac anomaly which may occur infrequently. In a recent study in the Referral center of the province of Québec on 106 cases with confirmed heart diseases, only 59 (54%) had clinical signs of heart failure.^{7,8} Based on these preliminary data, the reference intervals for whole blood cTnI in lactating Holstein dairy cows when using the POC *i-STAT 1* immunoassay still remains unclear. Therefore, the objective of the study was to determine a blood cTnI reference interval in healthy early lactating Holstein dairy cows using the POC analyzer *i-STAT 1* (detection limit: 0.02 ng/mL). Our hypothesis was that these cows would have low blood cTnI concentrations close to the detection limit of the test.

Materials and methods

A cross-sectional study was conducted in from July 20th to July 25th 2011 in four commercial dairy farms. These farms were dairy clients of the bovine ambulatory clinic of the Faculté de médecine vétérinaire of the Université de Montréal (St-Hyacinthe, Qc, Canada). Farm selection was based on convenience (30 km radius of the clinic), on having tie-stall barns (making it easy to perform transthoracic echocardiography), and on having electronic health records.^b A total of 40 lactating Holstein dairy cows were enrolled in the study (between 8 and 12 cows per herd). This number was based on previous studies reporting very low values and variability of cTnI in healthy cows^{5,9} (ie below analytical detection limits) and on the minimal number of patients recommended to establish reference intervals by the American Society for Veterinary Clinical Pathology.¹⁰ Participating cows were recruited if they were between 1 and 60 days in milk with no reported signs of disease over the last 15 days. During farm visits, cows that fulfilled these criteria were examined. First, a complete physical examination was performed. A thorough cardiac auscultation was performed by an experienced operator (SB) and heart rate was noted along with any abnormal findings. Particular attention was given to the presence of any dysrhythmia, heart murmur or muffled heart sounds as potential indicators of heart diseases.¹ Then, selected cows were prepared for a standard right transthoracic echocardiography¹¹ performed by the same operator (SB) using a 2 MHz phased-array probe.^c Particular attention was given to myocardial echogenicity and homogeneity, pericardial effusion and any endocardial thickening as possible indicators of heart disease. The left ventricle shortening fraction (SF) was assessed in order to rule out cows with very low SF (less than 20%), which could also be an

indicator of systolic dysfunction correlated to increased cTnI levels or an indicator of decreased pre-load.^{11,12} After the echocardiographic examination was performed, a blood sample from the coccygeal vessels was collected using a 7 ml-lithium heparinized tube.^d Cow-side dosage of cTnI was immediately performed using a portable *i-STAT 1* device.^a Blood analysis was performed according to the manufacturer's instructions. The analyzer displays a result within 10 minutes. The range of values displayed can vary from 0.00 to 50.00 ng/mL. Samples with a cTnI concentration higher than 50.00 ng/mL display a value of >50.00 ng/mL. The analytical sensitivity of this test is 0.02 ng/mL ; values of 0.00 and 0.01 ng/mL can be displayed but are not distinguishable from 0.02 ng/mL. The intra-assay coefficient of variation (CV) has been previously reported in cattle (intra-assay CV < 20 % when cTnI \geq 0.025 ng/mL,³ and CV=38% for cTnI=0.01ng/mL). Finally, the weight of selected animals was estimated using a thoracic perimeter tape.^e Exclusion criteria for the study were any abnormal findings at cardiac auscultation or echocardiographic examination, and any treatment in the 15 days preceding the examination. Moderate tachycardia (upper normal heart rate: 84 bpm¹³) was not an exclusion criterion because of the wet and warm weather during the collection period. This study protocol was approved by the Institutional Animal Use and Care Committee (Comité d'Éthique et d'Utilisation des Animaux, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec).

Data were compiled in Microsoft Excel spreadsheets.^f Statistical analyses were performed using commercial software,^{g,h} following the guidelines of the American Society of Veterinary Clinical Pathology (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory

Standards Committee (QALS).^{10,14} Descriptive statistics (median, minimum, maximum) were calculated (MEANS procedure in SAS). The normality of data distribution was assessed using a Shapiro-Wilk test (UNIVARIATE procedure). The bootstrap statistical method (SURVEYSELECT procedure in SAS) was used to determine the median 5th and 95th percentile of the bootstrapped samples and their 90% confidence interval. A total of 1000 datasets using an unrestricted sampling method were used for this procedure to obtain final distribution of cTnI concentrations.¹⁵

The cTnI concentrations in animals with tachycardia and in animals without tachycardia were compared using a non-parametric Wilcoxon Mann-Whitney test (NPAR1WAY procedure). The level of significance was set at $P < 0.05$.

Results

A total of 40 lactating dairy cows from 4 commercial herds were enrolled in the study. No cows were excluded from the study after physical examination and transthoracic echocardiography. Herd size ranged from 80 to 120 lactating cows. The median (range) maximal environmental temperatureⁱ during the study period was 31.5°C (26.0-34.2°C). The median (range) mean external temperature during the study period was 25°C (19.4-29.0°C). Participating cows had a median DIM at examination of 40 (minimum: 15, maximum: 59), a median weight of 607 kg (minimum: 500 kg, maximum: 727 kg), and a median heart rate of 84 bpm (minimum: 72 bpm, maximum: 104 bpm). Frequency distribution of cTnI blood concentrations and heart rate are presented in Figure 1; there was no difference of cTnI concentrations in

cows with high or low HR ($P=0.08$). Out of 40 cows, thirty-five (87.5%) had cTnI values equal to or less than 0.02 ng/mL. The median cTnI value was <0.02 ng/mL (minimum: <0.02 ng/mL, maximum: 0.05 ng/mL). Blood cTnI concentration data were not normally distributed ($P<0.01$). Based on the bootstrap analysis method, the 5th and 95th percentile cTnI values in healthy cows were below the detection threshold (0.00 ng/mL [90 % CI: 0.00-0.00 ng/mL]) and 0.036 ng/mL (90 % CI: 0.02 to 0.05 ng/mL), respectively.

Discussion

This study was one of the first to investigate normal cTnI blood concentration values in healthy lactating dairy cows using the POC analyzer *i-STAT 1* and echocardiography to confirm the cardiovascular health status of selected animals. Results from the present study were not identical to a previous study using the same assay which reported low cTnI blood values in healthy cattle.⁵ In the previous study, serum cTnI was below the detection limit (0.02 ng/mL) in all 30 cows.⁵ In the present study, 7 of the 40 cows assessed (17.5%) had a cTnI concentration ≥ 0.02 ng/mL without any clinical signs or echocardiographic indices of cardiac anomaly. However, all of the ranges reported in the present study were low compared with those seen in cows with various common diseases (metritis, mastitis, peritonitis, left displaced abomasum, pneumonia, dystocia or downer cows).⁵

Establishing the reference interval is generally difficult when the number of samples analyzed is less than 120.^{10,14} However, since cTnI dosage is expensive in a food animal context (about \$35 per test), most studies focusing on cTnI quantification

have included a small number of samples from healthy patients and commonly performed only descriptive analysis of their healthy animal datasets.^{4,5} Using the bootstrap method allowed the generation of a high number of datasets using unrestricted random resampling of the initial dataset.¹⁵ This technique allows a non-biased estimate determination of the confidence interval of a parameter within a population. Even if a true random sample of the population of interest would have been more appropriate, we truly believe that the risk of bias linked with our convenience sample (e.g. farms closed to the ambulatory clinic) is very low and did not have an impact on our results.

Cows included in the present study had a higher heart rate than expected. The reason for this may be associated with the hot and humid environment at the time of sampling.¹⁶ The animals with cTnI values higher than 0.02 ng/mL had heart rates of 80, 80, 92, 92 and 96 beats per minute, which was not different from cows with cTnI values ≤ 0.02 ng/mL.

High cTnI blood values have been reported in cattle with cardiac and noncardiac diseases.^{5,9} However, the latter study used a different test (Immunlite assay)⁹ and the inferences from one test to another are generally not valid for cTnI values (or cutoffs) since the different tests may detect various antigenic parts of the cTnI and inter-assay variability is important.⁵ Based on our study results and on those reported from the aforementioned studies, any increase in cTnI blood levels above 0.05ng/mL when using POC i-STAT 1 could be potentially interpreted as a non-specific abnormal increase in cTnI. It remains unclear at this point whether bovine

cTnI blood values could be used to assess the severity or prognosis of specific diseases.

The reference interval of cTnI blood values using the POC i-STAT 1 in normal lactating Holstein dairy cows was found to be between 0.00 and 0.05 ng/mL. Further investigations are needed to confirm preliminary findings⁵ on the potential interest of increased cTnI as a prognostic factor for bovine.

Acknowledgments

We would like to acknowledge the Programme de Soutien à l'Innovation en Agroalimentaire (PSIA) du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ Grant number: 810133) and Abaxis for funding for this project. Gratitude is extended to Katia Marquis and Lucie Laprêvotte for their technical help during data collection and to the participating farmers for their willingness to contribute to this study.

Footnotes:

^a I-STAT 1 portable analyzer, Abaxis North America, Union City, CA.

^b Dossier de santé animale, DSAHR, St-Hyacinthe, Qc, Canada.

^c LogiqBook, GE Healthcare, Wawatosa, WI.

^d Monoject Sodium Heparin, Tyco HealthCare Group LP, Mansfield, MA.

^e Dairy cow weight tape, The Coburn Company, Whitewater, WI.

^f Excel Microsoft Corporation, Richmond, WA.

^g SAS, version 9.2, Cary, NC.

^h MedCalc BVBA Statistical software, version 12.4.0, Mariakerke, Belgium

ⁱ Canadian weather website, <http://climat.meteo.gc.ca>

References

1. Buczinski S, Rezakhani A, Boerboom D. Heart disease in cattle: Diagnosis, therapeutic approach and prognosis. *Vet J* 2010; 184:258-263.
2. Wells SM, Sleeper M. Cardiac troponins. *J Vet Emerg Crit Care* 2008; 18: 235-245.
3. O'Brien PJ, Landt Y, Ladensin JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997; 43:2333-2338.
4. Fraser BC, Anderson DE, White BJ, Miesner MD, Wheeler C, Amrine D, Jakritz J, Overbay T. Assessment of a commercially available point of care assay for the measurement of bovine cardiac troponin I concentration. *Am J Vet Res* 2013;74:870-873
5. Varga A, Angelos JA, Graham TW, Chigerwe M. Preliminary validation of cardiac troponin I concentration in cows with common production diseases. *J Vet Intern Med* 2013; 27:1613-1621.
6. Cardiac troponin I (cTnI) available in : <http://www.i-stat.com/products/ctisheets/715595-00L.pdf>
7. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, Di Fruscia R. Heart disease in cattle with clinical signs of heart failure: 59 cases. *Can Vet J* 2010;51:1123-1129.
8. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, Di Fruscia R. A study of heart diseases without clinical signs of heart failure in 47 cattle. *Can Vet J* 2010;51:1239-1246

9. Mellanby RJ, Henry JP, Cash R, Ricketts SW, Bexiga R, Truyers I, Mellor DJ. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with cardiac and non cardiac disorders. *J Vet Intern Med* 2009;23:926-930.
10. Guidelines for the Determination of Reference Intervals in Veterinary Species and other related topics :
<http://www.asvcp.org/pubs/pdf/RI%20Guidelines%20For%20ASVCP%20website.pdf> accessed February 3rd 2015.
11. Buczinski S, Cardiovascular ultrasonography in cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2009;25:611-632.
12. Varga A, Schober KE, Holloman CH, Stromberg PC, Lakritz J, Rings DM. Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin toxicosis. *J Vet Intern Med* 2009;23:1108-1116.
13. McGuirk SM, Reef VB. Cardiac arrhythmias. *In: Smith BP Ed. Large Animal Internal Medicine 4th Ed, 2009, Mosby Elsevier, St-Louis, p86-88.*
14. Braun JP, Concordet D, Geffré A, Bourges Abella N, Trumel, C. Confidence intervals of reference limits in small reference samples. *Vet Clin Path* 2013 ; 42:395-398.
15. Henderson AR. The bootstrap: a technique for data-driven statistics. Using computer-intensive analyses to explore experimental data. *Clin Chim Acta* 2005 ; 359(1-2): 1-26.
16. Whittow GC. Cardiovascular response to localized heating of the anterior hypothalamus. *J Physiol* 1968;198:541-548.

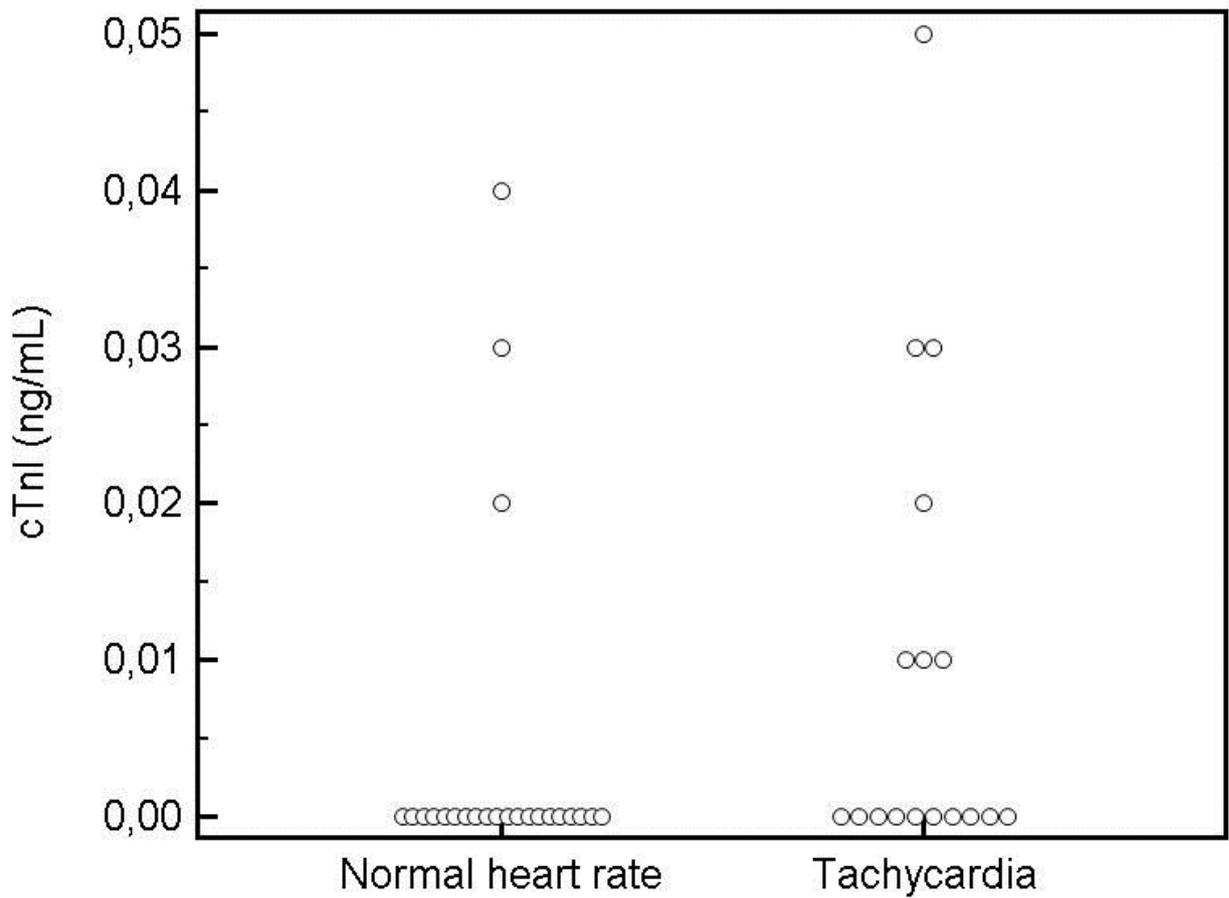


Figure legend

Figure 1: Comparison of cardiac troponin I (cTnI) concentrations in cows with normal heart rate (≤ 84 beats per minute) and cows with tachycardia (> 84 beats per minute)

Normal heart rate: cows with heart rate ≤ 84 beats per minute

Tachycardia: cows with increased heart rate (> 84 beats per minute)

The limit of detection of the I-stat cTnI test is 0.02 ng/mL

2.2 Prognostic values of cardiac troponin I and L-lactatemia blood values in dairy cows affected by downer cow syndrome

Article en préparation pour soumission au *Journal of Veterinary Internal Medicine*

**Prognostic values of cardiac troponin I and L-lactatemia blood values in
dairy cows affected by downer cow syndrome**

J. Labonté, J. Dubuc, J.-P. Roy and S. Buczinski

Running head : Prognostic biomarkers in downer cow syndrome

Keywords : biomarker, point of care

From the Clinique ambulatoire bovine, Faculty of Veterinary Medicine, Clinical Sciences Department, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC, Canada (Dubuc, Roy, Buczinski). Dr Labonté's permanent address is : Bureau Vétérinaire Richmond, 44 rue des Cèdres, Richmond, QC, J0B 2H0, Canada.

Corresponding author: S. Buczinski, Clinique ambulatoire bovine, Faculté de médecine vétérinaire, C.P. 5000, Saint-Hyacinthe, QC, J2S 7C6 ; e-mail: s.buczinski@umontreal.ca

The work presented here was performed among dairy herds located in the Province of Québec, Canada.

This study was supported by an Agri-food innovation grant offered by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec and by Agriculture and Agri-food of Canada. Abaxis provided half of the cTnI cartridges used in the present study without being involved in the study design or the data analysis.

Results from this study were presented at the 2014 ACVIM congress, Nashville, TN (by Buczinski) , at the Annual convention of the 2014 American Association of Bovine Practitioners, Albuquerque, NM (by Labonté), and at the 2014 Annual Congress of the 2014 Association des Médecins Vétérinaires Praticiens du Québec (AMVPQ), Bromont, Quebec, Canada (by Labonté).

This manuscript was part of the Master's thesis submitted by Dr. Josiane Labonté to the Université de Montréal.

The authors disclaimed no conflict of interest.

We would like to acknowledge dairy clinicians and dairy owners for their implication and participation in this study.

Abbreviations:

CRT: Capillary refill time

cTnl: Cardiac troponin I

d7: day 7

d30: day 30

d60: d60

DCS: Downer cow syndrome

DIM: Days in milk

HR: Heart rate

LAC: L-lactatemia

LSM: Least squares means

MS: Musculokelettal

NO: Negative outcome

OR: Odds ratio

PO: Positive outcome

POC: Point of care

RR: Respiratory rate

Se: Sensitivity

SE: Standard error

SEM: Standard error means

Sp: Specificity

Abstract

Background: The downer cow syndrome (DCS) is a challenging health issue in the dairy industry. No cow-side test is available to provide an accurate prognosis of DCS cases in farm settings.

Hypothesis/Objectives: It was hypothesized that local and/or systemic hypoperfusion and myocardial lesions may lead to an increase in biomarkers such as cardiac troponin I (cTnI) and L-lactate. The objective was to determine the prognostic values of these biomarkers assessed cow-side in addition to clinical examination in regards of a negative outcome (NO: death or euthanasia).

Animals: 218 client-owned dairy cows affected by DCS.

Methods: In a prospective study, included animals were followed 60 days after inclusion. Blood cTnI and L-lactate were dosed on the day of inclusion. The prognostic accuracy of both biomarkers and physical examination parameters were estimated to predict NO. A mixed multivariable logistic regression model was used for data analysis.

Results: Prevalence of NO in this study was 63% on day 7. Hypertroponinemia greater than 0.7ng/mL had a sensitivity and specificity of 78.4% (95%CI: 67.3-87.1) and 54.1% (95%CI: 45.3-62.7%) for predicting NO. Blood L-lactate was not associated with the outcome. The multivariable model revealed that heart rate >100bpm (OR; 95%CI: 3.7 ; 1.3-10.2) and cTnI>0.7 ng/mL (OR ; 95%CI: 5.5 ; 2.1-14.6) were associated with the risk of NO.

Conclusions and Clinical Importance: Hypertroponinemia and tachycardia were associated with the prediction of survival in DCS cases. The use of cow-side blood cTnI concentrations and heart rate could help in rapidly identify cows in farm setting that would have poor chances of recovery and would benefit from a more aggressive therapy or euthanasia.

Key words: point of care, biomarker

The downer cow syndrome (DCS) is a common problem in North American dairy farms (1). There are many definitions of DCS, but it is commonly accepted as being an alert cow unable or unwilling to stand for 12 hours or more (2, 3). Other authors sometimes prefer to include all nonambulatory cattle (alert or non-alert) and unable to stand for any length of time without assistance (1, 4). DCS episode frequently begins within 24 hours of calving in dairy cows (5, 6). Highly productive cows and older cows are at greater risk of DCS (3, 7, 8). Clinical hypocalcemia, stillbirth and dystocia were all identified as risk factors for DCS in dairy cattle in the first 30 days following parturition (6).

Information on DCS occurrence and its prognosis in dairy farms are scant. According to a review by the National Agricultural Statistical Services data, 1.2% of US dairy cattle weighting over 227kg (500 lbs) were affected by an episode of decubitus of any length of time in 2004 (1). A total of 78.2% of dairy american farms surveyed by the National Animal Health Monitoring System had one or more DCS in 2004 (1). In one Israeli on-farm study of 262 downer dairy cows, 69% of cows died or were already slaughtered by the second day of recumbency. A survey aimed to Minnesota dairy farmers, which defined DCS as a cow in sternal recumbency for more than 24 h reported that 33% of the affected cows recovered, 23% were slaughtered, and 44% died (7). Since the condition appears to have a poor prognosis when managed in farms, concerns about animal welfare (9) arise quickly. Clinicians and producers need to take a rapid decision about the future of the animal,

which implies being more aggressive (ex.: balneotherapy or referral) or avoiding any other expenses and suffering in compromised animals (2, 9-12).

All recumbent cattle are susceptible to muscular pressure damage no matter what is the initial cause of decubitus (13). Experimental studies have suggested that significant pressure damages can occur in the compressed upper limb as soon as 6 hours after the initiation of decubitus (13). Muscular and nerve damages may therefore occur (14). Besides specific lesions associated with the primary cause of DCS, heart lesions have also been identified during necropsy in cows with unresponsive hypocalcemia (15) as well as in DCS with various diagnoses (16). Among prognosis indicators of DCS, creatinine kinase and aspartate aminotransferase (17) blood concentrations were shown to be useful for predicting chances of recovery (18). However, these laboratory tests cannot be performed cow-side and it may take up to 24 hours to obtain the results in private veterinary practice.

Presence of local and/or systemic hypoperfusion (13) and myocardial lesions (15, 16) in case of DCS could potentially lead to an increase in blood concentrations of markers of hypoperfusion, such as L-lactate (LAC) and cardiac biomarkers, such as cardiac troponin I (cTnI). The cTnI was shown to increase in some bovine extra-cardiac diseases, and the highest values were obtained with DCS cases (19). Dosage of LAC was already evaluated as a predictor of survival in cattle affected by various diseases (20-22) but has not been studied *per se* in DCS. Our hypothesis was that increased LAC and cTnI concentrations are associated with a negative outcome in DCS. Since cTnI and LAC blood concentrations can be determined

using validated cow-side portable units (23, 24), the objective of this study was to determine the value cTnl and LAC added to physical examination when predicting a negative outcome (NO) in dairy cows affected by DCS in farm settings.

Materials and Methods

Population

The study protocol was accepted by the Ethical Committee of Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal. A prospective cohort study was conducted between July 2011 and September 2013. Five dairy veterinary practices located in the province of Québec, Canada participated in data collection. A sample size of 200 cows was estimated considering mortality rates of 5% and 25%, in regards of the normolactatemia and hyperlactatemia groups (alpha level: 5%; beta level: 10%). A 10% loss was also anticipated at follow-up. The same estimation was used for cTnl as there was no data available. Therefore, a total of 220 dairy cows affected by DCS were enrolled based on the following inclusion criteria : (1) a downer cow on its second veterinary consultation that did not rise after a first calcium therapy or (2) a cow obviously down for another reason than hypocalcemia (eg: obvious musculoskeletal injury, acute mastitis or primiparous). The goal of this particular definition was to exclude any first presentation of a non-complicated milk fever from our final population, since this condition differs from DCS. Every included animal was examined using a standard examination form which included: breed, parity, days in milk (DIM), time spent down before inclusion in the study (hours), mental status, rectal temperature, heart rate (HR), respiratory rate, capillary refill

time, clinically estimated dehydration, rumen motility (over a 2 min period) and contraction strength (complete or incomplete), and feces quantity and quality. The clinician involved in each case was also asked for his/her initial diagnosis for the decubitus between the following: acute mastitis, metabolic problem, neurological or musculoskeletal problem, shock, unknown or other. Multiple diagnoses could be noted. Blood samples were collected from coccygeal or jugular vein. A red top blood collection^a tube was used to perform a complete chemistry panel. However, data from the chemistry panel was not studied as potential prognostic factors since it was out of the scope of the present study.

cTnl measurement

A blood sample collected in a lithium-heparin tube^b was used to quantify blood cTnl^c. Use of bovine whole blood with this analyzer has been previously validated (19, 25). This portable immunoassay analyzer uses a two-site ELISA monoclonal antibody (caprine, murine) directed toward human cTnl. A silicon chip is partly covered by electrochemical sensors with antibodies specific to cTnl. An antibody/alkaline phosphatase enzyme conjugate specific to a portion of cTnl is also present on the chip. Once whole blood is in contact with the cartridge, the enzyme conjugate dissolves. The cTnl is then labeled by alkaline phosphatase. This new molecular complex is caught on the electrochemical sensors. After an incubation period, the sample and excess enzyme conjugate are washed off the sensors. A substrate for alkaline phosphatase enzyme is present in the wash fluid. The substrate is cleaved by the bounding of the enzyme to an antibody-antigen-antibody sandwich. The resulting current is measured amperometrically and is directly

proportional to the cTnI concentration of the sample. The analyzer displays a result within 10 minutes. The range of values displayed varies from 0.00 to >50.0 ng/mL, but the analytical sensitivity of the test is 0.02 ng/mL. Values of 0.00 and 0.01 ng/mL will be displayed but are undistinguishable from 0.02 ng/mL. The cTnI samples were analyzed within 24 hours after blood sampling (26). Whole blood samples were stored at 4°C until analysis. Those samples were either analysed back at the clinic or analysed within 24 hours by a private clinical pathology laboratory offering daily pickup services. Only one clinic had access to a cTnI analyzer at its office due to its high cost. This procedure was based on a study showing that bovine cTnI concentrations can decrease after 48 hours of storage at 4°C (27).

LAC measurement

L-lactatemia was measured using a portable analyzer^d either cow-side on whole blood or immediately after return to the clinic on the same stored (4°C) lithium heparin blood collection tube used to measure cTnI. Cow-side tests were performed by a veterinary student (n=151, from one clinic). Tests performed on stored blood were realized by a veterinary technician or the involved clinician (n=69, from 4 clinics) (median, range: 60 minutes, 5- 900 minutes). The same portable test^d was used in both situations. Clinicians were both blinded to the result at the moment of the inclusion. This analyzer was found accurate and reliable using bovine blood when compared to a reference blood analyzer (24). During the 60-second sample analysis, the lactate first reacts with potassium ferricyanide and lactate oxidase present on the strip. The resulting molecules are pyruvate and potassium ferrocyanide. Under current voltage, oxidation of the last molecule will release

electrons, thus creating a current. The resulting current is then measured amperometrically and is directly proportional to the lactate concentration of the sample (28). Values showed range from 0.8 to 23.3 mmol/L, where “LO” represents values under 0.8 mmol/L and “HI” represents LAC over 23.3 mmol/L.

Outcome assessment

Every participating clinician treated DCS cases blinded from the research team results (without LAC and cTnI information) but had access to chemistry panel result. A phone call follow-up was performed with the producers 7, 30 and 60 days (d7, d30 and d60) after enrollment (JL) using a standard questionnaire. The main outcome of interest was the risk of dying, being euthanized or being culled during the follow-up period. The producers were asked if the cows were still present in the herd or not. If the cow had been culled or died (naturally or after euthanasia), they were asked for the date of the event. The outcome was considered positive (PO) if the animal was still in the herd and negative (NO) if the animal died, was euthanized, or had been culled. There was no additional call after a cow had been culled or had died. Since most of the NO happened within 7 days post-enrolment and that the research team wanted to minimise the effect of other causes of culling at 30 and 60 days, the analysis focused on the probability of NO 7 days after inclusion.

Statistical analysis

A commercial software was used to perform the statistical analyses^e. Descriptive statistics were performed to describe the enrolled population of cows. Descriptive statistics (median, 25th and 75th percentile) were obtained for each continuous variable (days in milk, lactation, time downed before inclusion, heart rate,

respiratory rate, temperature, LAC and cTnl) using PROC MEANS. Categorical data (mental status, breed, capillary refill time, dehydration, rumen contractions, strength of ruminal contractions, amount and quality of feces, causes of decubitus, repartition of cases by clinics, repartition of outcome by clinics) were described using frequency tables (PROC FREQ in SAS).

Univariable analysis

Continuous variables (cTnl, LAC and HR) were dichotomized using multiple cut-off values and 2 by 2 tables were obtained based on the outcomes of the cows (NO or PO). For each previous predictor, the cut-off value that offered the highest sum of sensitivity and specificity to predict NO was retained as the best cut-off value for to be included in the multivariable analysis. Other variables from the clinical data form were dichotomized using clinical judgement to perform a Chi-squared test based on the outcome of the cows 7 days after inclusion (PROC FREQ).

For statistical considerations, a LAC value of 0.7 mmol/L was given for samples with “LO” results, whereas a cTnl value of 51 ng/mL was given for samples with a “>50 ng/mL” results.

Multivariable analysis

All variables with a P-value of <0.2 in univariable analysis as well as cut-off blood values previously presented were retained and tested in a multivariable mixed logistic regression model (PROC GLIMMIX) accounting for farm clustering as a random effect. The multivariable modeling was performed using a backward elimination strategy; modeling was stopped when all the variables left presented a P-value < 0.05 . The least squares means were used to compare probability of NO

among animals with and without the identified risk factors controlling for other covariates. The area under the receiver operating characteristic curve (AUC) was calculated to evaluate the model accuracy (29, 30).

Results

A total of 218 DCS cases from 152 farms were enrolled in our study. The majority of cows were Holstein (n=199; 91 %). At enrollment, 58 % (n=123/211, missing data=7) of cows were between 0 to 7 DIM, 14% (30/211) were between 8 and 60 DIM, 20% (42/211) were > 60 DIM, and 8% (16/211) were dry cows. A quarter (53/199, missing data=19) of the animals were on their fifth lactation or more; 44% (88/199) were on their third or fourth lactation, and 29% (58/199) were on their first or second lactation. Average time spent down before inclusion was 24 hours (median: 15hrs; range: 1-168hrs). Almost 40% of DCS cases were listed as having at least a musculoskeletal problem (n=84/218); a third were suspected of an underlying metabolic problem (n=74); 17% of cases were suspected of having an underlying acute mastitis (n=37); shock clinical signs were observed in 4% of the cases (n=9) and unknown or other causes were mentioned in 20% of cases (n=44). Multiple diagnosis occurred in 16.7% (n=36) of cows. NO after inclusion was 62.4%, 71.6%, and 73.9% on d7,d30 and d60, respectively.

Descriptive statistics of continuous variables are listed in table 1. Dichotomized data and their univariable analysis are listed in table 2. Data retained for the multivariable analysis were: DIM, mental status, CRT, appearance of mucous membranes, presence of dehydration and presence of a unique musculoskeletal component. A

short summary of different cut-offs for cTnI (median: 0.39 ng/mL ; range: 0- >50 ng/mL), lactatemia (1.4 mmol/L ; <0.8- 15.6 mmol/L) and HR (91 BPM ; 32-160 BPM) is indicated in Table 3. Lactatemia was not associated with the probability of NO. The optimal cut-off value for cTnI and HR were 0.7 ng/mL and 100 BPM, respectively. A complete list of the different cut-off values tested for cTnI, LAC and HR is available online (Table 5).

Results of the mixed logistic regression model accounting for farm clustering are presented in Figure 1 and Table 4. The final multivariable model includes a positive association of tachycardia and increased cTnI with the probability of NO by d7. Proportions of NO with an HR \leq 100 BPM was 63% and 86% with an HR $>$ 100 BPM. Proportions of NO with cTnI \leq 0.7 ng/mL was 59% while cTnI over this threshold had a NO proportion of 89%. The model accuracy was considered good (26, 30) with an area under the curve of 0.88 (95%CI: 0.78- 0.98) (Figure 2).

Discussion

To the authors' knowledge, this is the first large study evaluating cTnI and LAC as predictors of NO in DCS in dairy cows within farm settings. Our study represents a large panel of different DCS etiologies that is representative of what is commonly seen by North American dairy clinicians. Our main results showed that the prognosis of DCS is reserved to poor in farm conditions. The high incidence of NO is not so surprising, considering our case definition of DCS. We included alert and non-alert cases, being aware to not include early hypocalcaemia cases. The

incidence is still representative of previously published data in regards of NO in DCS (7, 18, 31).

Cows affected by DCS with a cTnI concentration greater than 0.7 ng/mL were 5.5 times more at risk of NO in the week following inclusion than cows without increased blood cTnI concentration. A preliminary study on 50 referred cases of common production diseases who used the *i-STAT 1* to measure troponinemia had its highest cTnI concentration in DCS (n=8, median: 1.7 ng/mL ; range: 0.15-27.00 ng/mL) (19). Their DCS definition included alert and non-alert non-ambulatory cows with no response to electrolytes treatment, which could be extrapolated to our ambulatory DCS definition. A NO happened in seven cases of the DCS. Cardiac lesions (epicarditis, endocarditis and myocarditis) were also noted on two of the four DCS cases who underwent necropsy. Considering every diseases, the odds of having a NO in that study were over 6 times higher with a cTnI >0.5 ng/mL than cows with a cTnI <0.02 ng/mL. Our cTnI predictive value for NO is not as accurate as in this preliminary investigation. It would had be of interest to subdivide our DCS population according to their suspected causes of decubitus to see the variations of cTnI concentrations and prognosis accuracy within those groups.

Use of different cut-off values would be interesting for animals of great genetic value (higher cut-off, to be more specific) or commercial-type animals (lower cut-off, to be more sensitive). Doing so, clinicians would have yet another criterion to support more intensive treatments (increasing quality of the on-farm nursing or referral for balneotherapy) or to proceed to euthanasia earlier in the process of DCS. Treatments in flotation tank, when case are referred early and are carefully selected,

have a PO of 37 to 90% (2, 10, 32). This success rate is most of the time better than the PO reported in this study (PO=37.6%).

Interestingly, cows with a HR over 100 BPM were 3.7 times more at risk of NO than cows with lower HR. To the authors' knowledge, this is the first time a study shows that assessment of precise HR during the routine examination of DCS is an interesting predictor of NO. The fact that both cTnI concentration and HR are prognosis indicators aligns the importance of the cardiovascular system in the DCS condition. Increased cTnI concentration have been observed in human medicine with rhabdomyolysis, sepsis, hypotension/hypovolemia, renal failure, gastrointestinal bleeding, stress-induced cardiomyopathy (33, 34) and with induced endotoxemia in calves and horses (35, 36). All those conditions might be present at different extent in cows affected by DCS in regards to the primary cause of decubitus (ie acute mastitis or metritis), the duration of the condition, the environmental conditions and the animal itself. Previously listed causes are all potential explanations to the rise of cTnI concentration in DCS.

LAC was found to not be associated with NO of DCS in this study. One of the pitfalls of this study is the unique blood test that was ran at the time of inclusion. Even if some studies showed some predictive value of NO (22), most of investigations are doing repetitive measures over days (21, 37-39). On the other hand, the objective of the present work was to predict the outcome of DCS in field conditions, where economic factors will limit veterinary visits. LAC is a good indicator of hypoperfusion (40). In light of our results, effect of local/systemic hypoperfusion seems to be overestimated in regards of our total population of cows affected by

DCS. This biomarker might be more useful when dealing with cases where hypoperfusion is well documented as in acute mastitis (41, 42).

The DCS definition used in this study can be debated since many different DCS definitions already exist in the current literature and after all, the research team created his own definition (2, 9, 31, 43). Our goal doing so was to keep it as close as possible of what a private clinician will see in his daily practice while being sure to exclude simple milk fever in our final caseload. Some might point out the absence of definitions given to the clinicians to identify the possible underlying causes of the decubitus. It might explain partly why none of these underlying causes were part of our final statistical model. In the time, the identification of precise underlying conditions in DCS was out of the scope of this study. NO rate was not different between involved clinics (data not shown). It was impossible to calculate individual clinician effect since many clinicians (n=32) were involved in recruiting DCS cases for this study.

In conclusion, there was no association regarding LAC blood value between NO group and PO group in this population of cows affected by DCS. Troponinemia and HR are interesting survival predictors in farm settings when dealing with DCS cases.

Footnotes

^a BD Vacutainer Venous Blood Collection Tube, serum tube BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ.

^b BD Vacutainer Venous Blood Collection Tube, lithium heparin. BD Diagnostics, Franklin Lakes, NJ.

^c i-STAT analyzer, Abaxis, Union City, CA

^d Lactate-Pro, Arkray, Kyoto, Japan

^e SAS 9.2, SAS Institute inc. Cary, NC

References

1. Green AL, Lombard JE, Garber LP, Wagner BA, Hill GW. Factors associated with occurrence and recovery of nonambulatory dairy cows in the United States. *J Dairy Sci.* 2008;91(6):2275-83.
2. Burton AJ, Nydam DV, Ollivett TL, Divers TJ. Prognostic indicators for nonambulatory cattle treated by use of a flotation tank system in a referral hospital: 51 cases (1997-2008). *J Am Vet Med Assoc.* 2009;234(9):1177-82.
3. Smith BP, Angelos J, George LW. Down cows (Alert Downers). In: Mosby, editor. *Large animal internal medicine.* 3rd ed 2002. p. 1017-8.
4. Stark DA. A review of the veterinarian's role in the handling of down/disabled cattle. *Bovine Pract.* 1995;29:125-7.
5. Cox VS. Nonsystemic causes of the downer cow syndrome. *Vet Clin N Am-Food Anim Pract.* 1988;4(2):413-33.
6. Correa MT, Erb HN, Scarlett JM. Risk-factors for downer cow syndrome *J Dairy Sci.* 1993;76(11):3460-3.
7. Cox VS, Marsh WE, Steuernagel GR, Fletcher TF, Onapito JS. Downer cow occurrence in Minnesota dairy herds. *Prev Vet Med.* 1986;4(3):249-60.
8. Fenwick DC. The downer cow. *Aust Vet J.* 1969;45(4):184-8.
9. Stull CL, Payne MA, Berry SL, Reynolds J. A review of the causes, prevention, and welfare of nonambulatory cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;231(2):227-33.
10. Stojkov J, Weary DM, von Keyserlingk MA. Nonambulatory cows: Duration of recumbency and quality of nursing care affect outcome of flotation therapy. *J Dairy Sci.* 2016;99(3):2076-85.
11. Reynolds J, editor *Dealing with Downers.* Annual convention of the American Association of Bovine Partitioners; 2006; Fort Worth, TX.

12. Andrews AH, Blowey RW. Lameness above the foot. In: Andrews AH, editor. *Bovine medicine : diseases and husbandry of cattle*. 3rd ed: Blackwell Science; 2004. p. 439-1.
13. Cox VS, McGrath CJ, Jorgensen SE. The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am J Vet Res*. 1982;43(1):26-31.
14. Cox VS. Nonsystemic causes of the downer cow syndrome. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1988;4(2):413-33.
15. Yamagishi N, Okada H, Koiwa M, Kudo K, Matsuo N, Naito Y. Peripartum heart disease in cows. *J Comp Physiol*. 1995;113(4):373-82.
16. Jonsson G, Pehrson B. Studies on the downer syndrome in dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed A*. 1969;16(9):757-84.
17. Wilkins PA, Sheahan BJ, Vander Werf KA, Castagnetti C, Hardy J, Schoster A, et al. Preliminary Investigation of the Area Under the L-Lactate Concentration-Time Curve (LAC[AREA]) in Critically Ill Equine Neonates. *J Vet Intern Med*. 2015;29(2):659-62.
18. Shpigel NY, Avidar Y, Bogin E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet Rec*. 2003;152(25):773-6.
19. Varga A, Angelos JA, Graham TW, Chigerwe M. Preliminary investigation of cardiac troponin I concentration in cows with common production diseases. *J Vet Intern Med*. 2013;27(6):1613-21.
20. Figueiredo MD, Nydam DV, Perkins GA, Mitchell HM, Divers TJ. Prognostic value of plasma L-lactate concentration measured cow-side with a portable clinical analyzer in Holstein dairy cattle with abomasal disorders. *J Vet Intern Med*. 2006;20(6):1463-70.

21. Coghe J, Uystepuyst C, Bureau F, Detilleux J, Art T, Lekeux P. Validation and prognostic value of plasma lactate measurement in bovine respiratory disease. *Vet J.* 2000;160(2):139-46.
22. Boulay G, Francoz D, Dore E, Dufour S, Veillette M, Badillo M, et al. Preoperative cow-side lactatemia measurement predicts negative outcome in Holstein dairy cattle with right abomasal disorders. *J Dairy Sci.* 2014;97(1):212-21.
23. Labonte J, Roy JP, Dubuc J, Buczinski S. Measurement of cardiac troponin I in healthy lactating dairy cows using a point of care analyzer (i-STAT-1). *J Vet Cardiol.* 2015;17(2):129-33.
24. Buczinski S, Dore E, Boulay G, Francoz D. Validation of the handheld Lactate-Pro analyzer for measurement of blood L-lactate concentration in cattle. *Vet Clin Pathol.* 2014;43(4):567-72.
25. Fraser BC, Anderson DE, White BJ, Miesner MD, Wheeler C, Amrine D, et al. Assessment of a commercially available point-of-care assay for the measurement of bovine cardiac troponin I concentration. *Am J Vet Res.* 2013;74(6):870-3.
26. 715595-01: Cardiac troponin I (cTnI) IL: Abbott Point of Care Inc.; [updated 2013-08-01; cited 2016 2016-04-01 . Available from: <https://www.abbottpointofcare.com/support/technical-documentation/cartridge-test-information-sheets>.
27. Varga A, Schober KE, Walker WL, Lakritz J, Rings DM. Validation of a commercially available immunoassay for the measurement of bovine cardiac troponin I. *J Vet Intern Med.* 2009;23(2):359-65.
28. Tanner RK, Fuller KL, Ross ML. Evaluation of three portable blood lactate analysers: Lactate Pro, Lactate Scout and Lactate Plus. *Eur J Appl Physiol.* 2010;109(3):551-9.

29. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. Screening and diagnostic tests. *Veterinary Epidemiologic Research*. 2nd ed. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada: VER Inc ; 2009. p. 91-134.
30. Greiner M, Pfeiffer D, Smith RD. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev Vet Med*. 2000;45(1–2):23-41.
31. Andrews T. The 'downer cow'. *In Pract*. 1986;8(5):187-9.
32. Smith BP, Angelos JA, George LW, Fecteau G, Angelos S, VanMetre D, et al., editors. Down cows: causes and treatments. Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners; 1997; Montreal, Qc, CAN: AABP.
33. Wells SM, Sleeper M. Cardiac troponins. *J Vet Emerg Crit Care*. 2008;18(3):235-45.
34. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. *Clin Chem Lab Med*. 2009;55(12):2098-112.
35. Peek SF, Apple FS, Murakami MA, Crump PM, Semrad SD. Cardiac isoenzymes in healthy Holstein calves and calves with experimentally induced endotoxemia. *Can J Vet Res*. 2008;72(4):356-61.
36. Nostell K, Brojer J, Hoglund K, Edner A, Haggstrom J. Cardiac troponin I and the occurrence of cardiac arrhythmias in horses with experimentally induced endotoxaemia. *Vet J*. 2012;192(2):171-5.
37. Hashimoto-Hill S, Magdesian KG, Kass PH. Serial measurement of lactate concentration in horses with acute colitis. *J Vet Intern Med*. 2011;25(6):1414-9.

38. Holahan ML, Brown AJ, Drobatz KJ. The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003-2006). *J Vet Emerg Crit Care.* 2010;20(4):413-20.
39. Radcliffe RM, Divers TJ, Fletcher DJ, Mohammed H, Kraus MS. Evaluation of L-lactate and cardiac troponin I in horses undergoing emergency abdominal surgery. *J Vet Emerg Crit Care.* 2012;22(3):313-9.
40. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;43(5):270-9.
41. Green MJ, Cripps PJ, Green LE. Prognostic indicators for toxic mastitis in dairy cows. *Vet Rec.* 1998;143(5):127-30.
42. Bleul U, Sacher K, Corti S, Braun U. Clinical findings in 56 cows with toxic mastitis. *Vet Rec.* 2006;159(20):677-9.
43. Cox VS. An update on the downer cow syndrome. *Bovine Pract.* 1986;21:195-9.

Table 1. Descriptive statistics of main variables of interest collected in 218 cases of downer cow syndrome on the day of inclusion.

Variables	NO cows (n=136)		PO cows (n=80)	
	Median (25 th -75 th) ¹	n	Median (25 th -75 th)	n
Rectal temperature (°C)	38.5 (38.0-38.9)	135	38.6 (38.3-38.9)	80
Respiratory rate	36 (28-44)	131	38 (24-39)	76
Heart rate	96 (80-112)	134	88 (80-100)	78
Time down (h)	16 (8-27)	130	12 (2-36)	77
DIM	3 (1-21)	122	4 (2-62)	71
Parity	3 (2-5)	123	3 (2-4)	74
cTnI (ng/ml)	0.80 (0.14- 4.87)	135	0.16 (0.03- 0.58)	74
LAC (mmol/L)	1.4 (1.0-2.8)	135	1.3 (0.9-2.3)	78

DCS, downer cow syndrome; NO, negative outcome; PO, positive outcome ; DIM, days in milk; cTnI, cardiac troponins I ; LAC, L-lactate.

¹ Results listed as median (25th- 75th percentile values)

Table 2: Univariable analysis on clinical informations obtained about 218 cows affected by downer cow syndrome.

Variables	Class	NO cows (n)	PO cows (n)	P
DIM	dry-7 DIM	94	44	0.06*
	>7 DIM	39	32	
Parity	≤2 lactation	34	24	0.45
	>2 lactation	90	50	
Time down	≤ 24 h	96	55	0.78
	> 24 h	40	25	
Mental status	Alert	38	39	0.004*
	Depressed	89	39	
Temperature	≤ 39.2°C	116	69	0.95
	>39.2°C	19	11	
Respiratory rate	≤ 36 RPM	67	37	0.7
	> 36 RPM	64	39	

CRT				
	<2 sec	116	75	0.07*
	≥2 sec	17	4	
Dehydration				
	< 5 %	53	40	0.11*
	≥ 5 %	83	40	
Rumen motility				
	0-1 contraction per 2 min.	91	47	0.18*
	≥2 contractions per 2 min	36	28	
Rumen contraction				
	Complete	38	30	0.34
	Incomplete	41	23	
Mucous membrane				
	Normal	93	65	0.05*
	Abnormal	37	13	
Causes				
Unique MS problem	Yes	40	14	0.05*
	No	94	65	
Unique acute mastitis problem	Yes	17	15	0.21
	No	117	64	

Unique metabolic problem	Yes	25	18	0.48
	No	110	62	

NO, negative outcome; PO, positive outcome ; DIM, days in milk; CRT, capillary refill time; MS, musculoskeletal.

* Variables retained for the multivariable logistic regression where $P < 0.2$.

Table 3: Optimal cut-offs for lactate, cardiac troponins I and heart rate based on the maximal sum of sensitivity and specificity to predict early elimination of cows affected by downer cow syndrome.

Variables	Cut-off value	Cows above			
		selected Cut-off (%)	Se (%)	Sp (%)	P-value
LAC (mmol/L)	>4 vs ≤4	17.6	18	92	0.4
cTnI (ng/ml)	>0.7 vs ≤0.7	42.6	54	78	<0.01*
Heart rate	>100 vs ≤100	27.7	35	85	<0.01*

LAC, L-lactatemia ; cTnI, cardiac troponins I ; HR, heart rate; Se, sensitivity ; Sp, specificity.

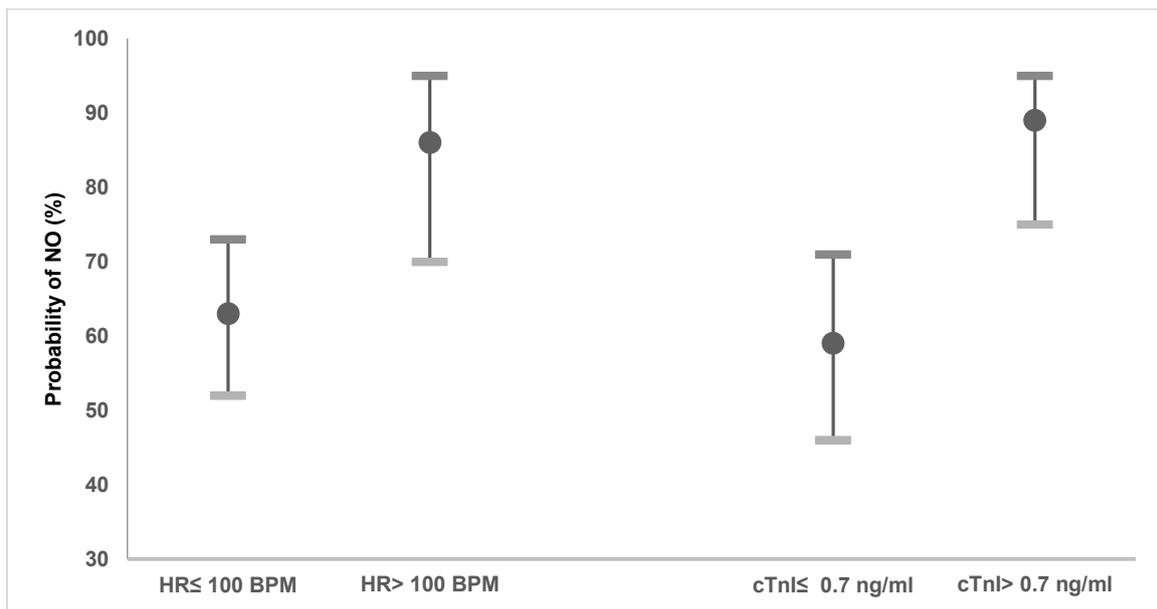
* Variables retained for the multivariable logistic regression with P<0.2

Table 4: Final model predicting the probability of negative outcome 7 days after the initial diagnosis of downer cow syndrome.

Model	Variable	Coefficient	SE	OR	95 % CI	P
	Intercept	-0.33	0.27			
	cTnl ≤ 0.7 ng/ml	referent				
	cTni >0.7 ng/ml	1.71	0.49	5.53	2.10-14.60	<0.001
	HR ≤ 100	referent				
	HR > 100	1.3	0.51	3.65	1.32-10.15	0.014

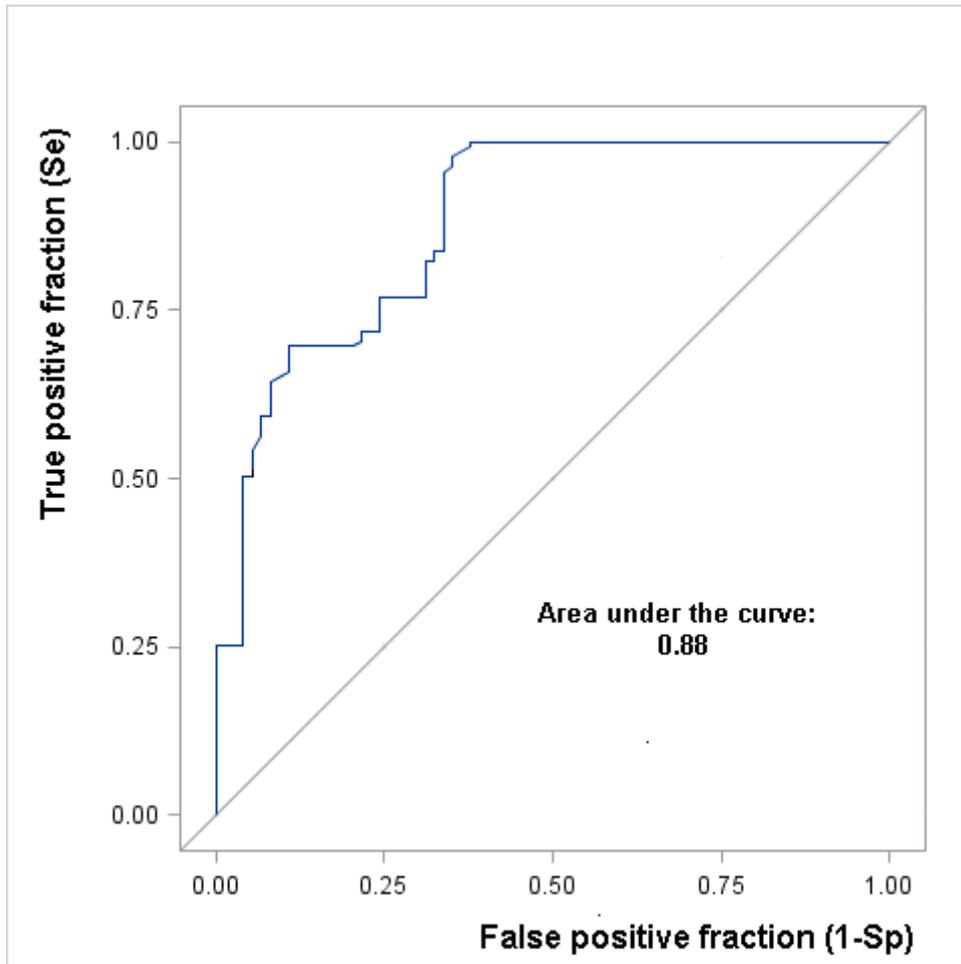
SE, standard error ; OR, odds ratio ; 95 % CI, 95 % confidence interval ; LSM, least square means.

Figure 1: Probability of negative outcome on cows affected by DCS 7 days after initial diagnosis and its associated 95% confidence intervals defined by the least square means according to the final logistic model accounting for herd random effect.



Least square means are represented by dots and the 95% confidence intervals, by vertical bars. NO, negative outcome; DCS, downer cow syndrome; d7, 7 days after inclusion; HR, heart rate; cTnI, cardiac troponins I.

Figure 2: Accuracy of the final logistic model to predict negative outcome of cows affected by downer cow syndrome by a receiving operating curve taking into account clustering of observations by herd.



Se, sensitivity; Sp, specificity.

Table 5: Web supplement: Characteristics of different cut offs values for heart rate, lactate and cardiac troponin I blood values in respect of the negative outcome in cows affected by downer cow syndrome.

Cut off values	n	NO (%)	P	Se (95 % CI)	Sp (95 % CI)	PPV (95%CI)	NPV (95 % CI)
<u>HR (BPM)</u>	216	63.0					
≤ 80 vs >80			0.09	71.3 (63.2-78.3)	40.0 (30.0-51.0)	66.9 (59.2- 74.6)	45.1 (33.5-56.6)
≤ 88 vs >88			0.11	61.0 (52.6-68.8)	50.0 (39.3-60.7)	67.5 (59.2-75.8)	43.0 (32.9- 53.1)
≤ 100 vs >100			<0.001	35.3 (27.8-43.7)	85.0 (75.4-91.3)	80.0 (69.9-90.1)	43.6 (35.8-51.4)
<u>cTnl (ng/mL)</u>	209	64.6					
≤ 0.05 vs >0.05			0.006	85.9 (78.9-90.8)	29.7 (20.5-41.0)	69.0 (62.1-76.0)	53.7 (38.4-68.9)
≤ 0.2 vs >0.2			<0.001	68.9 (60.6- 76.1)	55.4 (44.1- 66.2)	73.8 (66.1-81.5)	49.4 (38.6-60.2)
≤ 0.4 vs > 0.4			<0.001	59.3 (50.8-67.2)	70.3 (59.0- 79.5)	78.4 (70.4-86.4)	48.6 (39.1-58.1)
≤ 0.6 vs >0.6			<0.001	54.8 (46.4- 63.0)	75.7 (64.7- 84.0)	80.4 (72.3- 88.5)	47.9 (38.3-56.9)
≤ 0.7 vs >0.7			<0.001	54.1 (45.7- 62.2)	78.4 (67.6- 86.3)	82.0 (74.0-90.0)	48.3 (39.4- 57.3)
≤ 0.8 vs >0.8			<0.001	49.6 (41.3-58.0)	79.7 (69.0-87.4)	81.7 (73.3- 90.1)	46.5 (37.8-55.1)

Cut off values	n	NO (%)	P	Se (95 % CI)	Sp (95 % CI)	PPV (95%CI)	NPV (95 % CI)
≤ 0.9 vs >0.9			<0.001	48.1 (39.9- 56.5)	82.4 (72.0- 89.5)	83.3 (75.1- 91.6)	46.6 (38.0-55.1)
≤ 1.0 vs >1.0			<0.001	46.7 (38.5- 55.1)	83.8 (73.5- 90.6)	84.0 (75.7- 92.3)	46.3 (37.8- 54.7)
≤ 5.0 vs >5.0			<0.001	24.4 (18.0-32.4)	95.9 (88.2- 99.0)	91.7 (82.6-100)	41.0 (33.7-48.4)
≤ 10.0 vs >10.0			<0.001	16.3 (11.0-23.5)	100 (93.9-100)	100 (100-100)	39.6 (32.6-46.6)
<u>LAC (mmol/L)</u>	216	63.0					
≤ 0.8 vs >0.8			0.8	78.7 (71.0- 84.7)	21.3 (13.8-31.1)	61.5 (54.3- 68.7)	38.3 (24.4- 52.2)
≤ 1.0 vs >1.0			0.4	69.1 (60.9- 76.3)	36.3 (26.6- 47.2)	64.8 (57.1- 72.6)	40.8 (29.4- 52.3)
≤ 1.5 vs >1.5			1.0	47.1 (38.9- 55.4)	52.5 (41.7- 63.1)	62.7 (53.4- 72.1)	36.8 (28.0- 45.7)
≤ 2.0 vs >2.0			0.5	35.3 (27.8- 43.7)	68.8 (57.9- 77.8)	65.8 (54.9- 76.6)	38.5 (30.5- 41.4)
≤ 2.5 vs 2.5			0.7	28.7 (21.7- 36.8)	73.8 (63.1- 82.2)	65.0 (52.9-77.1)	37.8 (30.2-45.4)
≤ 3.0 vs >3.0			0.9	23.5 (17.2- 31.0)	77.5 (67.1- 85.3)	64.0 (50.7-77.3)	37.3 (30.0- 44.7)
≤ 3.5 vs >3.5			0.8	21.3 (15.3- 29.0)	80.0 (69.8-87.3)	64.4 (50.5-78.4)	37.4 (30.2 -44.7)
≤ 4.0 vs >4.0			0.4	19.1 (13.4- 26.6)	85.0 (75.4- 91.3)	68.4 (53.6- 83.2)	38.2 (31.1-45.3)

Cut off values	n	NO (%)	P	Se (95 % CI)	Sp (95 % CI)	PPV (95%CI)	NPV (95 % CI)
≤ 5.0 vs >5.0			0.5	14.7 (9.7- 21.7)	88.8 (79.7- 94.1)	69.0 (52.1- 85.8)	38.0 (31.0-44.9)
≤ 6.0 vs >6.0			0.7	10.3 (6.2- 16.7)	91.3 (82.7- 95.9)	66.7 (46.5- 86.8)	37.4 (30.6-44.2)
≤ 7.0 vs >7.0			0.8	6.6 (3.4- 12.3)	92.5 (84.2- 96.8)	60.0 (35.2- 84.8)	36.8 (30.1- 43.5)
≤ 8.0 vs >8.0			0.9	5.9 (2.9-11.4)	93.8 (85.8-97.6)	61.5 (35.1-88.0)	36.9 (30.3- 43.6)

LAC, l-lactatemia ; cTnI, cardiac troponins I ; HR, heart rate; n, number of animals; NO: negative outcome; Se, sensibility; Sp, specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

CHAPITRE 3 : Autres résultats

Puisque l'élimination des vaches atteintes de SVT est rapide (tableau VIII), nous avons concentré nos analyses statistiques selon l'issue à d7. Près de trois vaches sur quatre ayant subi une NO à d7 étaient euthanasiées (n=98/135) et un quart ont été retrouvées mortes (n=33/135). Seulement cinq vaches ont pris le chemin de l'abattoir. Au moment du suivi à d7, 26% de nos PO étaient toujours en décubitus (n=21/80). Un peu plus de la moitié de ces vaches n'étaient plus présentes à d30 (n=11/21) et à d60 (n=12/21).

Tableau VIII. Présence ou élimination (mort ou réforme) des vaches incluses au moment des suivis téléphoniques

Suivi téléphonique	Vaches éliminées (n)	Vaches présentes (n)	Non déterminé	Pourcentage de vaches absentes du troupeau (%)
D7	136	80	2	62.4
D30	156	59	3	71.6
D60	161	53	4	73.9

D7, 30 et 60 : jour 7, 30 et 60 après le moment de l'inclusion

Le pourcentage d'issue négative par clinique où plus de 5 cas ont été inclus était somme toute similaire (clinique A: n=151, NO: 78 % ; clinique B: 28, 63 % ; clinique C: 28, 79 % ; clinique D : 7, 67 % ; clinique E: 4, 25 %). Seulement huit vaches ont été référées en centre hospitalier vétérinaire. L'issue était négative pour 38% de ces cas (n=3/8) à d7 et 50% de ces cas à d30 (n=4/8). Près du trois quart des fermes participantes n'ont inclus qu'un seul animal (n=101/149, tableau IX).

Tableau IX. Dispersion par ferme des 218 vaches atteintes de syndrome vache à terre incluses dans l'étude.

Nombre de cas inclus pour une même ferme	Nombre de fermes
1	101
2	31
3	14
4	2
5	1

Nous avons amassé 90 prédictions sur le pronostic lors de l'inclusion dans l'étude afin de réaliser un test de concordance (tableau X). En ajoutant les prédictions indécises aux prédictions du groupe à l'issue négative ou encore positive, la valeur de *kappa* obtenue (entre 0.025 et 0.153) nous montre qu'il y a une concordance très faible ($k < 0.2$) (137) entre le pronostic du vétérinaire et l'issue réelle du cas.

Tableau X. Agrément entre les impressions cliniques des médecins vétérinaires et l'issue réelle à d7 de 90 vaches atteintes de syndrome vache à terre.

Survie	Impression Clinique de la rémission de l'animal		
	Mauvaise	Bonne	Indécise
Issue Négative	5	28	22
Issue Positive	10	14	11

La troponinémie du groupe NO (médiane; minimum-maximum : 0.8ng/mL; 0.00- >50.00 ng/mL) était significativement différente du groupe PO (0.18 ng/ml;

0.00- 9.62 ng/mL) ($P < 0.001$). L'aire sous la courbe ROC pour la cTnl était de 0.693 (IC95% : 0.626-0.755). La l-lactatémie n'était par contre pas différente entre les vaches éliminées à d7 (1.4 mmol/L; <0.8-10.7 mmol/L) et celles toujours présentes dans le troupeau (1.3 mmol/L; <0.8-15.6 mmol/L) ($P=0.33$). La fréquence cardiaque était significativement plus élevée chez les NO (96 BPM; 32-160 BPM) que chez les PO (88 BPM; 52-140 BPM) ($P=0.005$).

Un survol des données de CK et d'AST a été effectué. Un coefficient de corrélation élevé a été mis en évidence ($r=0.922$). L'index Youden de la CK était de >15 000 UI/L ($P < 0.001$). En utilisant ce seuil, la sensibilité et la spécificité (IC95%) pour prédire une NO était de 31.0% (23-39%) et de 92.2% (84-96%).

Les tableaux XI et XII ont été construits à partir des seuils optimaux de cTnl, de FC et de CK identifiés à l'aide de l'index Youden. Ils visaient à rendre pratique et facilement utilisables nos principaux résultats concluants.

Tableau XI. Probabilité d'issue négative (mort, euthanasie, réforme) selon la fréquence cardiaque et la valeur sérique des troponines cardiaque I dans une cohorte de 218 vaches atteintes de syndrome vache à terre.¹

	Fréquence cardiaque (BPM)		Total
	≤100	>100	
cTnl (ng/mL)			
≤0.7	44.3	71.9	51.7
>0.7	78.7	89.3	82.0
Total	58.4	80	

¹ Les résultats sont présentés comme une probabilité d'issue négative (%).

Tableau XII. Probabilité d'issue négative (mort, euthanasie, réforme) selon la fréquence cardiaque et la valeur sérique de créatine kinase dans une cohorte de 218 vaches atteintes de syndrome vache à terre.¹

	Fréquence cardiaque (BPM)		Total
	≤100	>100	
CK (UI/L)			
≤15 000	50.8	72.7	56.7
>15 000	81.8	100	87.2
Total	57.5	79.3	

CK : Créatine kinase.

¹ Les résultats sont présentés comme une probabilité d'issue négative (%).

CHAPITRE 4: Discussion générale

4.1 Définition de cas

Pour être inclus dans cette étude, les animaux devaient en être à leur deuxième visite vétérinaire pour décubitus ou être en décubitus pour une raison qui n'était manifestement pas l'hypocalcémie (taure, trauma, endotoxémie). Cette définition de cas de SVT est novatrice quand nous la comparons à la littérature (10, 29, 31, 40) et certains peuvent mettre cette décision en doute. L'identification du moment où l'état non ambulatoire a débuté est souvent subjective. De plus, lorsqu'une seconde visite vétérinaire est demandée, celle-ci a fréquemment lieu dans les 12 heures suivant la première visite. Le seuil de 12 ou 24 heures devient arbitraire en pratique ambulatoire. En proposant cette définition de cas, nous voulions donc être aussi près que possible de la réalité des médecins vétérinaires de première ligne lors de la gestion des cas de SVT à la ferme.

Par ailleurs, le dosage de la calcémie n'est pas fait de routine sur les cas de VAT, car il n'est pas habituellement disponible à la ferme (17). En n'incluant les animaux suspectés d'hypocalcémie qu'à leur seconde visite vétérinaire, nous voulions nous assurer d'éviter d'inclure des animaux en fièvre vitulaire sans autre complication. Ces cas auraient alors biaisé à la baisse notre prévalence de NO puisque les vaches en décubitus souffrant d'hypocalcémies simples ont un meilleur pronostic que les SVT (14, 25).

4.2 Impression clinique

Le but de ce projet était de mettre à la disposition du clinicien des outils objectifs permettant d'établir un pronostic plus juste lors de la visite d'un cas de SVT. Nous avons ainsi parallèlement demandé aux médecins vétérinaires d'émettre un pronostic pour chaque cas qu'ils ont inclus dans cette étude. De cette façon, nous avons l'opinion du vétérinaire sur l'évolution de ce SVT dans le type de ferme

où il se trouvait d'après son expérience clinique à l'inclusion de l'animal. L'issue notée pouvait être bonne, mauvaise ou indécise. Un test de concordance (137) a été fait pour évaluer l'accord entre les pronostics émis et l'issue réelle de l'animal à d7. Vu le faible agrément, il est donc nécessaire de trouver et de proposer des tests complémentaires objectifs réalisables à la ferme pouvant nous aider à émettre un pronostic plus juste. Par ailleurs, cet accord faible entre le pronostic émis à d0 et l'issue réelle à d7 nous souligne aussi à quel point les cas de SVT évoluent au fil des jours. L'inclusion d'une réévaluation des cas par les médecins vétérinaires dans cette étude aurait pu nous informer sur l'évolution des pronostics émis. Ces prédictions dépendent de toutes les informations colligées sur le cas, mais aussi des caractéristiques de la ferme influençant la qualité des soins apportés aux animaux en décubitus (36).

4.3 Valeur pronostique de la lactatémie

La LAC n'a pas été associée au pronostic lors de SVT dans cette étude. La présente étude s'est déroulée simultanément à une autre où les valeurs pronostiques de la LAC et de la troponinémie étaient évaluées chez les vaches en mammite aiguë. Le calcul du nombre de cas nécessaires à celle-ci a été fait en émettant l'hypothèse que 5 % des LAC basses et 25 % des LAC élevées auraient une NO (124) et en anticipant une perte au suivi de 10 %. Le même nombre d'animaux a été conservé pour la présente étude. Or, le pourcentage de NO à d7 a été de 62.4 % chez notre population totale de SVT. Bien que notre étude comporte un grand nombre de cas de SVT par rapport à d'autres études, ce nombre était insuffisant pour dichotomiser les causes de décubitus suspectées par les médecins vétérinaires et ainsi permettre de détecter une différence entre nos sous-groupes. Une taille d'échantillon plus grande aurait pu nous donner la puissance nécessaire pour détecter une différence parmi les éventuels sous-groupes.

L'hyperlactatémie a entre autres été associée à des conditions de choc septique et d'endotoxémie chez d'autres espèces (103). Ce biomarqueur serait

peut-être un indicateur pronostique intéressant lors de mammite aiguë, condition pathologique où la présence d'hypoperfusion est documentée (138, 139). Par contre, cette étude ne comportait pas un nombre suffisant de cas de SVT en mammite aiguë pour en tirer des conclusions.

L'intérêt pronostique de mesures répétées de la LAC a été rapporté autant en médecine équine qu'en médecine humaine (83, 103, 109, 132, 140). Cette façon de faire s'applique bien à une étude en conditions hospitalières. Par contre, notre objectif était d'évaluer la valeur pronostique de nos biomarqueurs en conditions de pratique ambulatoire, soit en présence d'un nombre limité de visites à la ferme pour un cas donné. Nous avons ainsi jugé qu'il n'était pas réaliste d'inclure des visites subséquentes pour évaluer cette cinétique de la LAC. En outre, une des retombées secondaires souhaitées de notre étude était de prendre une décision rapide lors de la première visite pour SVT.

Avant le début de cette étude, les cliniciens de la clinique ambulatoire de la Faculté de médecine vétérinaire possédaient chacun un appareil Lactate Pro (n=151/218 ; 69.2 %). Pour des raisons économiques, un seul analyseur à lactate par clinique a été fourni pour les autres cliniciens participants. La LAC peut être influencée par le délai d'analyse et la méthode de conservation de l'échantillon. Une fois la prise de sang effectuée, les globules rouges continueront à métaboliser 90 % de leur glucose par la voie anaérobie (103, 109), augmentant ainsi la LAC de l'échantillon à un taux de 20 % par heure pour un échantillon conservé à 25°C (110). Il a par contre été démontré que la LAC n'était pas significativement augmentée lorsqu'un échantillon sur tube d'héparine de lithium était entreposé durant quatre heures à la température de la pièce ou à 5°C (141). La présence de seulement cinq cas où un délai supérieur à ce seuil a été noté nous amène à conclure que nos résultats n'ont pas été significativement influencés par ce délai d'analyse et qu'ils sont tout de même représentatifs d'un dosage de la LAC réalisé à la ferme.

3.4 Valeur pronostique de la troponinémie

Cette étude a permis de déterminer que la troponinémie est un bon indicateur pronostique lors de la gestion de cas de SVT à la ferme. Un seuil de >0.7 ng/mL permettait d'optimiser la sensibilité et la spécificité de ce test pour cette condition médicale. Il serait possible de faire varier ce seuil en fonction de l'animal qui nous est présenté et donc de la valeur relative des faux positifs et des faux négatifs. Ainsi, ce seuil pourrait être augmenté pour les éleveurs ayant un animal de haute valeur génétique pour limiter les faux positifs (pronostic faussement mauvais). D'un autre côté, les propriétaires de troupeaux plus commerciaux voudront réduire le nombre de cas où du temps et de l'argent seront investis pour tenter de soigner un animal qui ne se relèvera pas (faux négatifs). Le seuil pourrait à ce moment être diminué.

Pour des raisons économiques, une seule clinique disposait de l'appareil i-STAT 1 dans ses locaux. Les autres cliniques participantes devaient envoyer leur échantillon sanguin réfrigéré à un laboratoire commercial commun disposant du deuxième i-STAT 1. Dans les deux cas, l'analyse de la cTnI était réalisée dans les 24 heures suivant la prise de sang. Comme la troponinémie a été démontrée stable lorsque l'échantillon était réfrigéré à 4°C pour une période de 48 heures, nous pouvons affirmer que nos résultats sont tout de même applicables à une analyse réalisée à la ferme (75, 78).

Dans le contexte d'une pratique ambulatoire, un résultat d'hypertroponinémie lors de SVT permettra au médecin vétérinaire d'aborder plus rapidement avec le propriétaire les coûts de traitement, la qualité de soins et le temps à investir pour optimiser le taux de guérison. Il reviendra au producteur d'évaluer à chaque fois s'il est motivé à poursuivre la démarche thérapeutique. Dans certaines situations, l'euthanasie pourrait être la seule option.

4.5 Valeur pronostique de la fréquence cardiaque

La présente étude nous a permis de définir qu'une fréquence cardiaque supérieure à 100 BPM au moment de l'examen clinique de l'animal est un indicateur pronostique utile chez les cas de SVT en contexte ambulatoire. C'est une trouvaille des plus intéressantes puisque la prise de la fréquence cardiaque fait partie d'un examen physique régulier et n'engendre aucun coût relié à un test complémentaire. Pour certains, cette étape peut devenir superflue ou qualitative au moment de l'évaluation de cas de SVT. Par contre, notre étude montre clairement qu'une prise systématique et précise de la fréquence cardiaque est utile lors de l'émission rapide d'un pronostic et va dans le sens des observations de Curtis *et coll* (1970), qui affirmait que la fréquence cardiaque des SVT terminaux augmentait (33).

4.6 Importance du système cardio-vasculaire lors de syndrome vache à terre

L'analyse univariable de nos données d'examen clinique a permis d'identifier plusieurs différences significatives entre les groupes NO et PO. La présence de déshydratation ainsi qu'un temps de remplissage capillaire, une fréquence cardiaque et une troponinémie sanguine augmentés (section 2.2, Tableaux 2 et 3) sont tous des tests qui nous indiquent que la fonction cardio-vasculaire de la vache est compromise. L'importance des effets secondaires du syndrome d'écrasement sur le système circulatoire est bien décrite chez l'homme (45-47). La présence de ces variables au départ dans notre modèle multivariable semble mettre de l'avant l'importance de ce système dans la pathophysiologie du SVT.

4.7 Analyse biochimique

En présence d'un SVT, les valeurs de CK et d'AST sont couramment utilisés par les médecins vétérinaires pour émettre un pronostic. Bien que les résultats de ces tests ne fussent pas à priori destinés à l'analyse par cette étude, un second modèle de régression logistique multivariable a été créé en y incluant la variable CK. Puisque la corrélation entre l'AST et la CK était bonne ($r=0.922$), il était pertinent d'inclure qu'une seule de ces variables. Ainsi, les vaches en SVT ayant une CK au-dessus de 15 000 UI/L et une troponinémie supérieure à 0.7ng/L ont 95% des chances d'être sorties du troupeau dans les 7 jours suivants. Ce seuil optimal à 15 000 UI/L pour prédire une issue négative est similaire à ce qui est déjà rapporté (12, 15). L'interprétation en parallèle des valeurs sériques de CK et de troponinémie est donc intéressante en contexte ambulatoire, advenant le cas où un éleveur désirerait tout de même attendre les résultats de l'analyse biochimique pour prendre une décision finale.

Une des grandes forces de cette étude était que les médecins vétérinaires ne connaissaient pas les résultats de LAC et de cTnI au moment de la visite d'inclusion. Ces valeurs n'ont donc pas pu influencer la façon habituelle de gérer les cas de SVT propre à chaque vétérinaire, éliminant ainsi le biais de révision diagnostique. Par contre, ils avaient accès aux résultats de l'analyse biochimique, dont les valeurs de CK et d'AST. Les médecins vétérinaires québécois utilisent fréquemment ces tests complémentaires lors de cas de SVT, chacun ayant ses seuils critiques. En fournissant l'analyse biochimique aux médecins vétérinaires, nous désirions ne pas modifier leur façon habituelle de gérer les cas de SVT, entre autres leur processus menant à l'émission d'un pronostic.

4.8 Retour sur le protocole

Une trentaine de médecins vétérinaires ont participé au recrutement des cas de SVT à travers deux régions du Québec. L'expérience clinique entre ces

médecins vétérinaires était hétérogène, amenant des choix thérapeutiques et des pronostics émis pouvant être différents entre eux pour un même cas. Il est difficile d'affirmer dans quel sens ces facteurs ont pu influencer nos résultats. Il n'a pas été possible de comparer le pourcentage de NO propre à chaque médecin vétérinaire participant vu le petit nombre d'animaux inclus dans l'étude par chaque individu.

Nous avons utilisé un modèle de régression logistique multivariable pour prendre en compte un effet ferme aléatoire. L'inclusion de cet effet dans notre modèle visait à souligner l'importance de la variabilité du pronostic pour un même cas entre différentes fermes (142). Il est raisonnable de se questionner à savoir si cet effet aléatoire calculé dans un modèle statistique représente adéquatement ce qui est observé dans nos pratiques ambulatoires. En fait, cette façon de procéder doit plutôt être considérée comme une force de cette étude. L'inclusion de cet effet ferme aléatoire a modulé légèrement à la baisse notre exactitude diagnostique.

Il aurait été intéressant de s'attarder aux soins mis en place à la ferme (endroit où l'animal sera durant son épisode de décubitus, type de litière utilisée, fréquence et types de manipulations, accès à l'eau et alimentation) au moment de l'inclusion de la vache dans l'étude. Ces informations supplémentaires auraient pu nous permettre d'évaluer les caractéristiques de fermes reconnues pour influencer le pronostic lors de SVT (6, 17, 29, 36, 41).

4.9 Directions futures

Les connaissances actuelles quant aux facteurs de risque du SVT sont présentes dans la littérature. Le pourcentage d'issue négative révélé par cette étude est semblable à ce qui a déjà été rapporté (20, 29, 33, 38). Cette stagnation du pronostic de la condition au fil des décennies porte à s'interroger sur la transmission de ces informations aux producteurs et sur l'interprétation qu'ils en font. Les médecins vétérinaires ont encore un grand travail de sensibilisation à faire concernant la gestion précoce et adéquate des vaches non ambulatoires à la ferme. Nous avons une opportunité d'insister sur la mise en place de protocole de soins

méticuleux qui favoriseront le bien-être animal lors de la gestion de cas de SVT à la ferme (10).

Les bienfaits de la balnéothérapie sont reconnus lors de SVT (16, 36, 40). La référence de ces cas en centres hospitaliers disposant d'un système de flottaison est assurément une option thérapeutique intéressante. Les propriétaires d'animaux de haute valeur génétique, monétaire ou sentimentale sont plus enclins à accepter une référence rapide de leurs animaux en centre hospitalier, maximisant ainsi les chances de rémission de leurs animaux. Par contre, le contexte socioéconomique de chaque éleveur est différent et ce séjour hospitalier peut être difficile à autoriser pour certains. La valeur pronostique de la troponinémie et de la fréquence cardiaque chez les cas de SVT pourront nous permettre d'insister sur la nécessité de référer rapidement des animaux au pronostic sombre à la ferme. Par ailleurs, l'utilisation de la balnéothérapie directement à la ferme a récemment été rapportée avec succès dans la littérature (36). Un tel système demande un débit d'eau de température adéquate important. Il serait intéressant de comprendre comment ces cliniques qui offrent ce service de location ont procédé pour réussir à prodiguer des traitements efficaces et de vérifier la faisabilité de ce type de projet dans nos conditions environnementales québécoises.

Une banque de données colligeant les informations de notre fiche d'inclusion, mais aussi les résultats de profil biochimique de chaque cas est maintenant disponible. L'évaluation des paramètres du profil biochimique dépassait le cadre de cette étude. Par contre, une future analyse pourrait vérifier leurs valeurs pronostiques en plus de la troponinémie et de la fréquence cardiaque lors de SVT géré à la ferme.

Conclusion

Une étude préliminaire nous a permis d'établir un intervalle de référence de la troponinémie chez les vaches laitières en début de lactation (0.00-0.03 ng/mL; maximum 0.05 ng/mL) en utilisant l'appareil portatif i-STAT 1.

Une seconde étude nous a montré que la lactatémie n'est pas associée au pronostic lors de cas de SVT géré à la ferme. Par contre, elle nous a appris que la troponinémie (>0.7 ng/mL) ainsi que la fréquence cardiaque (>100 BPM) étaient de bons indicateurs pronostiques en contexte ambulatoire. Une association positive existe entre ces deux variables lors de la prédiction de l'issue négative des cas de SVT.

Bibliographie

1. Fenwick DC. The downer cow syndrome. *Aust Vet J.* 1969;45(4):184-8.
2. Coetzee JF. Novel approaches for the treatment of downer cow syndrome. *Cattle Pract* 2000;8(1):17-9.
3. Stark DA. A review of the veterinarian's role in the handling of down/disabled cattle. *Bovine Pract.* 1995;29:125-7.
4. Huxley JN, Archer SC, Biggs AM, Bradley AJ, Breen JE, Green MJ, et al. An expert review of the diagnosis, prognosis and treatment of recumbency in adult cattle. *Cattle Pract.* 2010;18:53-60.
5. Cox VS. Pathogenesis of the downer cow syndrome. *Vet Rec.* 1982;111(4):76-9.
6. Andrews AH, Blowey RW. Lameness above the foot. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. *Bovine medicine : diseases and husbandry of cattle.* 3 ed: Blackwell Science; 2004. p. 439-1.
7. Cox VS, McGrath CJ, Jorgensen SE. The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am J Vet Res.* 1982;43(1):26-31.
8. Pellerin D, Lavallois R. Comment augmenter le bénéfice d'une ferme laitière. In: C. Ferland DJ, C. Jean et A. Pronovost, editor. *Les bovins laitiers.* Québec: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec; 2008. p. 17-32.
9. ACIA. Lignes directrices pour déterminer si un animal est apte au transport 2005 [updated 2013-11-05; cited 2016 01-01]. Available from:

<http://www.inspection.gc.ca/animaux/animaux-terrestres/transport-sans-cruaute/politique-sur-les-animaux-fragilises/fra/1360016317589/1360016435110#guide>.

10. Stull CL, Payne MA, Berry SL, Reynolds J. A review of the causes, prevention, and welfare of nonambulatory cattle. *J Am Vet Med Assoc*. 2007;231(2):227-33.
11. ACIA. Annexe Z : Conditions par rapport aux contrôles de ESB [updated 2014-10-31/2016-08-15]. Available from:
<http://www.inspection.gc.ca/aliments/produits-de-viande-et-de-volaille/manuel-des-methodes/chapitre-11/etats-unis-d-amerique/annexe-z/fra/1372186564529/1372186662238>.
12. Clark RG, Henderson HV, Hoggard GK, Ellison RS, Young BJ. The ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *New Zeal Vet J*. 1987;35(8):126-33.
13. Chamberlain AT, Cripps PJ, editors. Prognostic indicators for the downer cow. International Conference on Production Disease of Farm Animals; 1986; Belfast, Ireland.
14. Fenwick DC. The downer cow. *Aust Vet J*. 1969;45(4):184-8.
15. Shpigel NY, Avidar Y, Bogin E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet Rec*. 2003;152(25):773-6.
16. Smith BP, Angelos J, George LW. Down cows (Alert Downers). In: P. SB, editor. *Large animal internal medicine*. 3 ed: Mosby; 2002. p. 1017-8.
17. Cox VS. Nonsystemic causes of the downer cow syndrome. *Vet Clin North Food Anim Pract*. 1988;4(2):413-33.

18. DeGaris PJ, Lean IJ. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet J.* 2008;176(1):58-69.
19. Houe H, Ostergaard S, Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Larsen T, Sorensen JT, et al. Milk fever and subclinical hypocalcaemia--an evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta Vet Scand.* 2001;42(1):1-29.
20. Green AL, Lombard JE, Garber LP, Wagner BA, Hill GW. Factors associated with occurrence and recovery of nonambulatory dairy cows in the United States. *J Dairy Sci.* 2008;91(6):2275-83.
21. Ingvarsten KL, Dewhurstb RJ, Friggensa NC. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livest Prod Sci.* 2003;83(2/3):277-308.
22. Harwood. Tackling the problem of the downer cow: cause, diagnosis and prognosis. *Cattle Pract.* 2003;11(2):89-92.
23. Reynolds J, editor *Dealing with Downers.* Annual convention of the American Association of Bovine Partitioners; 2006; Fort Worth, TX.
24. Greenough PR, Weaver AD. *Lameness in Cattle:* W.B. Saunders; 1997.
25. Braun U, Blatter M, Buchi R, Hassig M. Treatment of cows with milk fever using intravenous and oral calcium and phosphorus. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde.* 2012;154(9):381-8.
26. Braun U, Salis F, Siegwart N, Hassig M. Slow intravenous infusion of calcium in cows with parturient paresis. *Vet Rec.* 2004;154(11):336-8.

27. Braun U, Salis F, Bleul U, Hassig M. Electrolyte concentrations after intravenous calcium infusions in cows with parturient paresis. *Vet Rec.* 2004;154(21):666-8.
28. Huxley JN. Assessment and management of the recumbent cow. In *Practice.* 2006;28(4):176-84.
29. Andrews T. The 'downer cow'. In *Practice.* 1986;8(5):187-9.
30. Correa MT, Erb HN, Scarlett JM. Risk-factors for downer cow syndrome. *J Dairy Sci.* 1993;76(11):3460-3.
31. Cox VS. An update on the downer cow syndrome. *Bovine Pract.* 1986;21:195-9.
32. Sinclair U. Chapitre 5. 1906 2006-03-11 [cited 01-09-2016]. In: *The Jungle* [Internet]. [cited 01-09-2016]. Available from: <http://www.gutenberg.org/files/140/140-h/140-h.htm>.
33. Curtis RA, Cote J, Willoughby RA. The downer cow syndrome: a complication, not a disease. *Mod Vet Pract.* 1970;51(7):25-8.
34. Björnsell KA, Holtenius P, Jacobsson SO. Studies on parturient paresis with special reference to the Downer cow syndrome. *Acta Vet Scand.* 1969;10(1):36-43.
35. Walter R. *Alimentation de la vache laitière.* éd France agricole. Paris. 1997; p.131
36. Stojkov J, Weary DM, von Keyserlingk MA. Nonambulatory cows: Duration of recumbency and quality of nursing care affect outcome of flotation therapy. *J Dairy Sci.* 2016;99(3):2076-85.
37. Jonsson G, Pehrson B. Studies on the downer syndrome in dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1969;16(9):757-84.

38. Cox VS, Marsh WE, Steuernagel GR, Fletcher TF, Onapito JS. Downer cow occurrence in Minnesota dairy herds. *Prev Vet Med.* 1986;4(3):249-60.
39. Fenwick DC, Kelly WR, Daniel RC. Definition of a non-alert downer cow syndrome and some case histories. *Vet Rec.* 1986;118(5):124-8.
40. Burton AJ, Nydam DV, Ollivett TL, Divers TJ. Prognostic indicators for nonambulatory cattle treated by use of a flotation tank system in a referral hospital: 51 cases (1997-2008). *J Am Vet Med Assoc.* 2009;234(9):1177-82.
41. Smith BP, Angelos JA, George LW, Fecteau G, Angelos S, VanMetre D, et al. Down cows: causes and treatments. Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners; Montreal, Qc, CAN1997. p. 43-5.
42. Cox VS, Opinato JS. The many causes of down cows. Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners; Spokane, WA1998. p. 164-6.
43. Poulton PJ. Musculo-skeletal examination and diagnosis of the downer cow. *Cattle Pract.* 2013;21(2):174-80.
44. Hunt H, Blackwelder JT. Disorders of calcium metabolism. In: Smith BP, editor. *Large animal internal medicine.* 3 ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 2002. p. 1248-52.
45. Genthon A, Wilcox SR. Crush Syndrome: A case report and review of the literature. *J Emerg Med.* 2014;46(2):313-9.
46. Smith J, Greaves I. Crush injury and crush syndrome: a review. *J Trauma.* 2003;54(5 Suppl):S226-30.
47. Gonzalez D. Crush syndrome. *Crit Care Med.* 2005;33(1 Suppl):S34-41.

48. Cox VS, Farmworth RJ. Prevention and treatment of down cows: a continuum. Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners; Spokane, WA1998. p. 167-9.
49. Yamagishi N, Okada H, Koiwa M, Kudo K, Matsuo N, Naito Y. Peripartum heart disease in cows. *J Comp Physiol.* 1995;113(4):373-82.
50. Yamagishi N, Naito Y. Calcium Metabolism in Hypocalcemic Cows with Myocardial Lesion. *J Vet Sci.* 1997;59(1):71-3.
51. Cox VS, Martin CE. Peroneal nerve paralysis in a heifer. *J Am Vet Med Assoc.* 1975;167(2):142-4.
52. Report of the committee on animal welfare. Conference meeting of United States Animal Health Association; Minneapolis, Minnesota2006. p. 137-43.
53. Dunlop RH, Hammond PB. D-lactic acidosis of ruminants. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1965;119(3):1109-32.
54. Smith BP. Clinical chemistry tests. Large animal internal medicine. 3 ed. St. Louis: Mosby; 2003. p. 405.
55. Latimer, Latimer KS, Duncan JR. Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine : Clinical Pathology2012.
56. Valberg SJ, Hodgson DR. Examination of the muscular system. In: Mosby, editor. Large animal internal medicine. 3 ed. St. Louis, Missouri2002. p. 1267.
57. Shearer JK, Reynolds JP. Euthanasia techniques for dairy cattle. *Dairy Production Medicine: Blackwell Publishing Ltd.;* 2011. p. 331-9.
58. Undhad V, Fefar D, Jivani B, Gupta H, Ghodasara D, Joshi B, et al. Cardiac troponin: an emerging cardiac biomarker in animal health. *Veterinary World.* 2012;5(8):508.

59. O'Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem Lab Med.* 1997;43(12):2333-8.
60. Sandersen C, Remy B, Olejnik D, Amory H. Interest of troponin serum as a marker of myocardial damage in veterinary medicine. *Ann Med Vet.* 2008;152(3):180-90.
61. Serra M, Papakonstantinou S, Adamcova M, O'Brien PJ. Veterinary and toxicological applications for the detection of cardiac injury using cardiac troponin. *Vet J.* 2010;185(1):50-7.
62. Willis MS, Snyder JA, Poppenga RH, Grenache DG. Bovine cardiac troponin T is not accurately quantified with a common human clinical immunoassay. *J Vet Diagn Invest.* 2007;19(1):106-8.
63. Rajappa M, Sharma A. Biomarkers of cardiac injury: an update. *Angiology.* 2005;56(6):677-91.
64. Wells SM, Sleeper M. Cardiac troponins. *J Vet Emerg Crit Care.* 2008;18(3):235-45.
65. Shaffer JF, Gillis TE. Evolution of the regulatory control of vertebrate striated muscle: the roles of troponin I and myosin binding protein-C. *Physiol Genomics.* 2010;42:406-19.
66. Filatov VL, Katrukha AG, Bulargina TV, Gusev NB. Troponin: structure, properties, and mechanism of functioning. *Biokhimiya.* 1999;64(9):969-85.
67. Fromm R. Cardiac troponins in the intensive care unit: common causes of increased levels and interpretation. *Crit Care Med.* 2007;35(2):584-8.
68. Jaffe AS. Troponin--past, present, and future. *Curr Prob Cardiol.* 2012;37(6):209-28.

69. Mair J. Tissue release of cardiac markers: from physiology to clinical applications. *Clin Chem Lab Med*. 1999;37(11-12):1077-84.
70. Apple FS, Murakami MM, Christenson RH, Campbell JL, Miller CJ, Hock KG, et al. Analytical performance of the i-STAT cardiac troponin I assay. *Clin Chim Acta*. 2004;345(1-2):123-7.
71. Tate JR, Bunk DM, Christenson RH, Katrukha A, Noble JE, Porter RA, et al. Standardisation of cardiac troponin I measurement: past and present. *Pathology*. 2010;42(5):402-8.
72. Melanson SE, Morrow DA, Jarolim P. Earlier detection of myocardial injury in a preliminary evaluation using a new troponin I assay with improved sensitivity. *Am J Clin Path*. 2007;128(2):282-6.
73. Ewaschuk JB, Naylor JM, Palmer R, Whiting SJ, Zello GA. D-lactate production and excretion in diarrheic calves. *J Vet Intern Med*. 2004;18(5):744-7.
74. Fraser BC, Anderson DE, White BJ, Miesner MD, Wheeler C, Amrine D, et al. Assessment of a commercially available point-of-care assay for the measurement of bovine cardiac troponin I concentration. *Am J Vet Res*. 2013;74(6):870-3.
75. Varga A, Schober KE, Walker WL, Lakritz J, Rings DM. Validation of a commercially available immunoassay for the measurement of bovine cardiac troponin I. *J Vet Intern Med*. 2009;23(2):359-65.
76. Varga A, Schober KE, Holloman PC, Stromberg J, Lakritz J, Rings DM. Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin toxicosis. *J Vet Intern Med*. 2009;23(5):1108-16.
77. Panteghini M. The measurement of cardiac markers: where should we focus? *Am J Clin Pathol*. 2002;118(3):354-61.

78. Blass KA, Kraus MS, Rishniw M, Mann S, Mitchell LM, Divers TJ. Measurement of cardiac troponin I utilizing a point of care analyzer in healthy alpacas. *J Vet Cardiol.* 2011;13(4):261-6.
79. Jensen JK, Atar D, Mickley H. Mechanism of troponin elevations in patients with acute ischemic stroke. *Am J Cardiol.* 2007;99(6):867-70.
80. Schwarzwald CC, Hardy J, Buccellato M. High cardiac troponin I serum concentration in a horse with multiform ventricular tachycardia and myocardial necrosis. *J Vet Intern Med.* 2003;17(3):364-8.
81. Cornelisse CJ, Schott HC, Olivier NB, Mullaney TP, Koller A, Wilson DV, et al. Concentration of cardiac troponin I in a horse with a ruptured aortic regurgitation jet lesion and ventricular tachycardia. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217(2):231-5.
82. Kraus MS, Jesty SA, Gelzer AR, Ducharme NG, Mohammed HO, Mitchell LM, et al. Measurement of plasma cardiac troponin I concentration by use of a point-of-care analyzer in clinically normal horses and horses with experimentally induced cardiac disease. *Am J Vet Res.* 2010;71(1):55-9.
83. Radcliffe RM, Divers TJ, Fletcher DJ, Mohammed H, Kraus MS. Evaluation of L-lactate and cardiac troponin I in horses undergoing emergency abdominal surgery. *J Vet Emerg Crit Care.* 2012;22(3):313-9.
84. Nostell K, Brojer J, Hoglund K, Edner A, Haggstrom J. Cardiac troponin I and the occurrence of cardiac arrhythmias in horses with experimentally induced endotoxaemia. *Vet J.* 2012;192(2):171-5.
85. Slack JA, McGuirk SM, Erb HN, Lien L, Coombs D, Semrad SD, et al. Biochemical markers of cardiac injury in normal, surviving septic, or nonsurviving septic neonatal foals. *J Vet Intern Med J.* 2005;19(4):577-80.

86. Mellanby RJ, Henry JP, Cash R, Ricketts SW, Dias Bexiga JR, Mellorr DJ. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with pericarditis. *Vet Rec.* 2007;161:454-5.
87. Gunes V, Erdogan HM, Ctl M, Ozcan K. Assay of cardiac troponins in the diagnosis of myocardial degeneration due to foot-and-mouth disease in a calf. *Vet Rec.* 2005;156(22):714-5.
88. Buczinski S, Belanger AM. Bovine tricuspid endocarditis as a cause of increased serum concentration of cardiac troponins. *Can Vet J.* 2010;51(2):195-7.
89. Suzuki K, Uchida E, Schober KE, Niehaus A, Rings MD, Lakritz J. Cardiac troponin I in calves with congenital heart disease. *J Vet Intern Med.* 2012;26(4):1056-60.
90. Mellanby RJ, Henry JP, Ricketts SW, Cash R, Bexiga R, Truyers I, et al. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with cardiac and noncardiac disorders. *J Vet Intern Med.* 2009;23:926-30.
91. Gunes V, Atalan G, Ctl M, Erdogan HM. Use of cardiac troponin kits for the qualitative determination of myocardial cell damage due to traumatic reticuloperitonitis in cattle. *Vet Rec.* 2008;162(16):514-7.
92. Peek SF, Apple FS, Murakami MA, Crump PM, Semrad SD. Cardiac isoenzymes in healthy Holstein calves and calves with experimentally induced endotoxemia. *Can J Vet Res.* 2008;72(4):356-61.
93. Fraser BC, Anderson DE, White BJ, Miesner MD, Lakritz J, Amrine D, et al. Associations of various physical and blood analysis variables with experimentally induced *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *Am J Vet Res.* 2014;75(2):200-7.

94. Varga A, Angelos JA, Graham TW, Chigerwe M. Preliminary investigation of cardiac troponin I concentration in cows with common production diseases. *J Vet Intern Med.* 2013;27(6):1613-21.
95. Kontos MC, Fritz LM, Anderson FP, Tatum JL, Ornato JP, Jesse RL. Impact of the troponin standard on the prevalence of acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 2003;146(3):446-52.
96. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. *Clin Chem Lab Med.* 2009;55(12):2098-112.
97. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 1996;335(18):1342-9.
98. Diaz OM, Durando MM, Birks EK, Reef VB. Cardiac troponin I concentrations in horses with colic. *J Am Vet Med Assoc.* 2014;245(1):118-25.
99. Radcliffe RM, Buchanan BR, Cook VL, Divers TJ. The clinical value of whole blood point-of-care biomarkers in large animal emergency and critical care medicine. *J Vet Emerg Crit Care.* 2015;25(1):138-51.
100. Trefz FM, Lorch A, Feist M, Sauter-Louis C, Lorenz I. Metabolic Acidosis in Neonatal Calf Diarrhea—Clinical Findings and Theoretical Assessment of a Simple Treatment Protocol. *J Vet Intern Med.* 2012;26(1):162-70.
101. Fall PJ, Szerlip HM. Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. *J Intensive Care Med.* 2005;20(5):255-71.
102. Harper HA, Murray RK. *Biochimie de Harper.* 5e ed. Sainte-Foy, Québec: Presses de l'Université Laval; 2002. 848 p.

103. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;43(5):270-9.
104. Tennent-Brown B. Blood lactate measurement and interpretation in critically ill equine adults and neonates. *Vet Clin Path North Am Eq Pract.* 2014;30(2):399-413.
105. Madias NE. Lactic acidosis. *Kidney Int.* 1986;29(3):752-74.
106. Corley KT, Donaldson LL, Furr MO. Arterial lactate concentration, hospital survival, sepsis and SIRS in critically ill neonatal foals. *Equine Vet J.* 2005;37(1):53-9.
107. Hughes D, Rozanski ER, Shofer FS, Laster LL, Drobatz KJ. Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. *Am J Vet Res.* 1999;60(4):521-4.
108. Neil K. How to use lactate in equine practice. *Aust Equine Vet.* 2008; 27(4):34-8.
109. Tennent-Brown BS, Wilkins PA, Lindborg S, Russell G, Boston RC. Sequential plasma lactate concentrations as prognostic indicators in adult equine emergencies. *J Vet Intern Med.* 2010;24(1):198-205.
110. Christopher MM, O'Neill S. Effect of specimen collection and storage on blood glucose and lactate concentrations in healthy, hyperthyroid and diabetic cats. *Vet Clin Pathol* 2000;29(1):22-8.
111. Ferrante PL, Kronfeld DS. Effect of sample handling on measurement of plasma glucose and blood lactate concentrations in horses before and after exercise. *Am J Vet Res.* 1994;55(11):1497-500.
112. Henderson ISF. Diagnostic and prognostic use of L-lactate measurement in equine practice. *Equine Vet Educ.* 2013;25(9):468-75.

113. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, van den Broek ET, Spierenburg AJ. Evaluation of the usefulness of the portable device Lactate Pro for measurement of lactate concentrations in equine whole blood. *J Vet Diagn Invest.* 2008;20(1):83-5.
114. Tas O, De Rooster H, Baert E, Doom MH, Duchateau L. The accuracy of the Lactate Pro hand-held analyser to determine blood lactate in healthy dogs. *J Small Anim Pract.* 2008;49(10):504-8.
115. Acierno MJ, Mitchell MA. Evaluation of four point-of-care meters for rapid determination of blood lactate concentrations in dogs. *J Am Anim Hosp Ass.* 2007;230(9):1315-8.
116. Buczinski S, Dore E, Boulay G, Francoz D. Validation of the handheld Lactate-Pro analyzer for measurement of blood L-lactate concentration in cattle. *Vet Clin Path.* 2014;43(4):567-72.
117. Doré E, Buczinski S, Boulay G, Bernard C, Beauchamp G, Francoz D, editors. Evaluation of a hand-held device for measurement of whole blood lactate concentration in cattle. *World Buiatrics Congress; 2010; Santiago, Chili.*
118. Lehnhard RA, Bartlett M, Roche BM, Hinchcliff KW. Variations in lactate during a graded exercise test due to sampling location and method. *Comp Ex.* 2010;7:81-7.
119. Prittie J. Optimal endpoints of resuscitation and early goal-directed therapy. *J Vet Emerg Crit Care.* 2006;16(4):329-39.
120. Hjortkjaer RK, Svendsen CK. Simulated small intestinal volvulus in the anesthetized horse. *Nord Vet Med.* 1979;31(11):466-83.
121. Liao XP, She YX, Shi CR, Li M. Changes in body fluid markers in intestinal ischemia. *J Pediatr Surg* 1995;30(10):1412-5.

122. Wittek T, Constable PD, Furll M. Comparison of abomasal luminal gas pressure and volume and perfusion of the abomasum in dairy cows with left displaced abomasum or abomasal volvulus. *American journal of veterinary research*. 2004;65(5):597-603.
123. Wotman K, Wilkins PA, Palmer JE, Boston RC. Association of blood lactate concentration and outcome in foals. *J Vet Intern Med*. 2009;23(3):598-605.
124. Boulay G, Francoz D, Dore E, Dufour S, Veillette M, Badillo M, et al. Preoperative cow-side lactatemia measurement predicts negative outcome in Holstein dairy cattle with right abomasal disorders. *J Dairy Sci*. 2014;97(1):212-21.
125. Figueiredo MD, Nydam DV, Perkins GA, Mitchell HM, Divers TJ. Prognostic value of plasma L-lactate concentration measured cow-side with a portable clinical analyzer in Holstein dairy cattle with abomasal disorders. *J Vet Intern Med*. 2006;20(6):1463-70.
126. Castagnetti C, Pirrone A, Mariella J, Mari G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology*. 2010;73(3):343-57.
127. Furr MO, Lessard P, White NA. Development of a colic severity score for predicting the outcome of equine colic. *Vet Surg*. 1995;24(2):97-101.
128. Orsini JA, Elser AH, Galligan DT, Donawick WJ, Kronfeld DS. Prognostic index for acute abdominal crisis (colic) in horses. *AM J Vet Res*. 1988;49(11):1969-71.
129. Johnston K, Holcombe SJ, Hauptman JG. Plasma lactate as a predictor of colonic viability and survival after 360 degrees volvulus of the ascending colon in horses. *Vet Surg*. 2007;36(6):563-7.

130. Svendsen CK, Hjortkjaer RK, Hesselholt M. Colic in the horse. A clinical and clinical chemical study of 42 cases. *Nord Vet Med.* 1979;31(10):Suppl 1-32.
131. Moore JN, Owen RR, Lumsden JH. Clinical evaluation of blood lactate levels in equine colic. *Equine Vet J.* 1976;8(2):49-54.
132. Hashimoto-Hill S, Magdesian KG, Kass PH. Serial measurement of lactate concentration in horses with acute colitis. *J Vet Intern Med.* 2011;25(6):1414-9.
133. Coghe J, Uystepuyst C, Bureau F, Detilleux J, Art T, Lekeux P. Validation and prognostic value of plasma lactate measurement in bovine respiratory disease. *Vet J.* 2000;160(2):139-46.
134. Nagy O, Seidel H, Paulikova I, Mudron P, Kovac G. Use of blood gases and lactic acid analyses in diagnosis and prognosis of respiratory diseases in calves. *B Vet J Pulawy.* 2006;50(2):149-52.
135. Fubini SL, Grohn YT, Smith DF. Right displacement of the abomasum and abomasal volvulus in dairy cows: 458 cases (1980-1987). *J Am Vet Med Assoc.* 1991;198(3):460-4.
136. Constable PD, Streeter RN, Koenig GJ, Perkins NR, editors. Blood l-lactate and pyruvate concentrations and lactate-pyruvate ratio in 41 cattle with abomasal volvulus. *World Buiatrics Congress; 1998; Sydney, Australie.*
137. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. Screening and diagnostic tests. *Veterinary Epidemiologic Research.* 2nd ed. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada: VER Inc; 2009. p. 91-134.
138. Bleul U, Sacher K, Corti S, Braun U. Clinical findings in 56 cows with toxic mastitis. *Vet Rec.* 2006;159(20):677-9.

139. Green MJ, Cripps PJ, Green LE. Prognostic indicators for toxic mastitis in dairy cows. *Vet Rec.* 1998;143(5):127-30.
140. Sorge U, Kelton D, Staufenbiel R. Neonatal blood lactate concentration and calf morbidity. *Vet Rec.* 2009;164(17):533-4.
141. Evans DL, Golland LC. Accuracy of Accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood and plasma. *Equine Vet J.* 1996;28(5):398-402.
142. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. Mixed models for discrete data. *Veterinary Epidemiologic Research.* 2nd ed: VER Inc; 2009. p. 579-604.

Annexe 1: Marche à suivre pour l'inclusion des cas

Résumé: L'étude vise à évaluer la lactatémie (LAC) et la troponinémie (cTnI) comme facteurs pronostiques lors de syndrome vache à terre (SVT).

Pour chaque fiche complétée, le clinicien recevra 20 \$.

Critères d'inclusion:

Vache ayant été présentée à terre et ne se relevant pas après une première visite du médecin vétérinaire (donc nécessitant une 2^{de} visite) **OU**

Vache dont la cause du décubitus n'est clairement pas l'hypocalcémie (taure, endotoxémie, myosathroquelettique...)

Remplir la fiche

AVANT LES TRAITEMENTS (et pris en charge par le projet):

Les prises de sang doivent être effectuées au niveau des vaisseaux coccygiens.

Détermination de la LAC avec le LACTATE PRO (Notation à l'aveugle)

EXTÉRIEUR FMV: Détermination de la LAC sur tube hépariné (VERT) au retour au bureau dans les plus brefs délais. *Garder l'échantillon dans la glacière.*

1 tube sec (rouge) pour Biochimie complète chez BIOVET

1 tube hépariné (VERT) sera ensuite remis à S.Buczinski (dosage cTnI) le plus rapidement possible (dans les 24 heures)

EXTÉRIEUR FMV: Envoi du tube hépariné réfrigéré ET du tube sec chez BIOVET par le service quotidien de ramassage

Compléter la fiche VACHE À TERRE

Annexe 2: Fiche d'inclusion

PROTOCOLE VACHES À TERRE

Animal ne s'étant pas relevé suite à une première visite du médecin vétérinaire ou cause évidente non liée au calcium (exemple taure, trauma, endotoxémie, choc...)

Identification de la vache

Date: _____ Ferme: _____ Tél.: _____

Contact: _____ Vétérinaire: _____

ou nom de la vache: _____ Race: _____

Jours en lait: _____ #lactation: _____

Traitements précédents par le propriétaire:

Depuis quand est-elle à terre: _____

Délai 1^{ère}-2^{ème} visite (h): _____

Examen physique

État général de l'animal: alerte légèrement abattu fortement abattu

T _____

P _____

R _____

Muqueuses: pâles normales congestionnées

Temps de remplissage capillaire: moins de 2 s 2 s plus de 2 s

Auscultation du rumen (sur 2 min): Fréquence de contraction: _____

Type de contraction: complète incomplète

Estimation clinique de la déshydratation:

Absente faible (5-7%) moyenne (8-10%) importante (>10 %)

Fumier: normal sec mal digéré diarrhée sang fibrine méléna

Quantité de fumier: absente faible normale

Autre maladie :-

Évaluation de la cause du décubitus

Myoarthrosquelettique: type d'affection: _____

Mammite aiguë

Métabolique

Choc

Inconnu

Autre (lymphome...) spécifiez _____

Traitements (nom, dose, fréquence, durée):

Fluidothérapie: _____

Anti-inflammatoire: _____

Antibiotique systémique: _____

Autres: _____

Pronostic ?

BON

MAUVAIS

INCERTAIN

*****AU BUREAU---LACTATE: _____** délai d'analyse: _____

BIOVET -----cTnl: _____

Annexe 3: Questionnaire téléphonique

Suivi J7

Animal toujours présent: oui non **Si non:** date d'élimination- mort: _____

Cause d'élimination/mort : _____ abattoir ou équarrissage

Toujours à terre oui non **Référent à la FMV:** oui non date: _____

Combien de **visites vétérinaires** pour traiter l'animal: _____

Appétit: 0 25 50 75 100 %

Niveau de production: adéquat inadéquat

Production vs production antérieure: 0 25 50 75 100 %

Satisfaction globale vis-à-vis de l'évolution: satisfait non satisfait

Suivi J30

Animal toujours présent: oui non **Si non:** date d'élimination- mort: _____

Cause Cause d'élimination/mort : _____ abattoir ou équarrissage

Toujours à terre oui non **Référent à la FMV:** oui non date: _____

Combien de **visites vétérinaires** pour traiter l'animal: _____

Appétit: 0 25 50 75 100 %

Niveau de production: adéquat inadéquat

Production vs production antérieure: 0 25 50 75 100 %

Satisfaction globale vis-à-vis de l'évolution: satisfait non satisfait

Suivi J60

Animal toujours présent: oui non **Si non:** date d'élimination- mort: _____

Cause d'élimination/mort : _____ abattoir ou équarrissage

Toujours à terre oui non **Référent à la FMV:** oui non date: _____

Combien de **visites vétérinaires** pour traiter l'animal: _____

Appétit: 0 25 50 75 100 %

Niveau de production: adéquat inadéquat

Production vs production antérieure: 0 25 50 75 100 %

Satisfaction globale vis-à-vis de l'évolution: satisfait non satisfait