

2m11.2922.5

Université de Montréal

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ DU RUMEN
CHEZ LA VACHE LAITIÈRE ET DU
RECYCLAGE DE L'AZOTE MÉTABOLIQUE

par

GUYLAINE SAUVÉ

Département de biomédecine

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option biomédecine

Mai, 2001

©Guylaine Sauvé, 2001



SF
607
U54
2002
v.001

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ DU RUMEN
CHEZ LA VACHE LAITIÈRE ET DU
RECYCLAGE DE L'AZOTE MÉTABOLIQUE

présenté par:

GUYLAINE SAUVÉ

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Normand Larivière, président du jury

Armand V. Tremblay, directeur de recherche

Vincent Girard, codirecteur de recherche

Michel Bigras-Poulin, membre du jury

Mémoire accepté le

Sommaire

Au Québec, les entreprises laitières exercent une pression importante sur l'environnement. Les émissions d'ammoniac provenant des déjections animales, principalement l'urine, représentent de 50 % à 75 % de pertes azotées dans l'atmosphère. L'intensification des productions animales telles les bovins et les porcs expliquent en grande partie cette situation. Deux études chez le mouton ont déjà démontré qu'une infusion de sucrose en continu dans le rumen réduisait les pertes azotées urinaires.

L'objectif de cette recherche est donc d'évaluer l'effet du moment de l'infusion ruminale de sucrose (jour ou nuit) sur les rejets azotés urinaires. Deux vaches en début de lactation et deux autres en mi-lactation ont été utilisées selon un dispositif en "switchback" pour comparer deux infusions ruminales de sucrose, soit celle de jour (10h00-21h00) et celle de nuit (22h00-10h00). L'infusion ruminale de sucrose a été administrée en alternant de douze heures par groupe de vaches pendant neuf jours consécutifs et ce, à trois reprises. Des échantillons sanguins ont été prélevés à toutes les heures et des prélèvements d'urine, à toutes les six heures pendant 24 heures, le dernier jour de chaque période. De plus, le comportement alimentaire des vaches a été enregistré à toutes les minutes à l'aide d'un collier masticateur relié à un système informatique.

L'évolution horaire des paramètres sériques, soit le glucose, l'urée, le phosphore, le potassium et le bicarbonate, a été étudiée sur une période de 24 heures. L'effet de la supplémentation énergétique, soit de jour ou de nuit, a été déterminé pour les paramètres sériques, urinaires et du comportement alimentaire. Les fractions d'excrétion rénale ont ensuite permis de vérifier si l'excrétion urinaire des paramètres sériques a été modifiée par les infusions ruminales de sucrose.

L'urée est le seul paramètre sérique qui a varié de façon significative entre les deux types d'infusions de sucrose, soit de jour ou de nuit. La supplémentation énergétique de jour s'avère plus efficace que celle de nuit pour séquestrer l'azote dans le rumen. La fraction d'excrétion rénale de l'urée et l'excrétion d'azote urinaire sur 24 heures ont ensuite permis de déterminer que le taux d'excrétion d'azote urinaire s'avère plus élevé lorsque les vaches reçoivent la supplémentation énergétique de nuit.

La supplémentation énergétique de jour cause une diminution de l'urée sérique et du taux d'azote urinaire comparativement à celle de nuit. Les périodes de rumination s'avèrent plus importantes la nuit chez la vache laitière. L'hypothèse de départ se doit d'être reformulée ainsi : " Une supplémentation en énergie ou une énergie plus rapidement utilisable pendant les périodes d'ingestion (et non de rumination) réduit les rejets azotés dans l'urine ". D'autres études s'avèrent nécessaires pour mieux définir le recyclage de l'azote alimentaire et métabolique chez la vache laitière.

Table des matières

Page titre	i
Identification du jury	ii
Sommaire	iii
Table des matières	v
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	x
Liste des sigles et abréviations	xi
Remerciements	xiii
Introduction	1
Revue de littérature	3
1. Les rejets azotés et l'environnement	3
2. Les méthodes d'estimation des rejets azotés	6
3. Les bovins : agents de rejets azotés	7
4. La production ruminale d'ammoniac et son excrétion	8
5. Le métabolisme azoté dans le rumen	13

5.1 Généralités	13
5.2 Toxicité de l'ammoniac et reproduction	20
5.3 Facteurs de variation du recyclage azoté dans le rumen	21
5.4 Mesure de la capacité de recyclage	23
5.5 Les pertes azotées	27
6. Étude du comportement alimentaire	27
7. Étude des variations des paramètres sanguins et urinaires en relation avec l'activité ruminale	31
7.1 Le glucose	31
7.2 L'urée sanguine	33
7.3 L'azote urinaire	35
7.4 L'allantoïne urinaire	36
7.5 Les électrolytes	36
7.5.1 Le sodium	37
7.5.2 Les chlorures	37
7.5.3 Le potassium	37
7.5.4 Le bicarbonate	38
7.6 La clearance et la fraction d'excrétion rénale	38
7.7 La créatinine	45
8. Dispositif expérimental	45

9. Buts de l'étude	49
Article 1 : Effets du profil d'ingestion avec une infusion ruminale de sucrose sur les paramètres sanguins de la vache en lactation	50
Article 2 : Excrétion urinaire et fractions d'excrétion rénale de l'urée et des électrolytes chez la vache laitière	83
Discussion	103
Conclusion	110
Bibliographie	112

Liste des tableaux

Revue de littérature

I-	Quantités d'azote et de phosphore retenues annuellement par les bovins laitiers du Québec	10
II-	Quantités d'azote et de phosphore rejetées annuellement par les bovins laitiers du Québec	11
III-	Équivalence entre les différentes catégories de bovins laitiers sur la base des rejets d'azote et de phosphore	12
IV-	Composition, dégradation ruminale et digestion intestinale des protéines extraites avec du borate, des détergents neutre et acide ...	18
V-	Clearance rénale des électrolytes chez les bovins	42
VI-	Fraction d'excrétion rénale des électrolytes chez les bovins	43
VII-	Valeurs de référence urinaires chez les bovins	44

Article 1

1-	Description de la ration servie aux deux groupes de vaches (en %) ..	69
2-	Composition de la ration (en %)	70
3-	Valeurs moyennes des données du comportement alimentaire et des paramètres sériques chez quatre vaches en lactation	71
4-	Comparaison des valeurs moyennes de sept paramètres sériques à trois temps différents de la journée par rapport aux valeurs moyennes journalières et aux valeurs de référence du profil métabolique de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV)	72
5-	Relation entre l'ingestion volontaire de matière sèche (M.S.) et trois paramètres sériques chez quatre vaches en lactation	73

Article 2

1- Description de la ration servie aux deux groupes de vaches (en %) ..	95
2- Composition de la ration (en %)	96
3- Valeurs moyennes urinaires et sériques selon le traitement au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation	97
4- Valeurs moyennes de l'azote urinaire et de l'urée sérique par intervalles de huit heures selon le traitement au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation	98

Liste des figures

Revue de littérature

1. Métabolisme microbien des protéines dans le rumen 15
2. Incorporation de l'azote dans la protéine microbienne du rumen ... 16
3. Calcul des fractions des protéines alimentaires 19
4. Catabolisme des purines 25

Article 1

1. Variations horaires de cinq paramètres sériques et de l'ingestion de matière sèche au cours de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation 67
2. Effets du moment de l'infusion ruminale de sucrose sur cinq paramètres sériques et sur l'ingestion de matière sèche au cours de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation 68

Article 2

1. Fractions d'excrétion rénale de l'urée (a), du phosphore (b) et du potassium (c) au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation 94

Liste des sigles et des abréviations

AA :	acides aminés
ALB :	albumine
ADF :	acid detergent fiber
$^{\circ}$ C :	degré Celsius
cc :	centimètre cube
CCPA :	Conseil Canadien de Protection des Animaux de laboratoire
CPAQ :	Conseil des Productions Animales du Québec
FMV :	Faculté de médecine vétérinaire
fois/j :	nombre de fois par jour
g :	gramme(s)
g/j :	gramme(s) par jour
g/kg :	gramme(s) par kilogramme
h :	heure(s)
h/j :	heure(s) par jour
Insol :	insoluble
I.U. :	unités internationales
j :	jour
kg :	kilogramme(s)
kg de M.S./h :	kilogramme(s) de matière sèche par heure
kg/ha :	kilogramme(s) par hectare
kg/j :	kilogramme(s) par jour
km ² :	kilomètre(s) carré(s)
L/h :	litre(s) par heure
L/j :	litre(s) par jour
m ³ :	mètre cube
MAFF :	Ministry of Agriculture, Fisheries and Food

MAPAQ :	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
Mcal/kg :	mégacalorie(s) par kilogramme
mg :	milligramme(s)
mg/dL :	milligramme(s) par décilitre
mg/kg/j :	milligramme(s) par kilogramme par jour
mg NH ₃ -N :	milligramme(s) d'azote ammoniacal
minutes/h :	minutes par heure
minutes/j :	minutes par jour
ml :	millilitre(s)
ml/minute :	millilitre(s) par minute
ml/min/kg :	millilitre(s) par minute par kilogramme
mm :	millimètre(s)
mmole :	millimole
mmoles/j :	millimoles par jour
mmol/kg/j :	millimole(s) par kilogramme par jour
mmol/L :	millimole(s) par litre
NaCl :	chlorure de sodium
NDF :	neutral detergent fiber
NH ₄ ⁺ :	ion ammonium
NO ₃ :	nitrate
NRC :	National Research Council
pH :	mesure de la concentration d'ions hydrogène
RPM :	rotations par minute
U/ml :	unités par millilitre

Remerciements

J'aimerais remercier les personnes suivantes pour leur soutien et leur collaboration spéciale tout au long de ce projet, soit :

- ❖ Dr Armand Tremblay, mon directeur de recherche, pour ses précieux conseils, son enthousiasme et sa persévérance;
- ❖ M. Vincent Girard, mon codirecteur de recherche, pour l'accès à la ferme expérimentale de Deschambault ainsi que pour le temps et l'énergie consacrés à m'expliquer les notions nouvelles;
- ❖ Mme Manon Sicotte, pour son aide technique au sein du laboratoire de biochimie de la Faculté de médecine vétérinaire;
- ❖ Ma famille et mes amis, pour leur présence et leur support moral;
- ❖ Stéphane, qui m'a toujours épaulée et encouragée pendant la réalisation de ce travail.

Je tiens aussi à remercier le Fonds du centenaire de la Faculté de médecine vétérinaire pour leur support financier.

Introduction

La pollution d'origine agricole par les composés azotés soulève d'importantes préoccupations environnementales et ce, à l'échelle mondiale. Les émissions d'ammoniac proviennent en grande partie des déjections animales et de l'épandage de fertilisants. Les rejets d'azote ont un impact considérable sur l'environnement, soit la pollution de l'air par l'ammoniac et de l'eau par les nitrates. Les pertes azotées dans l'atmosphère peuvent atteindre un taux assez élevé, de 50 % à 75 % .

Cependant, le volume des pertes azotées contenu dans les déjections animales pourrait être réduit grâce à une particularité unique aux ruminants : ce sont les seuls animaux domestiques susceptibles de réduire les pertes azotées en les recyclant. En effet, chez la vache, une partie de l'urée normalement excrétée dans l'urine peut être recyclée dans le rumen sous forme de protéine microbienne. L'efficacité du recyclage de l'urée plasmatique dépend du synergisme de l'urée transférée dans le rumen par la salive et le sang avec la présence d'hydrates de carbone ; l'urée pouvant être alors assimilée par les microorganismes du rumen pendant les périodes de rumination. Cette activité permet la production d'un volume de salive variant entre 10 et 30 litres par jour. La rumination est plus importante pendant la nuit. Il faudrait donc favoriser l'activité microbienne pendant la nuit pour assurer un recyclage plus efficace de l'urée.

D'une manière générale, plus l'alimentation est riche en protéines dégradables, moins le recyclage de l'azote métabolique s'avère efficace. Ces pertes d'azote alimentaire réduisent l'efficacité de la production laitière et, en conséquence, entraîne une surcharge d'azote dans l'environnement.

L'ammoniac qui a quitté le rumen se retrouve principalement dans le sang et s'il n'est pas métabolisé en urée par le foie, il sera alors excrété dans l'urine.

Notre objectif est de vérifier l'effet d'une infusion ruminale de sucrose sur le recyclage de l'urée et sur les pertes urinaires azotées chez la vache laitière. Nous utiliserons une alimentation journalière basée sur deux formulations de ration totale mélangée (jour et nuit) au lieu d'une seule, tout en synchronisant la dégradabilité des hydrates de carbone et celle des protéines alimentaires pour réduire les rejets azotés dans l'environnement. Notre hypothèse de travail se formule ainsi : " Une supplémentation en énergie plus rapidement utilisable pendant les périodes de rumination réduit les rejets azotés dans l'urine."

Revue de littérature

1. Les rejets azotés et l'environnement

Les émissions d'ammoniac proviennent en grande partie du fumier et du lisier des animaux ainsi que de l'épandage de fertilisants. Les rejets d'azote ont un impact considérable sur l'environnement, soit la pollution de l'air par l'ammoniac et de l'eau par les nitrates. Les pertes azotées dans l'atmosphère représentent un taux élevé, de 50 % à 75 % (Bachand, 1999 ; Rotz et al., 1999 ; Van Horn et al., 1994).

En Hollande, l'agriculture fait face à de larges surplus d'azote (Korevaar, 1992). L'intensification des productions animales telles les bovins, les porcs et la volaille explique en grande partie cette situation (de Boer et al., 1997). De plus, la surface disponible est 400 fois moins importante qu'en France et l'on compte quatre fois plus d'engrais azoté utilisé par hectare (Vérité, 1991). La Hollande doit importer les concentrés et ainsi, les entrées d'azote augmentent sur le territoire (Tamminga, 1992).

En France, les bovins, les ovins, les porcs et la volaille produisent annuellement 275 millions de tonnes d'effluents solides et liquides. Les deux tiers de la pollution azotée sont causés par les activités agricoles (Grémy, 1994).

Au Royaume-Uni, la production annuelle d'azote par les bovins est estimée à 0.32 million de tonnes, soit entre trois et quatre fois plus que celle de la volaille et des porcs respectivement (MAFF, 1994).

Aux États-Unis d'Amérique, l'augmentation de la densité des troupeaux, l'importation de concentrés et l'emploi de fertilisants ont causé de sérieux dommages à l'environnement (Morse, 1996 ; Rotz et al., 1999). Le gouvernement fédéral a mis en place une législation plus stricte visant à protéger la qualité de l'air et de l'eau (Morse, 1995).

Au Canada, les émissions de composés azotés d'origine agricole ont augmenté d'un facteur de 2,5 entre 1980 et 1995 (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 1999). Cette hausse est liée à l'augmentation du nombre d'animaux d'élevage, surtout les bovins et les porcs ainsi qu'à l'utilisation accrue de fertilisants. De 1981 à 1990, le nombre de fermes a diminué au Québec, mais les activités agricoles se sont spécialisées. En 1987, environ 18 000 bâtiments d'élevage présentaient un problème de contamination dû à un entreposage inapproprié de fumier comparativement à 13 000 en 1991. Les cas très graves de pollution impliquaient plus de 150 bâtiments en 1991 comparativement à 800 en 1987 (Gouvernement du Québec, 1992).

Le Règlement sur la réduction de la pollution agricole vise la protection de l'eau et du sol (Gouvernement du Québec, 1999). Les agriculteurs doivent se doter d'un plan agroenvironnemental de fertilisation pour limiter les quantités d'azote et de phosphore provenant des déjections animales épandues. La tenue obligatoire d'un registre d'épandage permettra un suivi plus précis de toutes les opérations pour éviter la surfertilisation.

Un portrait agroenvironnemental des entreprises laitières du Québec a recensé en décembre 1999 près de 7700 entreprises laitières totalisant 84 % du cheptel de bovins laitiers et 83 % des terres cultivées (Dubé 2000a, 2000b). Le

nombre important d'exploitations laitières (plus de 8/100 km²), la quantité totale de fumier à gérer (1000 à 1500 m³/site d'élevage) et le pourcentage élevé d'animaux ayant accès à un cours d'eau (de 45 % à 60 %) accentuent le risque de pollution par l'azote. Le niveau de risque est donc principalement lié à la pollution atmosphérique. Le risque de pollution diffuse repose cependant sur l'utilisation excessive de fertilisants. Le niveau de risque de la pollution de l'eau par l'azote pour le secteur laitier reste modéré, car la charge en azote appliquée comble 78 % des besoins de la culture (Dubé, 2000a). Le niveau de risque associé aux odeurs causées par l'épandage de fumier est considéré comme élevé (Dubé, 2000b).

Une réduction des rejets azotés s'impose pour limiter les pertes azotées dans l'atmosphère, soit en diminuant la consommation ou l'excrétion d'azote des animaux par une utilisation plus efficace de l'azote alimentaire et en diminuant l'emploi de fertilisants. Le volume des pertes azotées contenu dans le fumier pourrait être réduit grâce à une particularité unique aux ruminants : ce sont les seuls animaux domestiques susceptibles de réduire les pertes azotées en les recyclant. Chez la vache, une partie de l'urée normalement excrétée par l'urine peut être recyclée via la salive ou lors de surplus, peut être retournée dans le rumen et servir à la biosynthèse de protéines microbiennes (Cunningham, 1997 ; Kaneko et al., 1997).

2. Les méthodes d'estimation des rejets azotés

Au niveau de l'exploitation agricole, une première méthode consiste à analyser un échantillon prélevé dans le fumier entreposé. Cette approche comporte plusieurs difficultés, soit d'évaluer précisément le volume total de fumier produit et d'obtenir un échantillon de fumier représentatif pour l'analyse. De plus, cette approche ne tient pas compte des pertes azotées dues à la volatilisation. La valeur de la quantité d'azote de l'échantillon est ensuite multipliée par le volume total de fumier pour obtenir la quantité totale d'azote rejetée.

Une deuxième méthode consiste à utiliser les rejets par unité animale, qui équivaut à 500 kg de poids, mais cette mesure ne correspond pas à une charge fertilisante d'une espèce à l'autre. Ainsi, une vache équivaut à une unité animale de même que cinq porcs à l'engraissement (Gouvernement du Québec, 1999). Cependant, il serait plus logique d'exprimer l'unité animale en fonction de la quantité d'azote rejetée. C'est alors que la définition actuelle ne reflète plus la réalité. Si l'unité animale correspond à 100 kg de rejets azotés par année, alors une vache équivaut treize porcs à l'engraissement (CPAQ, 1998).

Une troisième méthode calcule les rejets azotés en effectuant la différence entre les aliments consommés et ceux qui sont retenus. Des données sont disponibles sur les quantités d'azote retenues en fonction du poids de l'animal. Les valeurs utilisées sont celles du porc, car les pertes d'azote dans les bâtiments et à l'entreposage sont très variables pour les bovins, soit de 15 % à 45 % (CPAQ, 1998). Cette méthode s'avère toutefois plus précise que l'analyse d'un échantillon de fumier avec l'évaluation de la quantité totale de fumier produit.

Le bilan azoté de l'exploitation sert à calculer les pertes d'azote. Les entrées d'azote telles que les achats d'engrais, d'aliments et d'animaux de même que les sorties visibles telles que la vente de lait, de viande et de végétaux, doivent être relevées. La différence entre les entrées et les sorties permet de connaître les pertes azotées de l'exploitation (Vérité, 1991).

3. Les bovins : agents de rejets azotés

Au Québec, les productions animales accumulent 26 millions de m³ de fumier par année. Si l'on ajoute à cela l'eau et les absorbants, le volume total s'élève alors à 42.8 millions de m³. Les bovins laitiers et les porcs produisent plus de 80 % de ce volume dont 52.2 % est attribuable aux bovins et 28.1 %, aux porcs (Gouvernement du Québec, 1992). Depuis 1971, on note une diminution de 8 % du cheptel bovin tandis que le cheptel porcin a augmenté de 110 %. En 1997, on recense au Québec, 11 118 fermes laitières et 3 031 fermes porcines représentant respectivement 38 % et 10 % des exploitations animales de la province (MAPAQ, 1997).

De 25 % à 30 % de l'azote consommé par les vaches en lactation se retrouve dans le lait ; le reste est excrété dans les fèces et l'urine (Kebreab et al., 2000 ; Rotz et al., 1999 ; Tamminga, 1992). Les vaches excrètent dans les fèces et l'urine de 350 à 550 g d'azote par jour par 1000 kg de poids vif. La production journalière de fumier d'une vache varie entre 69 et 103 kg par 1000 kg de poids vif (Wilkerson et al., 1997). La volatilisation de l'ammoniac due aux pertes azotées urinaires représente de cinq à six fois celle émanant des pertes azotées fécales (Lockyer et Whitehead, 1990). La réduction des pertes azotées dans l'atmosphère passe donc par une réduction des rejets azotés dans l'urine.

4. La production ruminale d'ammoniac et son excrétion

Les composés azotés consommés par les vaches sont transformés en ammoniac dans le rumen. En début de lactation, la production ruminale d'ammoniac excède souvent le taux d'assimilation, c'est-à-dire de l'utilisation d'azote par la masse microbienne (Morrison et Mackie, 1996).

D'une manière générale, plus l'alimentation est riche en protéines dégradables, moins le recyclage de l'azote métabolique s'avère efficace. La protéolyse microbienne peut augmenter la concentration ruminale d'ammoniac jusqu'à 8 mmol/L. Ensuite, en moins d'une heure, cette concentration revient à une valeur normale se situant autour de 2 à 3 mmol/L (Dehareng et al., 1996 ; Gustafsson et Palmquist, 1993).

Le surplus d'ammoniac diffuse librement à travers la paroi du rumen pour se retrouver principalement dans la circulation sanguine sous la forme libre. S'il n'est pas métabolisé en urée par le foie, il sera éliminé rapidement sous forme de chlorure d'ammonium dans l'urine. Une partie de l'urée diffuse dans la salive et pourra être réutilisée, en présence d'énergie, par les microorganismes du rumen pour la synthèse protéique microbienne (Cunningham, 1997 ; Kaneko et al., 1997). Lors de surplus, une certaine quantité d'urée peut également retourner dans le rumen et servir à la synthèse des protéines microbiennes. Cette quantité d'urée représente de 12 % à 33 % de l'azote digéré (Dimski, 1994 ; Lapierre et Bernier, 1996 ; Peyraud et al., 1997a). La clearance rénale de l'urée augmente lorsque sa concentration plasmatique dépasse 5 mmol/L (Kaneko et al., 1997). Le transfert de chlorure d'ammonium dans l'urine et dans le lait (Gustafsson et

Palmquist, 1993) réduit l'amplitude du pic postprandial d'ammoniac dans le rumen.

La nature des fourrages peut représenter une source de variation des quantités d'azote rejetées dans l'environnement. Une vache au pâturage rejette 100 kg d'azote par année tandis qu'une vache nourrie principalement avec de l'ensilage d'herbe produit 123 kg de rejets azotés par année (Brisson, 1999). Les tableaux I, II et III nous permettent de quantifier l'azote et le phosphore, retenu et rejeté par le cheptel laitier québécois.

Tableau I. Quantités d'azote et de phosphore retenues annuellement par les bovins laitiers du Québec.

	Quantités retenues (kg/an)	
	Azote	Phosphore
Vache		
Lait (7100 kg/an)	35.8	7.1
Gain de poids (36.5 kg/an)	0.9	0.3
Développement du veau jusqu'à 55 kg	1.8	0.4
Total	38.5	7.8
Taure (360-580 kg)		
Gain de poids (256 kg/an)	6.1	1.7
Génisse (55-360 kg)		
Gain de poids (256 kg/an)	6.1	1.7

Source : Bachand, Charles. Octobre 1999. Les rejets d'azote et de phosphore par les bovins laitiers. Le producteur de lait québécois : 32-34.

Tableau II. Quantités d'azote et de phosphore rejetées annuellement par les bovins laitiers du Québec.

	Quantités rejetées (kg/an)		
	Azote Frais ¹	Azote Effluent ²	Phosphore
Vache			
Lait (7100 kg/an)	-	-	-
Gain de poids (36.5 kg/an)	-	-	-
Développement du veau jusqu'à 55 kg	-	-	-
Total	136.6	97.3	18.3
Taure (360-580 kg)			
Gain de poids (256 kg/an)	111	79.1	14.2
Génisse (55-360 kg)			
Gain de poids (256 kg/an)	47.4	33.8	5.7

1. Azote frais : azote dans le fumier à l'état frais, c'est-à-dire sous la queue.
2. Azote dans l'effluent : azote disponible au moment de l'épandage du fumier (azote frais X 71.25%).

Source: Bachand, Charles. Octobre 1999. Les rejets d'azote et de phosphore par les bovins laitiers. Le producteur de lait québécois : 32-34.

Tableau III. Équivalence entre les différentes catégories de bovins laitiers sur la base des rejets d'azote et de phosphore.

	Nombre de têtes = une vache laitière	Quantités rejetées (kg/an)	
		Azote	Phosphore
Vache (580 kg) (7100 kg de lait)	1.00	137	18.4
Taure (360-580 kg)	1.25	140	18.1
Génisse (55-360 kg)	3.00	143	17.1

Source : Bachand, Charles. Octobre 1999. Les rejets d'azote et de phosphore par les bovins laitiers.
Le producteur de lait québécois : 32-34.

5. Le métabolisme azoté dans le rumen

5.1 Généralités

Le maintien du bilan azoté chez les bovins laitiers s'effectue grâce à l'ingestion de protéines alimentaires, les bactéries et les protozoaires du rumen ne produisant pas toujours assez de protéines microbiennes pour rencontrer les besoins exigeants de la production laitière. La consommation volontaire des fortes productrices se situe entre 3 % et 4 % de leur poids vif.

La consommation de protéines alimentaires s'évalue par la quantité d'azote ingérée. La protéine alimentaire contient 16 % d'azote. Le pourcentage de protéines s'obtient par la multiplication du pourcentage d'azote par un facteur de 6.25 (Chalupa et Sniffen, 1991). L'azote alimentaire provient de deux sources distinctes, soit la vraie protéine et l'azote non-protéique. Cet azote alimentaire peut emprunter deux voies différentes selon la nature de la protéine. Une certaine quantité de protéines, en moyenne 40 %, échappe à la dégradation dans le rumen et ces dernières sont transférées au petit intestin afin de combler les besoins en acides aminés. Le reste, soit 60 %, sert à la production d'ammoniac dans le rumen (NRC, 1989).

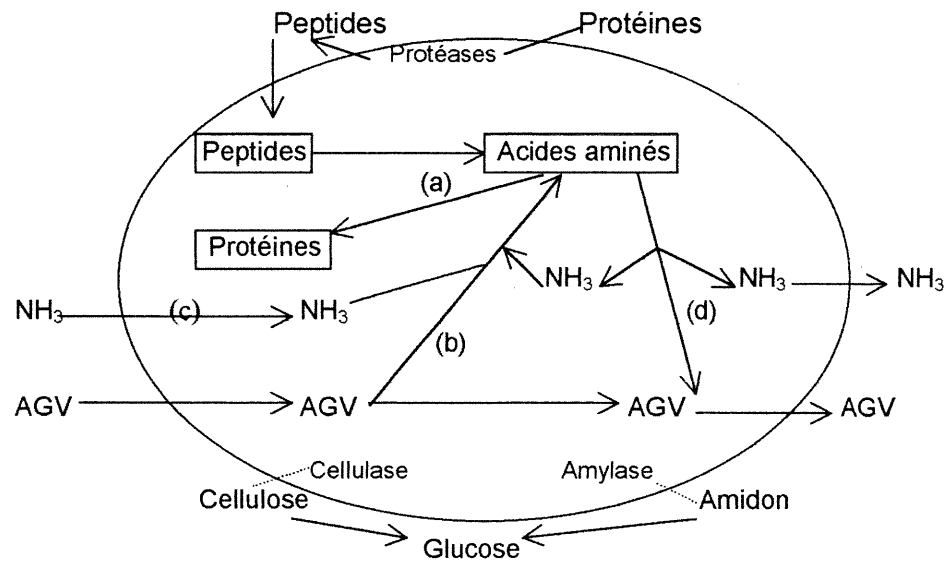
L'azote non-protéique qui comprend l'urée, les amines et les acides aminés sert en grande partie à la production d'ammoniac dans le rumen. L'urée acheminée par la salive et l'urée diffusant à travers la paroi ruminale font également partie de l'azote non-protéique. Les fractions plasmatiques les plus importantes de l'azote non-protéique sont représentées par l'urée (50 %) et les acides aminés (25 %) (Kaneko et al., 1997).

La dégradation ruminale de l'azote alimentaire fournit aux bactéries du rumen de l'ammoniac, des peptides et des acides aminés qui serviront éventuellement à la synthèse des protéines microbiennes. Les bovins rencontrent de 50 % à 100 % de leurs besoins en protéines à partir de la synthèse microbienne (Ørskov, 1992). Oldick et al. (1999) affirment que les protéines microbiennes fournissent 59 % des protéines disponibles pour l'absorption. La biomasse bactérienne du rumen représente environ un kg de matière sèche chez la vache (Jouany, 1994). Une partie de l'azote alimentaire, soit entre 40 % et 90 %, est transformée en ammoniac dans le rumen. Cet ammoniac se change en ammonium si le pH du rumen devient alcalin.

Dans le rumen, la protéine est d'abord attaquée par une protéase microbienne extracellulaire. La majorité de ces enzymes sont des "trypsin-like" endopeptidases et elles produisent de courtes chaînes peptidiques. La bactérie absorbe certains peptides formés à l'extérieur. À l'intérieur, les peptides peuvent servir à la synthèse de protéines microbiennes ou encore être dégradés pour produire de l'énergie par les voies du métabolisme des acides gras volatils, soit l'acétate, le propionate et le butyrate (Figure 1).

Les acides aminés doivent être désaminés avant d'accéder à la voie des acides gras volatils. Les carbones de acides aminés peuvent entrer directement dans la voie des acides gras volatils. Certains microorganismes du rumen utilisent des acides aminés préformés pour produire des protéines microbiennes. D'autres doivent synthétiser les acides aminés, puis les protéines à partir de l'ammoniac et des métabolites de la voie des acides gras volatils. L'énergie doit être disponible et devient donc un facteur limitant (Figure 2).

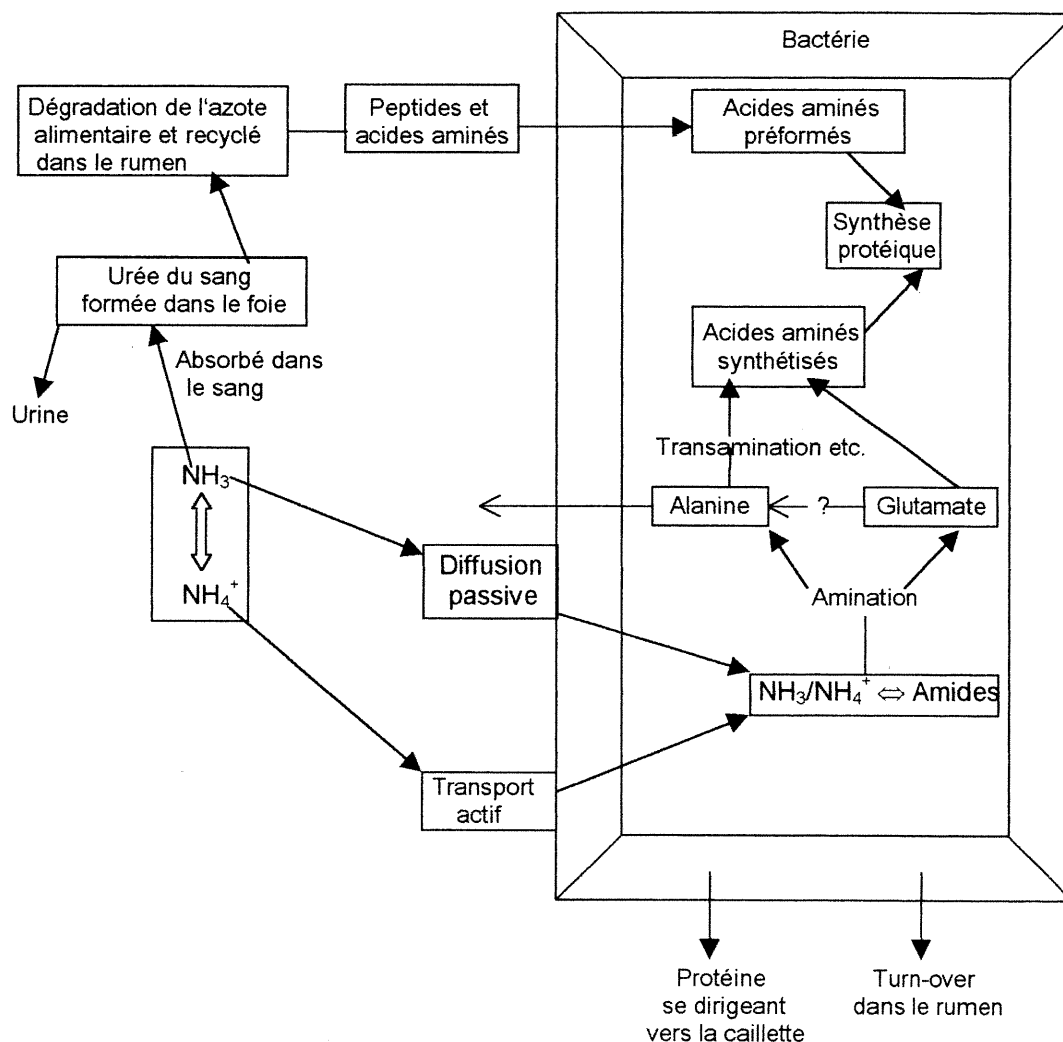
Figure 1. Métabolisme microbien des protéines dans le rumen.



Les protéases situées à la surface des microbes du rumen produisent des peptides qui sont par la suite utilisés par divers organismes. Les peptides absorbés et hydrolysés participent au pool d'acides aminés à partir desquels les protéines microbiennes sont synthétisées (a). Une autre source intracellulaire d'acides aminés existe par le biais de l'ammoniac (NH_3) et des acides gras volatils (AGV) (b). Certaines bactéries utilisent un autre procédé ; elles dépendent des sources extracellulaires d'ammoniac (c). Les acides aminés qui ne sont pas utilisés pour la synthèse de protéines peuvent être métabolisés en acides gras volatils et en ammoniac (d).

Source : Cunningham, J.G. 1997. Textbook of veterinary physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 339.

Figure 2. Incorporation de l'azote dans la protéine microbienne du rumen.



L'ammoniac diffuse librement à travers la paroi de la bactérie. À l'intérieur, il sera transformé en alanine et en glutamate. On présume qu'une partie de l'alanine peut être excrétée par la bactérie et se retrouve sous la forme libre dans le rumen. À l'intérieur de la bactérie, ces deux acides aminés subissent une transamination, entre autres, afin de synthétiser des acides aminés en vue de la synthèse protéique microbienne. Les protéines microbiennes ainsi formées se dirigeront vers la caillette pour y être digérées ou participeront au turn-over des protéines dans le rumen. Il se digère entre 500 et 2500 g de protéines microbiennes par jour dans la caillette des ruminants.

Source : Bock, H.D. et al. 1989. Protein metabolism in farm animals. p.182

En laboratoire, l'étude des différentes sources d'azote alimentaire nécessite l'utilisation de cinq fractions (Tableau IV). Ces fractions sont ensuite associées à une vitesse de dégradation ruminale et à une vitesse de digestion intestinale. Une dégradation ruminale de 200 % signifie que 99 % de la fraction est dégradée à une vitesse deux fois plus grande à l'heure (Tableau IV).

En utilisant les mêmes cinq fractions (Goering et Van Soest, 1990), la solubilité des fractions est vérifiée en utilisant trois solutions, soit le borate, le détergent neutre ou le détergent acide (Figure 3). La dégradation ruminale des protéines peut être estimée en combinant les fractions, leur dégradabilité et leur vitesse de sortie du rumen. La fraction C, la majeure partie de la fraction B₃, de 30 % à 70 % de la fraction B₂ et un peu de la fraction B₁ forment les protéines non-dégradables. La fraction A, la plupart de la fraction B₁, de 30 % à 70 % de la fraction B₂ et un peu de la fraction B₃ constituent les protéines dégradables.

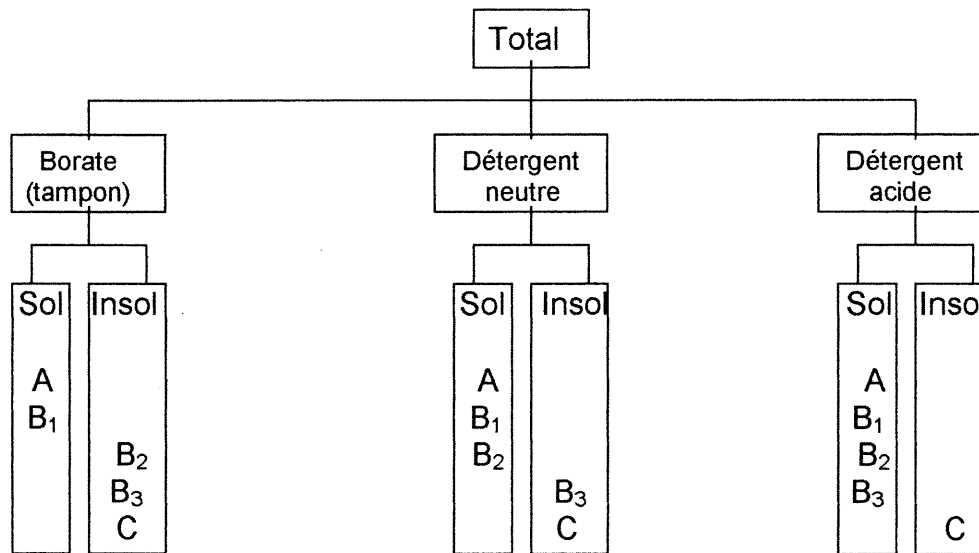
La protéine soluble est dissoute dans la solution de borate et elle correspond à la protéine dégradable. On évalue à 50 % la quantité de protéines dégradables qui devraient être solubles afin d'éviter les déficiences en ammoniac dans le rumen (Sniffen et Chase, 1988). La solution de borate détermine la solubilité des protéines tandis que le détergent neutre évalue leur dégradabilité. Le détergent acide permet de déterminer la protéine qui est dégradable ou non, soit la fraction C.

Tableau IV. Composition, dégradation ruminale et digestion intestinale des protéines extraites avec du borate, des détergents neutre et acide.

Fraction	Composition	Dégradation ruminale (%/h)	Digestion intestinale (%)
A	NH ₃ , NO ₃ , AA Peptides	Instantanée	N'atteint pas l'intestin
B ₁	Globulines quelques ALB	200 - 300	100
B ₂	La plupart des ALB, Glutelines	5 -15	100
B ₃	Prolamines	0.1 -1.5	80
C	Produits Maillard liés à la lignine	0	0

Source : Chalupa, W. et C.J. Sniffen. 1991. The Veterinary Clinics of North America. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. p. 355

Figure 3. Calcul des fractions des protéines alimentaires.



A : soluble dans le borate (tampon)
(extraction à l'acide tungstique)

B₁ : soluble dans le borate (tampon)
(extraction à l'acide tungstique)

B₂ : (Borate Insoluble) – (Détergent neutre Insoluble)

B₃ : (Détergent neutre Insoluble) – (Détergent acide Insoluble)

C : Détergent acide Insoluble

Source : Chalupa, W. et C.J. Sniffen. 1991. The veterinary clinics of North America. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. p. 355

5.2 Toxicité de l'ammoniac et reproduction

Symonds et al. (1981) ont vérifié la capacité maximale du foie à métaboliser l'ammoniac chez la vache laitière adulte. Trois vaches ont reçu une infusion d'acétate d'ammonium dans la veine mésentérique jusqu'à ce que l'intoxication survienne. Une différence existe entre les concentrations d'ammoniac du sang veineux et artériel. La concentration d'ammoniac dans le sang veineux se situe entre 66 % et 74 % de celle que l'on retrouve dans le sang artériel. Lewis (1960) a démontré chez le mouton que les premiers signes d'intoxication à l'urée surviennent dès que la concentration en ammoniac du sang veineux se situe autour de 0,5 mg NH₃-N/100 ml.

Un excès de protéines dégradables est associé à une baisse de fertilité chez la vache laitière (Burke et al., 1997 ; Ferguson et al., 1993, 1996 ; McCormick et al., 1999 ; Melendez et al., 2000). Les vaches dont l'urée sérique dépasse 20 mg/dL ont un taux de conception inférieur à 25 % (Ferguson et al., 1988). Un excès de protéines dégradables provoque une diminution du pH utérin durant la phase lutéale (Elrod et Butler, 1992). Cependant, certains chercheurs n'ont pas trouvé d'effet négatif sur la reproduction, suggérant ainsi que d'autres facteurs tels la production laitière, l'équilibre énergétique et la gestion de la reproduction devraient être étudiés simultanément (Carroll et al., 1994).

5.3 Facteurs de variation du recyclage azoté dans le rumen

Obara et Dellow (1994) ont vérifié l'influence d'une supplémentation ruminale de sucrose sur la cinétique de l'azote et le métabolisme de l'urée chez le mouton. Ils ont comparé trois formes différentes de luzerne avec la supplémentation ruminale de sucrose, soit 190 g/j.

Au cours de la 1^{ère} expérience, les moutons ont reçu une injection intraveineuse d'urée et d'azote radio-actifs et ils ont consommé de la luzerne fraîche. Lors de la 2^e expérience, la ration était composée de cubes de luzerne et les moutons ont reçu une injection intraveineuse de glucose, puis d'urée et d'azote radio-actifs. Les moutons ont ingéré de la luzerne hachée lors de la 3^e expérience. Les moutons recevaient une infusion ruminale d'eau ou de sucrose, en quantité égale, pendant la 1^{ère} et la 3^e expérience. Les moutons recevaient seulement une infusion ruminale de sucrose pendant la 2^e expérience. Les paramètres suivants ont été étudiés : l'ingestion de matière sèche, les indices du rumen tels le pH, la concentration d'ammoniac et d'acides gras volatils, le taux d'acide propionique et d'acétate, l'urée et le glucose plasmatique de même que l'excrétion d'allantoïne urinaire. La supplémentation de sucrose a entraîné une diminution de l'excrétion d'azote urinaire, mais une augmentation de l'excrétion urinaire d'allantoïne. Elle a causé une diminution de la concentration d'ammoniac dans le rumen et une baisse du pH ruminal. La concentration plasmatique de l'urée a diminué sous l'influence du sucrose.

Choung et Chamberlain (1995) ont vérifié l'effet du propionate sur la capacité de détoxification du foie. Ils ont comparé les effets d'une infusion ruminale de propionate et d'urée sur les concentrations d'ammoniac et d'insuline

du sang. L'expérience se résume à quatre vaches, quatre traitements et quatre périodes expérimentales de sept jours. Des échantillons de sang et de liquide ruminal ont été prélevés le dernier jour de chaque période. L'ajout de propionate à l'infusion d'urée a causé une augmentation significative de la concentration d'ammoniac plasmatique comparativement à l'infusion d'urée seule. Il a été démontré que le propionate inhibe la formation de la citrulline, un constituant du cycle de l'urée.

Sutoh et Miyamoto (1996) ont vérifié les effets d'une supplémentation de sucrose dans la diète sur la cinétique de l'azote, du propionate ruminal et du glucose plasmatique. Les moutons ont consommé une diète sans sucre pendant trois semaines, puis le sucrose a été ajouté à la ration pour les trois semaines suivantes. Des échantillons de liquide ruminal, de sang et d'urine ont été prélevés à plusieurs reprises. L'ajout de sucrose dans la diète a entraîné une diminution de la production ruminale d'ammoniac et de l'excrétion d'azote urinaire, favorisant ainsi la rétention d'azote.

Moorby et Theobald (1999) ont vérifié les effets d'une infusion duodénale d'ammoniac pour accroître l'utilisation d'acides aminés servant à la synthèse de l'urée. Par conséquent, cela entraînerait une diminution de la disponibilité des acides aminés pour la production laitière et une réduction de la protéine du lait. Quatre vaches en lactation ont reçu une infusion duodénale d'acétate d'ammonium ou d'acide acétique pendant cinq jours. Le bilan azoté a été déterminé grâce à la collecte totale de l'urine et des fèces. Du liquide ruminal a été prélevé à toutes les heures le dernier jour. Moorby et Theobald (1999) affirment que l'absorption intestinale d'ammoniac peut être considérée comme

une perte de protéines pour l'animal, mais elle ne réduit pas la disponibilité des acides aminés pour la lactation .

5.4 Mesure de la capacité de recyclage

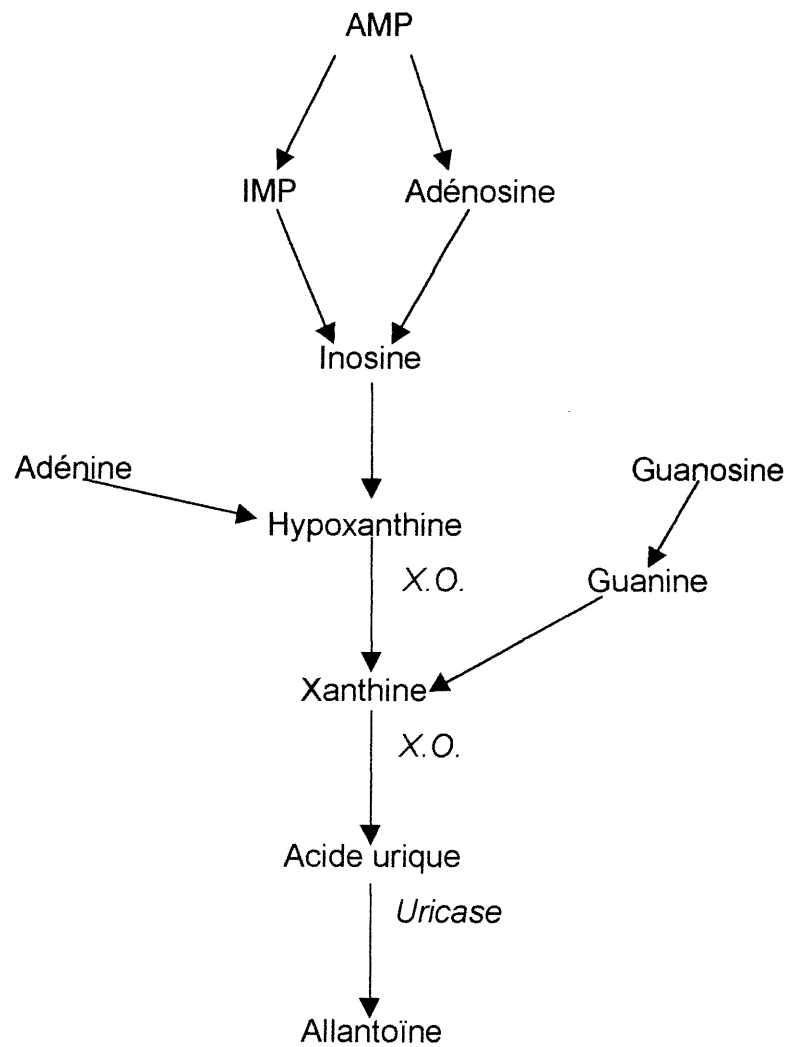
Gustafsson et Palmquist (1993) ont étudié les variations diurnales de l'ammoniac ruminal, de l'urée sérique et de l'urée du lait. Ils ont effectué des prélèvements de sang et de lait chez quatre vaches pendant 16 à 19 heures. Ils ont observé que le pic de l'urée sérique survient de 1.5 à 2.0 heures après le pic d'ammoniac ruminal qui, lui, retourne à la normale après six heures. L'urée du lait s'équilibre en une à deux heures avec l'urée sérique lorsque le taux sérique augmente de 0.5 à 1.0 mmole. À ce taux, la différence moyenne entre l'urée sérique et l'urée du lait est de 0.8 mmole.

Des corrélations significatives ont été établies entre le contenu protéique du rumen et les concentrations en urée du plasma, de l'urine et du lait (Gonda et Lindberg, 1994 ; Lindberg et Murphy, 1991). L'urée sanguine est étroitement corrélée à la concentration ruminale d'ammoniac (Gustafsson et Palmquist, 1993 ; Spain et al., 1990). L'urée du lait est fortement corrélée à l'urée sanguine (Broderick et Clayton, 1997 ; Gonda et Lindberg, 1994 ; Gustafsson et Palmquist, 1993 ; Rodriguez et al., 1997 ; Ropstad et al., 1989 ; Roseler et al., 1993). L'urée du lait est étroitement reliée au contenu protéique de la diète, car elle procure une bonne estimation de l'état nutritionnel de l'animal, en ce qui concerne les protéines (Eicher et al., 1999 ; Roseler et al., 1993). La concentration d'urée dans le réservoir de lait peut servir d'indice pour vérifier si les protéines alimentaires sont bien équilibrées dans la ration (Schepers et Meijer, 1998). La mesure de l'urée du lait et de l'urée sanguine est un processus simple, mais son

interprétation doit tenir compte de différents facteurs tels que la parité, le nombre de jours en lactation et l'heure des repas (Moscardini et al., 1998).

L'excrétion urinaire des dérivés des purines peut servir d'indicateur pour évaluer la synthèse protéique microbienne (Gonda et Lindberg, 1994, 1997 ; Susmel et al., 1995 ; Valaderes et al., 1999). Cette méthode assume que les acides nucléiques présents dans le duodénum sont d'origine microbienne. L'adénine et la guanine sont absorbées, catabolysées puis excrétées dans l'urine sous la forme de dérivés des purines (Verbic et al., 1990). Dans l'urine, on retrouve l'allantoïne en grande partie, mais aussi l'hypoxanthine, la xanthine et l'acide urique. Chez les bovins, l'allantoïne et l'acide urique sont les seuls dérivés des purines présents dans l'urine (Gonda et al., 1996), car la xanthine oxidase du sang et des tissus convertit la xanthine et l'hypoxanthine en acide urique (Figure 4). L'utilisation du ratio allantoïne : créatinine à partir d'un seul échantillon d'urine au cours de la journée pourrait devenir un indicateur possible de l'excrétion totale d'allantoïne chez les bovins (Chen et al., 1992 ; Gonda et Lindberg, 1994).

Figure 4. Catabolisme des purines.



AMP = adénosine 5'-phosphate

IMP = inosine 5'-phosphate

X.O. = xanthine oxydase

Source : Chen, X.B. 1989. Excretion of purine derivatives by sheep and cattle and its use for the estimation of absorbed microbial protein. Ph.D. thesis, Aberdeen.

Gonda et Lindberg (1994) ont vérifié les effets du taux et de la dégradabilité des protéines alimentaires sur la concentration d'urée du sang, du lait et de l'urine chez la vache laitière. L'allantoïne et la créatinine urinaire ont été également étudiées. En augmentant l'ingestion de protéines alimentaires, les concentrations de l'urée du sang, du lait et de l'urine s'élèvent significativement. L'allantoïne urinaire est plus élevée ($p < 0.01$) avec un taux plus grand de protéines dans la diète.

Brun-Bellut (1996) a mesuré la quantité d'urée recyclée chez des chèvres laitières en considérant le stade physiologique, soit la lactation, la gestation ou le tarissement, puis le contenu protéique de la diète. Le recyclage a été estimé grâce à l'utilisation de bicarbonate et d'urée radio-actifs introduits dans le rumen. Le recyclage ruminal moyen représente 15 % de l'azote ingéré, mais il comporte de grandes variations. La diète, l'utilisation de l'azote, l'urée sanguine et le contenu ruminal en ammoniac expliquent 60 % des variations du recyclage d'azote chez les chèvres.

Jonker et al. (1998) ont développé un modèle mathématique utilisant la concentration d'urée du lait pour prédire l'excrétion d'azote urinaire chez la vache laitière. L'excrétion d'azote urinaire est directement proportionnelle à la concentration de l'urée sanguine (Ciszuk et Gebregziabher, 1994). Le modèle s'est avéré précis avec les données de l'expérience, mais il a présenté une erreur de prédiction d'environ 15 % pour les autres données.

5.5 Les pertes azotées

Chez la vache, les pertes azotées proviennent de trois sources, soit de la fraction non-digestible des protéines se retrouvant dans les fèces (produits Maillard liés à la lignine), du surplus de protéines dégradables de la ration et du catabolisme des protéines tissulaires en bilan énergétique négatif, surtout observé en début de lactation.

Une concentration plus élevée d'urée sanguine peut entraîner des pertes plus importantes d'azote urinaire et fécal dans l'environnement (Jonker et al., 1998 ; Roseler et al., 1993 ; Tamminga, 1992 ; Tamminga, 1996 ; Wu et Satter, 2000). Cet excès de protéines coûte cher et rapporte peu. Wu et Satter (2000) recommandent de servir aux vaches une ration contenant 17.5 % de protéines brutes, dont 35 % à 37 % sont non-dégradables pour les 30^{èmes} semaines de la lactation, puis de diminuer la protéine brute à 16 % par la suite.

6. Étude du comportement alimentaire

Robinson et McQueen (1994) ont vérifié l'influence d'une supplémentation en protéines et la fréquence des repas sur le processus de fermentation dans le rumen des vaches laitières. Deux sources différentes de protéines, d'après leur degré de résistance à la protéolyse microbienne, ont été utilisées au cours de cette expérience. Les protéines ont été servies en deux ou cinq repas. L'ingestion de matière sèche, de NDF et de protéines brutes n'a pas été influencée par le traitement. Cependant, les vaches recevant cinq repas par jour avaient tendance à consommer plus rapidement leur ration le jour comparativement à la nuit. Le profil d'ingestion des vaches a été déterminé par la

pesée en continu des aliments qui a été enregistrée à toutes les dix minutes pendant trois jours. La mastication a été enregistrée à l'aide de colliers masticateurs (Girard et Labonté, 1994). En moyenne, les vaches mangent 5.6 h/j, ruminent 8.8 h/j et sont inactives 7.8 h/j. Le pH ruminal n'a pas été influencé par la source de protéines utilisée ni par le nombre de repas servis. La manipulation des protéines selon leur degré de résistance à la dégradation ruminale ou la fréquence des repas n'a pas eu d'effet sur la concentration des fractions solubles d'azote du rumen. Cependant, ces résultats ne prouvent pas que la synchronisation en énergie et en azote dans le rumen est bénéfique si la supplémentation en azote rencontre les besoins de l'animal.

Beauchemin et al. (1997) ont comparé les effets des cubes de fourrage séché d'ensilage ou de foin, du foin long et de l'ensilage usuel sur l'activité ruminale. Le comportement alimentaire été enregistré pendant quatre jours. Le système informatique surestime l'ingestion de 19.4 % et la rumination de 1.3 %. L'ingestion de matière sèche a été diminuée de 2.6 kg/j pour les vaches nourries à l'ensilage. Le fourrage en cubes a diminué l'ingestion de matière sèche de 1.5 kg/j ; il a abaissé le temps d'ingestion de 0.5 h/j et la mastication de 3500 fois/j. Cette étude démontre que les vaches laitières placées sur des diètes riches en concentrés ne devraient pas recevoir que des cubes de foin ou de luzerne comme fourrage. Les cubes de foin et d'ensilage diminuent l'ingestion et ils réduisent la production laitière comparativement au foin long et à l'ensilage usuel.

Peyraud et al. (1997b) ont étudié la digestion de l'herbe fraîche fertilisée selon deux taux d'azote, soit 0 et 80 kg/ha. L'herbe coupée était servie à volonté en trois repas. Le comportement alimentaire a été enregistré pendant deux jours à l'aide du système électronique décrit par Brun et al. (1984). L'absence de

fertilisation azotée cause une réduction du contenu en azote de 24 à 17 g/kg de matière sèche. L'ingestion d'azote a été réduite de 367 à 263 g/j tandis que l'ingestion volontaire et la production laitière n'ont pas affectées. La consommation sans fertilisation azotée amène une réduction de 81 g/j d'excrétion d'azote urinaire. Ces résultats suggèrent que la baisse de fertilisation azotée a peu d'impact sur la nutrition de la vache laitière, mais laisse entrevoir un effet plus marqué sur le métabolisme azoté en réduisant les pertes azotées dans l'urine.

Brouk et Belya (1993) ont étudié le comportement alimentaire des vaches nourries avec différents types de luzerne, soit l'ensilage de luzerne, l'ensilage de luzerne haché plus fin et le foin de luzerne. Un système informatique a permis l'enregistrement du comportement alimentaire. Ce système a enregistré 98 % de la mastication et des observations visuelles ont confirmé la précision de la prise de données. Les coups de mâchoire ont été mesurés selon la méthode décrite de Luginbuhl et al. (1987). Les vaches ont passé plus de temps à consommer le foin long que l'ensilage, soit 463 et 348 minutes/j respectivement. Les vaches ayant consommé du foin démontraient un nombre plus élevé de coups de mâchoire par unité de matière sèche ou de NDF que celles ayant consommé de l'ensilage. L'ingestion d'ensilage de luzerne a été plus rapide que la consommation de foin de luzerne. L'ensilage haché a déclenché le phénomène de mastication de façon aussi efficace que le foin long. Le temps de rumination et la vitesse de mastication ne comportaient aucune différence malgré la diète servie.

Teller et al. (1990) ont vérifié, chez la vache laitière, les effets de la mastication sur la consommation volontaire de différents types d'ensilage d'herbe. Les activités d'ingestion et de rumination étaient mesurées pendant cinq jours selon le modèle proposé par Beauchemin et al. (1989). Les vaches laitières

ont consacré 10.9 minutes par kg d'ensilage d'herbe consommé comparativement à 15.4 minutes par kg d'ensilage demi-sec consommé. La rumination moyenne par kg de matière sèche ingérée a été évaluée à 31.1 minutes pour l'ensilage d'herbe et à 35.4 minutes pour l'ensilage demi-sec. L'ensilage d'herbe a fait augmenter de 84 % le nombre de coups de mâchoire par kg de matière sèche. Les vaches ont consacré plus d'énergie à consommer l'ensilage d'herbe que l'ensilage demi-sec. La rumination s'est avérée semblable pour les deux diètes, suggérant que la méthode de conservation de l'ensilage n'a pas eu un effet prononcé sur la rumination.

Kovacs et al. (1997) ont vérifié les effets de l'ingestion d'une diète mixte sur la mastication ainsi que sur la taille des particules de fibre dans le rumen et les fèces. Six taureaux ont reçu une ration dont le ratio fourrage : concentrés s'élevait à 68:32. Le rumen était vidangé manuellement quatre fois par jour pour prélever des échantillons de matériel fibreux. La taille moyenne des particules ruminées a diminué de presque 90 % entre la taille initiale à l'ingestion (4.78 mm) et celle retrouvée dans les fèces (0.51 mm). La mastication a été estimée de manière visuelle par une observation à toutes les 5 minutes pendant 48 heures. Ce procédé a déjà été rapporté dans la littérature comme fournissant des résultats très fiables (Lehner, 1979). Le nombre de minutes consacré à la mastication, soit au moment de l'ingestion ou de la rumination, a augmenté en fonction de la quantité d'aliment ingérée. La quantité de particules longues (≥ 4 mm) qui ont échappé à la rumination, entre 3 et 7.5 heures après la distribution des aliments, n'a pas été influencée par la quantité ingérée. La dégradation des particules longues n'a pas été un facteur limitant avec l'utilisation d'une ration mixte.

7. Étude des variations de paramètres sanguins et urinaires en relation avec l'activité ruminale

7.1 Le glucose

La concentration du glucose sanguin peut servir indirectement d'indicateur de la consommation d'aliments, mais les concentrations mesurées sont plutôt utilisées pour détecter les problèmes de l'homéostasie du glucose (Herdt, 2000 ; Whitaker, 1997). Chez la forte productrice, le glucose sanguin traduit bien l'activité de la biomasse du rumen en mettant en évidence la capacité de cette biomasse à produire des substrats cellulaires précurseurs du glucose à partir des nutriments de la ration (Tremblay, 1996). Le glucose sanguin reflète l'efficacité de la gluconéogenèse du foie. Le lactose du lait est produit par le foie, soit 900 g pour une production de 20 kg de lait.

Les variations du glucose sanguin sont associées à la quantité d'acide propionique produite par la biomasse (Burgwald-Balstad et al., 1995). La concentration du glucose sanguin permet de vérifier l'équilibre entre les sources d'hydrates de carbone non-structuraux, soit l'amidon, les sucres et les hydrates de carbone structuraux, soit la paroi cellulaire, l'ADF et la NDF (Tremblay, 1996). Une augmentation des concentrés dans la ration entraîne une élévation du glucose plasmatique (Herdt, 2000). Une augmentation du pourcentage de fourrage dans la ration entraîne une baisse du glucose plasmatique (Dhiman et al., 1991).

Cependant, l'ingestion d'aliments peut causer, chez la vache, une diminution du glucose et une augmentation des corps cétoniques dans le sang (Borrebaek et al., 1990). Ces changements métaboliques sont dûs à l'augmentation d'insuline qui apparaît lors du repas. Le glucose et l'acétoacétate

varient à l'inverse l'un de l'autre au cours de la journée; les corrélations sont de l'ordre de -0.90 pour le matin et de -0.60 pour le soir (Borrebaek et al., 1990).

Knowlton et al. (1998) ont infusé de l'amidon dans le rumen et l'abomasum des vaches en début de lactation pour étudier le métabolisme du glucose. La production laitière et le lactose avaient tendance à augmenter avec l'infusion d'amidon tandis que l'ingestion de matière sèche se trouvait diminuée. L'amélioration de la production laitière pourrait être le résultat d'une meilleure supplémentation en protéines microbiennes ou d'une meilleure disponibilité de l'énergie lorsque l'infusion ruminale d'amidon est utilisée.

Blum et al. (2000) ont étudié les variations diurnales de plusieurs hormones et métabolites chez la vache à deux moments différents, soit à la 9^e et à la 19^e semaine de lactation. Ils ont vérifié les effets de trois diètes sur les métabolites du sang, soit par l'ajout de triglycérides (TGA), d'acides gras libres (AGL) ou d'amidon (STA) à la diète initiale. Avant le début des prélèvements, la concentration de glucose plasmatique était significativement différente entre les groupes de vaches. À la 9^e semaine, le groupe consommant des acides gras libres démontrait une concentration sanguine supérieure en glucose par rapport au groupe recevant de l'amidon.

Les moyennes du glucose plasmatique étaient plus basses en début de lactation (9^e semaine) comparativement à la mi-lactation (19^e semaine), mais elles n'étaient pas significativement différentes entre les groupes. À la 9^e semaine, les variations du glucose s'échelonnaient entre 3.62 et 3.84 mmol/L pour les trois groupes tandis qu'à la 19^e semaine, les valeurs du glucose plasmatique se situaient entre 4.05 et 4.38 mmol/L. À la 9^e semaine, la production laitière

corrigée en énergie et exprimée en kg/j était de 37.2 pour le groupe TGA, de 35.8 pour le groupe FFA et de 36.4 pour le groupe STA. À la 19^e semaine, les productions laitières étaient de 30.4, 27.6 et 30.0 kg/j respectivement.

À la 9^e semaine, les moyennes et écarts-type de glucose plasmatique exprimées en mmol/L étaient de 3.6 ± 0.1 pour le groupe TGA, de 3.9 ± 0.1 pour le groupe AGL et de 3.5 ± 0.2 pour le groupe STA tandis qu'à la 19^e semaine les résultats étaient de 4.2 ± 0.2 , 4.4 ± 0.1 et 4.2 ± 0.1 mmol/L respectivement. La concentration du glucose plasmatique diminue pendant quatre heures après les repas de 07h00 et de 15h00. La réduction observée après 15h00 était plus marquée à la 19^e semaine qu'à la 9^e semaine (Blum et al., 2000).

Blum et al. (1985) ont observé un patron diurnal du glucose sanguin sur une période de 24 heures chez la vache laitière. Le glucose plasmatique augmente durant la nuit chez les vaches laitières (Andersson et Lundström, 1984 ; Blum et al., 1985 ; Clement et al., 1991 ; Fröhli et Blum, 1988), probablement à cause du faible taux d'insuline en circulation qui favorise la gluconéogenèse et diminue la glycolyse (Blum et al., 1985).

7.2 L'urée sanguine

L'urée sanguine est un indicateur de l'équilibre protéines/énergie de la ration (Eicher, 1999 ; Whitaker, 1997) et de la capacité de la biomasse du rumen à bien transformer l'azote alimentaire en composés azotés microbiens (Tremblay, 1996). Le pic de l'urée sanguine survient de 2 à 4 heures après le repas (Gustafsson et Palmquist, 1993) si les vaches sont nourries deux fois par jour. Si

la fréquence des repas est plus élevée, le patron diurnal n'est pas si évident (Lefcourt et al., 1999).

Ropstad et al. (1989) ont étudié les concentrations de l'urée du lait, du plasma et de l'ammoniac du rumen en relation avec la cédule d'alimentation de la vache en début de lactation. La variance attribuable à la vache est de 17.8 % pour l'urée plasmatique. Les concentrations d'urée du lait et du plasma ainsi que la quantité d'ammoniac ruminal sont dépendants de la consommation de protéines par l'animal.

Rodriguez et al. (1997) ont étudié les variations diurnales de l'urée du lait et du plasma chez huit vaches. La dégradabilité des protéines était soit de 29 % ou 41 % et la supplémentation en gras, soit de 0 % ou 2.7 % dans la ration. L'urée plasmatique et l'urée du lait n'ont pas été influencées par la ration. L'urée du plasma et l'urée du lait augmentent deux heures après le repas de 10h00, puis un déclin s'observe à 06h00.

Lefcourt et al. (1999) ont étudié le rythme circadien de l'urée sanguine chez six vaches laitières. L'urée sanguine a présenté un rythme circadien sinusoïdal d'une amplitude de 3.83 mmol/L vers 10h34. Le pic journalier de l'urée ne semblait pas directement relié à la prise alimentaire. La concentration de l'urée sanguine a commencé à s'élever autour de minuit et le pic journalier apparaît avant le repas de 09h00.

7.3 L'azote urinaire

La quantité d'urée excrétée dans l'urine est directement proportionnelle à la concentration d'urée du sang (Ciszuk et Gebregziabher, 1994 ; Jonker et al., 1998). L'azote urinaire provient de plusieurs sources telles que l'ammoniac absorbé par le rumen, la désamination des acides aminés lors de leur absorption intestinale, la transformation des protéines de la diète en acides aminés et en nucléotides microbiens, les pertes dues à l'entretien et la conversion inefficace d'acides aminés utilisés pour la production de lait et de protéines corporelles (Tamminga, 1992).

L'augmentation des protéines alimentaires contribue significativement à augmenter l'excrétion d'azote dans les fèces et l'urine des vaches (Kebreab et al., 2000). Une augmentation de protéines non-dégradables dans la diète entraîne un plus grand volume urinaire de même qu'une plus grande excrétion d'azote urinaire.

Kebreab et al. (2000) ont observé, chez la vache laitière, une réduction de l'azote urinaire en utilisant des diètes à base d'amidon comparativement à des diètes riches en fibre. Chez le mouton, une supplémentation en sucrose dans la diète (Sutoh et al., 1996), dans le rumen (Obara et Dellow, 1994) ou de glucose dans le sang (Matras et Preston, 1989) ont entraîné une diminution de l'excrétion d'azote urinaire. La rétention d'azote s'étend de - 46 à 24 g/j chez la vache laitière (Kebreab et al., 2000).

7.4 L'allantoïne urinaire

La concentration urinaire de l'allantoïne augmente si la proportion de concentrés de la diète augmente (Gonda et al., 1996), car la production de protéines microbiennes transitant vers le duodénum est aussi augmentée. L'allantoïne urinaire peut aussi s'élever avec une augmentation de l'ingestion de matière sèche (Gonda et Lindberg, 1994).

Gonda et Lindberg (1994) ont observé des patrons diurnaux similaires pour l'azote et l'allantoïne urinaire de même que pour l'azote et la créatinine urinaire. Les concentrations des différents métabolites sont plus basses entre 18h00 et 22h00, puis elles augmentent jusqu'à leur valeur maximale autour de 07h30. Cette ressemblance s'explique par les clearances rénales de l'allantoïne et de la créatinine qui se rapprochent l'une de l'autre.

Johnson et al. (1998) considèrent que l'allantoïne urinaire ne doit pas être utilisée pour prédire la synthèse protéique microbienne. Le ratio allantoïne : créatinine de l'urine pourrait devenir un indicateur de l'excrétion journalière des dérivés des purines et ainsi, estimer la production de protéines microbiennes (Chen et al., 1992 ; Gonda et Lindberg, 1994).

7.5 Les électrolytes

L'évaluation des déséquilibres électrolytiques doit comprendre certains éléments essentiels pour mieux cerner le problème. L'âge, le sexe, la race, la gestation et le stade de lactation influencent l'incidence et la sévérité des

désordres reliés aux électrolytes du sang. L'ingestion d'aliments et la consommation d'eau sont également des facteurs importants à considérer.

7.5.1 Le sodium

L'équilibre du sodium sérique s'apparente de très près avec l'équilibre hydrique et la valeur sérique du sodium subit très peu de variation au cours de la journée. L'hyponatrémie peut être due à la diarrhée ou au transfert de sodium dans le lait. L'hypernatrémie peut être associée à une perte d'eau, à un excès de sel dans la ration ou à une ingestion insuffisante d'eau (Smith, 1996).

7.5.2 Les chlorures

La production laitière est reliée positivement à la rétention de chlorures et de potassium dans l'organisme (Silanikove et al., 1997). Un bilan négatif est souvent observé et les chlorures varient de manière différente du sodium. L'état d'hypochlorémie peut accompagner une alcalose métabolique (séquestration des chlorures) ou une compensation de l'acidose respiratoire.

7.5.3 Le potassium

L'hypokaliémie peut être associée à une altération de l'équilibre externe ou interne en potassium. Concernant l'équilibre externe, les pertes gastro-intestinales (diarrhée) peuvent provoquer un état d'hypokaliémie. L'équilibre interne du potassium peut être altéré par une administration rapide de glucose jumelé à de l'insuline. L'hyperkaliémie associée au potassium intracellulaire peut être

engendrée lors d'une acidose métabolique tandis que celle associée au potassium extracellulaire dépend surtout des maladies rénales (Smith, 1996).

7.5.4 Le bicarbonate

La concentration sanguine de bicarbonate est, en grande partie, responsable de la valeur du pH sanguin et elle est associée à l'équilibre acido-basique du sang. Le bicarbonate subit une fluctuation ponctuelle au cours de la journée et peut servir à vérifier l'équilibre énergétique de la ration. Lors d'une acidose métabolique, le pH sanguin diminue de même que la concentration sanguine de bicarbonate. La cétose et la diarrhée figurent parmi les causes possibles de l'acidose métabolique. Lors d'une alcalose métabolique, le pH sanguin et la concentration de bicarbonate du sang augmentent. Les causes les plus probables sont souvent reliées aux problèmes digestifs, soit la séquestration de sodium et de chlorures dans les réservoirs gastriques ou encore à de l'hypokaliémie.

7.6 La clearance et la fraction d'excrétion rénale

Mathématiquement, la valeur de la clearance rénale s'exprime par le volume plasmatique libéré d'une substance X par unité de temps.

$$C_x = \frac{U_x V}{P_x}$$

C_x : clearance de la substance X (en ml/min)

U_x : concentration urinaire de la substance X

V : volume d'urine divisé par le temps de la collecte

P_x : concentration plasmatique de la substance X

La fraction d'excrétion représente le pourcentage de la substance filtrée qui se retrouve dans l'urine. Elle s'obtient en divisant la concentration urinaire de la substance X par sa concentration plasmatique et en divisant ce ratio par la clearance de la créatinine. Le résultat est ensuite multiplié par un facteur de 100 pour obtenir la valeur en pourcentage de la substance X qui a été éliminée par l'urine (Cunningham, 1997). La créatinine est utilisée pour éliminer les effets de la réabsorption d'eau sur la concentration urinaire de la substance X. La clearance rénale de la créatinine se rapproche du taux de filtration glomérulaire et sa concentration sérique est relativement constante chez la vache.

$$FE_x = \frac{U_x/P_x}{U_{cr\acute{e}a}/P_{cr\acute{e}a}} \times 100$$

FE_x : fraction d'excrétion de la substance X (en %)

U_x : concentration urinaire de la substance X

P_x : concentration plasmatique de la substance X

$U_{cr\acute{e}a}$: concentration urinaire de la créatinine

$P_{cr\acute{e}a}$: concentration plasmatique de la créatinine

Fleming et al. (1991) ont prélevé simultanément de l'urine et du sang chez sept vaches non en lactation pour mesurer les clearances et les fractions d'excrétion rénale des électrolytes. Les clearances rénales de la créatinine et du sodium varient significativement entre les vaches, mais non entre les quatre périodes de six heures (Tableau V). Les clearances rénales des chlorures et du phosphore ne varient pas entre les vaches ni entre les périodes tandis que celle du potassium varie de façon significative entre les vaches et les périodes. Les fractions d'excrétion rénale du sodium, du potassium et du phosphore varient entre les vaches à l'intérieur des périodes (Tableau VI). La clearance rénale du potassium est influencée par l'ingestion du potassium alimentaire.

La clearance rénale de la créatinine varie selon la taille de l'animal et le protocole de la collecte d'échantillons. La clearance rénale de la créatinine est corrélée à celle des chlorures. La clearance rénale du sodium ne semble pas corrélée avec aucun autre électrolyte. Les bovins semblent plus retenir le sodium que les chlorures. La clearance rénale des chlorures est corrélée à celle du potassium et du phosphore. L'élimination urinaire du phosphore est caractérisée par des variations diurnales. Les moyennes des fractions d'excrétion rénale n'ont pas varié significativement entre les quatre périodes.

Fleming et al. (1992) ont prélevé simultanément du sang et de l'urine chez 56 vaches en lactation pour déterminer les fractions d'excrétion rénale des électrolytes. Trois groupes ont été formés et divisés selon le stade de la lactation, soit 1-7 jours, 83-112 jours et 175-197 jours. Les fractions d'excrétion rénale du sodium, du potassium et des chlorures n'étaient pas différentes entre les groupes. Seul le phosphore affichait une différence significative entre les groupes. Les valeurs des fractions d'excrétion rénale du phosphore et du potassium de cette étude diffèrent de celles des vaches non en lactation (Fleming, 1991), probablement à cause de la composition différente de la diète. Une forte corrélation a été observée entre les fractions d'excrétion rénale du sodium et des chlorures pour les trois groupes.

Jonker et al. (1998) ont calculé la clearance rénale de l'urée chez 40 vaches à partir de la concentration d'urée du lait et de l'ingestion de matière sèche (azote urinaire = $12.54 \times$ urée du lait en mg/dL). La clearance rénale de l'urée s'élevait à 1254 L/j ou 1.45 ml/min/kg de poids vif.

Michelini et al. (1999) ont prélevé du sang et de l'urine chez 424 vaches. Les vaches consommaient au moins 70 g de sel par jour. Les concentrations urinaires du sodium et du potassium étaient de 61 et 371 mmol/L respectivement. Les fractions d'excrétion rénale étaient de 0.95 % pour le sodium et de 173 % pour le potassium. Dix échantillons d'urine sont nécessaires pour vérifier si la supplémentation en sel d'un troupeau est adéquate.

Les valeurs de référence urinaires utilisées chez les bovins pour l'interprétation des paramètres urinaires sont peu nombreuses. Kaneko et al. (1997) propose des valeurs de référence pour neuf paramètres urinaires et elles sont exprimées en mg ou en mmole par kg de poids vif par jour (Tableau VII).

Tableau V. Clearance rénale des électrolytes chez les bovins.

Électrolyte*	24h00-06h00	06h00-12h00	12h00-18h00	18h00-24h00
Sodium	0.002 ± 0.002	0.01 ± 0.001	0.001 ± 0.006	0.001 ± 0.001
Chlorures	0.012 ± 0.008	0.010 ± 0.006	0.009 ± 0.004	0.012 ± 0.004
Potassium	0.699 ± 0.261	0.869 ± 0.223	0.861 ± 0.191	0.941 ± 0.376
Phosphore	0.004 ± 0.003	0.004 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002
Créatinine	0.447 ± 0.415	0.414 ± 0.272	0.383 ± 0.206	0.447 ± 0.415

* Les données sont exprimées en ml/min/kg de poids vif.
n = 7 vaches non en lactation

Source : Fleming , S.A., E.L. Hunt, J.E. Riviere et K.L. Anderson. 1991. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. Am. J. Vet. Res. 52(1), p.7

Tableau VI. Fraction d'excrétion rénale des électrolytes chez les bovins.

Électrolyte*	24h00-06h00	06h00-12h00	12h00-18h00	18h00-24h00
Sodium	0.67 ± 1.03	0.36 ± 0.27	0.34 ± 0.30	0.22 ± 0.18
Chlorures	3.48 ± 1.70	3.36 ± 2.50	4.18 ± 5.19	2.78 ± 1.33
Potassium	233.7 ± 125.2	327.1 ± 307.7	421.0 ± 555.1	203.7 ± 118.2
Phosphore	1.02 ± 0.79	0.84 ± 0.32	0.63 ± 0.29	0.65 ± 0.34

* Les données sont exprimées en pourcentage (%).
n = 7 vaches non en lactation

Source : Fleming , S.A., E.L. Hunt, J.E. Riviere et K.L. Anderson. 1991. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. Am. J. Vet. Res. 52(1), p.7

Tableau VII. Valeurs de référence urinaires chez les bovins.

Paramètre	Valeur	Unités
Allantoïne	20-60	mg/kg/j
Chlorures	0.10-1.10	mmol/kg/j
Créatinine	15-20	mg/kg/j
Urée-N	23-28	mg/kg/j
Azote total	40-450	mg/kg/j
Potassium	0.08-0.15	mmol/kg/j
Sodium	0.2-1.1	mmol/kg/j
Densité urinaire	1.025-1.045	-
Volume urinaire	17-45	ml/kg/j

Source : Kaneko, J.J., J.W. Harvey et M.L. Bruss. 1997.
 Clinical biochemistry of domestic animals, 5 éd.,
 Academic Press, New York, p.903.

7.7 La créatinine

La créatinine est filtrée par le glomérule et apparaît dans le filtrat glomérulaire à la même concentration que celle du plasma. La créatinine est produite dans le muscle lors du catabolisme de la créatine phosphate. L'élimination urinaire de la créatinine est proportionnelle à la masse musculaire de l'animal. Elle n'est pas influencée par la composition de la diète ni par le stade physiologique de l'animal (Gonda et al., 1996).

Vagnoni et al. (1997) ont démontré des variations significatives du taux d'excrétion urinaire de la créatinine en fonction des vaches et de la période expérimentale. Si le taux d'excrétion de la créatinine est exprimé sur une base de poids vif, la variation liée à la vache se trouve annulée. Le taux d'excrétion de la créatinine urinaire est constant et il est relié à la masse corporelle de l'animal.

Valadares et al. (1999) ont obtenu un taux d'excrétion urinaire de la créatinine de 29 mg/kg de poids vif/j. La clearance rénale de la créatinine s'élevait à 1.41 ml/min/kg de poids vif.

8. Dispositif expérimental

Gonda et Lindberg (1994) ont évalué l'utilisation de l'azote alimentaire en mesurant les concentrations d'urée du sang, de l'urine et du lait. Les concentrations urinaires des dérivés des purines et de la créatinine ont aussi été mesurées. Deux groupes de douze vaches ont été formés, soit LG1 (14^e à 16^e semaine de lactation) et LG2 (26^e à 30^e semaine de lactation). Quatre rations différentes étaient servies aux vaches à l'intérieur de chaque groupe, soit trois

vaches par traitement. Deux concentrations protéiques étaient à l'étude, soit 19 % et 14 % ainsi que deux vitesses de dégradabilité dans le rumen, soit 72 % et 52 %.

La prise d'échantillons s'est étalée sur une période de six semaines. Les vaches du groupe LG1 ont été prélevées pendant les trois premières semaines et celles du groupe LG2, les trois dernières semaines. Du lait, de l'urine et du sang ont été prélevés. Le lait était prélevé lors de chaque traite pendant deux jours consécutifs. La collecte totale de l'urine s'est effectuée sur une période de trois jours à l'aide de harnais. De l'acide sulfurique a été ajouté à la collecte totale de l'urine pour maintenir le pH en-dessous de 4. L'urine a été pesée, puis congelée à -20°C . Des échantillons d'urine ont été prélevés à l'aide d'une stimulation de la vulve à toutes les deux heures le premier jour de la collecte.

Gonda et Lindberg (1997) ont vérifié les effets de la diète sur la concentration d'allantoïne du lait et l'excrétion d'allantoïne urinaire. Douze vaches de la 26^e à la 30^e semaine de lactation ont été utilisées lors de la première expérience et elles produisaient en moyenne 19.2 kg de lait par jour. Quatre diètes avec deux taux différents de protéines, soit 19 % et 14 % et deux vitesses de dégradabilité dans le rumen, soit 72 % et 32 %, ont été servies aux vaches. Au début de la deuxième expérience, les vaches se situaient à leur 19^e semaine de lactation et elles produisaient en moyenne 17.9 kg de lait par jour. Quatre diètes ont été attribuées aux vaches selon un dispositif en carré Latin 4x4. Les diètes différaient entre elles par leur valeur en protéines dans le rumen. La dernière expérience a utilisé quatre vaches se situant à leur 2^e semaine de lactation et affichant une production moyenne de 25.8 kg de lait par jour. Quatre diètes ont été servies à ces vaches selon un dispositif en carré Latin incomplet 2x2. Les diètes différaient entre elles par leur contenu en concentrés et en gras. Une

collecte totale de l'urine s'est effectuée pendant trois jours à l'aide de harnais. L'urine recueillie a été conservée avec de l'acide sulfurique 10 %. L'urine a été pesée à toutes les 24 heures et la concentration d'allantoïne urinaire a été mesurée. La production laitière a été enregistrée sur une période de trois jours. Les échantillons de lait ont été analysés pour déterminer leur concentration en allantoïne.

Lefcourt et al. (1999) ont étudié les rythmes circadiens et ultradiens de l'urée chez six vaches laitières. Des échantillons de sang ont été prélevés de la veine jugulaire à toutes les quinze minutes sur une période de 48 heures à l'aide d'un système automatique (Lefcourt et Bitman, 1985) pour réduire les effets dûs à l'intervention humaine.

Robinson et al. (2000) ont vérifié l'influence d'une infusion abomasale de lysine et de méthionine sur la fermentation dans le rumen, le comportement alimentaire et la performance des vaches laitières. Ils voulaient vérifier si les infusions d'acides aminés provoquaient une réduction de la consommation volontaire chez les vaches. Les vaches étaient regroupées selon un dispositif en carré Latin 4x4. L'expérience comportait quatre traitements et quatre périodes de 28 jours. Les refus d'aliments ont été pesés, puis enlevés à chaque jour entre 13h00 et 14h00. La ration totale mélangée était ajustée à tous les jours pour maintenir un refus quotidien de 5 %. Les vaches avaient accès à la cour extérieure une heure par jour, soit entre 07h30 et 08h30. Les vaches étaient pesées au début et à la fin de chaque période et leur état de chair noté par deux personnes expérimentées.

Les infusions abomasales d'acides aminés se déroulaient en continu sur 28 jours et elles étaient ajustées à toutes les semaines. Les infusions étaient complétées de façon manuelle entre 22h00 et 23h00, puis entre 11h30 et 12h00 à chaque jour. Cette supplémentation représentait les deux tiers de la dose quotidienne administrée à chaque vache. L'apport journalier en acides aminés était ainsi assuré aux vaches en éliminant le besoin continu de pompes qui interfèrent avec les activités normales des vaches telles la pesée et l'exercice. La vitesse de renouvellement abomasal d'acides aminés s'effectue normalement de façon discontinue en relation avec la cédule d'alimentation des animaux (Gill et Robinson, 1995).

L'ingestion d'aliments et la production laitière ont été mesurées la dernière semaine de chaque période expérimentale. Du liquide ruminal a été prélevé à plusieurs reprises le 26^e jour de chaque période et le pH ruminal a été mesuré sur place. Les aliments servis aux vaches ont été pesés en continu et ces mesures ont été enregistrées à toutes les dix minutes dans un fichier informatique pour déterminer le profil d'ingestion. Le comportement alimentaire a été enregistré sur une période de trois jours, soit du 22^e au 24^e jour de chaque période à l'aide de licous spéciaux (Girard et Labonté, 1994).

9. Buts de l'étude

Cette étude permettra de vérifier, chez la vache laitière, l'effet du moment de l'infusion ruminale de sucrose sur le recyclage de l'urée et sur les pertes urinaires azotées. De plus, l'effet des traitements sera vérifié sur l'état métabolique des vaches en mesurant la fluctuation de certaines composantes biochimiques du sang au cours d'une journée, soit le glucose, l'urée, la créatinine, le phosphore, le sodium, le potassium, les chlorures et le bicarbonate. L'étude des variations de certains paramètres sanguins au cours d'une période de 24 heures améliorera ainsi l'interprétation des profils métaboliques.

Les clearances et les fractions d'excrétion rénale de l'urée et des électrolytes seront mesurées pour mieux définir l'excrétion urinaire chez les bovins laitiers. Des relations pourront alors être établies entre les paramètres du comportement alimentaire, du sang et de l'urine.

Cette étude proposera de nouvelles méthodes de valorisation de l'azote alimentaire et métabolique chez la vache laitière. Une réduction des pertes azotées urinaires se perçoit par l'amélioration de la santé des animaux, un coût alimentaire réduit et surtout, la protection de notre environnement.

Effets du profil d'ingestion avec une infusion ruminale de sucrose sur les paramètres sanguins de la vache en lactation

Guylaine Sauvé, Armand Tremblay, Vincent Girard

Département de biomédecine vétérinaire (Sauvé, Tremblay), Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, St-Hyacinthe, Québec J1S 7C6; Institut de Recherche et de Développement Agroenvironnemental (IRDA), Centre de Deschambault, 120 chemin du Roy, Deschambault, Québec G0A 1S0 (Girard).

Auteur correspondant et demande de tirés-à-part au Dre G. Sauvé

Cette recherche a été réalisée grâce à une aide financière accordée par le Fonds du centenaire de la Faculté de médecine vétérinaire.

Cet article sera soumis à l'American Journal of Veterinary Research.

Introduction

L'usage en biochimie clinique des profils métaboliques fut introduit au cours des années 1970 pour améliorer le suivi de la santé des vaches laitières (Payne et al., 1970). Les variations des concentrations sanguines de différents métabolites, si on les compare à une valeur de référence, peuvent nous procurer des informations pertinentes sur l'état métabolique et nutritionnel des vaches et par conséquent, sur les pratiques alimentaires du troupeau (Eicher et al., 1998; Eicher et al., 1999a; Herdt, 2000; Kelly, 1997; Tornquist et Van Saun, 1999; Tremblay, 1996; Van Saun, 1997, 2000; Whitaker, 1997).

Le moment du prélèvement sanguin s'avère un élément important à considérer. Süphke et al. (1989) et Eicher et al. (1999a) ont démontré que les concentrations sanguines du glucose, de l'urée, du β -hydroxybutyrate et des acides gras libres pouvaient varier au cours de la journée.

Lefcourt et al. (1999) ont observé des variations circadiennes et ultradiennes pour les concentrations sanguines de l'urée et de l'insuline chez la vache laitière. L'urée présentait alors un rythme circadien de 24 heures avec possiblement un rythme ultradien de 60 minutes. Les rythmes ultradiens sont fréquents au sein des systèmes biologiques (Lavie et Kripke, 1981) et influencent la composition de certains paramètres sanguins. Ils nous obligent donc à standardiser le moment du prélèvement sanguin ou celui du repas.

Un taux élevé d'urée plasmatique, non seulement augmente les pertes urinaires, mais réduit le taux de conception et affecte également la santé des vaches d'un troupeau (Canfield et al., 1990; Ferguson et Chalupa, 1989; Ferguson, 1996). Quant à l'urée du lait, elle représente une méthode non-

invasive pour vérifier si la ration est équilibrée en protéines (Eicher et al., 1999b; Eicher et al., 1999c).

Kebreab et al. (2000) ont observé chez la vache laitière une réduction de l'azote urinaire avec des diètes à base d'amidon comparativement à des diètes riches en fibre. Chez le mouton, plusieurs études ont permis de démontrer qu'une supplémentation en sucrose dans la diète (Sutoh et al., 1996) et dans le rumen (Obara et Dellow, 1994) diminuait l'excrétion urinaire d'azote.

Notre objectif est d'étudier, chez la vache laitière, l'effet du moment de la supplémentation ruminale de sucrose sur certains paramètres sériques, soit le glucose, l'urée, le phosphore, le potassium et le bicarbonate, puis d'analyser les corrélations entre les variations ultradiennes de ces paramètres sériques et celles du comportement alimentaire quantifiées par la mastication.

Matériels et méthodes

Animaux

Deux vaches Holstein en début de lactation (53 jours) et deux autres en mi-lactation (157 jours) pourvues de fistules ruminales (Bar Diamond Inc., Parna, Idaho, USA) ont été utilisées selon un dispositif en switchback (Sanders et Gaynor, 1987) comportant trois périodes de neuf jours pendant lesquelles deux infusions ruminales de sucrose ont été comparées, soit une infusion de jour (10h00 à 22h00) et une de nuit (22h00 à 09h00). Les vaches recevaient à chaque traite (07h00 et 18h00) une ration totale mélangée isoénergétique et isoprotéique, consommée *ad libitum* (Tableau 1). Les règles de bonne pratique du CCPA (Conseil Canadien de Protection des Animaux de laboratoire) ont été respectées au cours de l'expérience. Les vaches étaient placées dans des stalles individuelles équipées d'auges sur capteur de charge. Un contact magnétique installé sur les licols permettait de compter les coups de mâchoire et un algorithme distinguait la mastication ingestive de la mastication mérycique (Girard et Labonté, 1994).

Ration

La ration totale mélangée (RTM) a été échantillonnée journalièrement lors de chaque période, puis séchée à 60⁰ C pendant 72 heures pour déterminer le contenu en matière sèche. Quatre aliquots de RTM ont été analysés pour déterminer le contenu en protéines brutes (Foss Tecator, Kjeltac auto 1030 analyzer, Silver Spring, Maryland, USA), en ADF, en NDF (Extracteur LABCONCO, Kansas City, Missouri, USA) et en minéraux, soit le calcium, le phosphore, le potassium et le magnésium (ICAP PLASMA 9000, St-Paul, Missouri, USA) (Tableau 2).

Comportement alimentaire

L'ingestion volontaire, la prise d'eau et les autres composantes du comportement alimentaire ont été mesurés à toutes les minutes, pendant 24 heures, soit du jour 8 au jour 9 de chaque période expérimentale (Girard et Labonté, 1994). La consommation d'eau a été relevée à l'aide de compteurs d'eau avec une sortie analogique (Neptune Water Meter, San Jose, California, USA). L'étalonnage de la sortie analogique a été effectué à chaque semaine en comparant les valeurs enregistrées à la lecture des compteurs. Les observations cumulées sur une base horaire, soit la quantité de matière sèche ingérée (kg de M.S./h), le pourcentage journalier d'ingestion volontaire (%/h), la durée de l'ingestion (minutes/h), la fréquence de rumination (coups de mâchoire/h), la durée de rumination (minutes/h) et la consommation d'eau (L/h), représentaient donc le comportement alimentaire dans l'heure qui précédait l'échantillonnage sanguin.

Analyses chimiques

Lait

Des échantillons représentatifs de chaque traite ont été envoyés au Dairy Herd Analysis Service (Ste-Anne de Bellevue, P.Q.) pour l'analyse des composantes du lait, soit la protéine totale, le gras, les solides totaux et l'urée du lait avec le Milk-O-Scan 300[®] (N Foss Electric, Hillerød, Denmark).

Sang

Au jour 7 de chaque période, deux cathéters veineux sont installés dans la veine jugulaire (Micro-Renathane Tubing MRE-080[®]; volume de 0,2 ml) de chaque vache. Le collier masticateur est ajusté à chacune des vaches. Une journée s'avère nécessaire pour vérifier le bon fonctionnement du matériel avant la collecte d'échantillons. Une solution physiologique héparinée

contenant de la pénicilline est utilisée pour maintenir les cathéters fonctionnels entre les prélèvements (250 ml de 0.9 % NaCl + 5 ml Hepalean[®], 1000 U/ml + 10 millions I.U. de pénicilline G). La collecte d'échantillons sanguins s'effectue au jour 9. Les prélèvements sanguins sont effectués à toutes les heures, de 10h00 jusqu'à 09h00 le lendemain matin. La récupération de 10 ml de sang permet la vidange complète et le rinçage du cathéter avant de procéder au prélèvement. Un échantillon sanguin de 12 ml est prélevé à toutes les heures à l'aide d'une seringue sur chaque vache, puis recueilli dans un tube sans anticoagulant. Les échantillons reposent 40 minutes à la température de la pièce avant d'être centrifugés à 4⁰ C à une vitesse de rotation de 3500 RPM pendant 40 minutes. Les sérums sont récoltés, puis mis sur la glace pour être analysés selon le protocole standard des profils métaboliques de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV, St-Hyacinthe, Québec). Les paramètres sériques, soit le glucose, l'urée, la créatinine, le sodium, le potassium, les chlorures, le phosphore et le bicarbonate ont été déterminés par un analyseur biochimique automatisé¹ utilisant des réactifs commerciaux².

Analyses statistiques

Les effets du traitement sur les variations horaires des paramètres sanguins ont été obtenus en regroupant les observations horaires du comportement alimentaire et les valeurs des paramètres sériques à l'aide de contrastes en trois intervalles, soit 10h00-18h00, 18h00-02h00 et 02h-10h00, puis comparées avec la procédure MIXED de SAS[®] (version 6.12) selon un modèle représentant un dispositif en switchback avec observations répétées. L'effet du moment de l'infusion ruminale de sucrose sur les moyennes journalières a été déterminé avec la procédure GLM de SAS[®] (version 6.12). Les différences ont été déclarées significatives à $p < 0.05$. De plus, les valeurs moyennes journalières des différents paramètres ont été comparées

aux valeurs de référence du profil métabolique de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV, St-Hyacinthe, Québec) à l'aide d'un test de t.

1. Synchron CX5, Beckman Coulter, Brea., Calif.
2. Beckman Coulter, Somerset, NJ.

Résultats

L'évolution des variations des paramètres sériques, soit le glucose, le phosphore, l'urée, le potassium, le bicarbonate et l'ingestion de matière sèche a été suivie lors de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation (Figure 1). L'ordonnée du graphique représente la variation horaire exprimée en mmol/L par rapport à la valeur moyenne journalière de chaque paramètre (ligne zéro). Ces valeurs moyennes (Figure 1) sont de 3.31, 2.93, 1.37, 4.06 et 22.2 mmol/L pour le glucose (a), l'urée (b), le phosphore (c), le potassium (d) et le bicarbonate (e) respectivement. Quant à l'ingestion de matière sèche, la valeur moyenne journalière se situe à 0.78 kg/h (f).

Le moment de l'infusion ruminale de sucrose a modifié les valeurs moyennes de l'urée, du potassium et du bicarbonate sériques de même que celles de l'ingestion de matière sèche (Figure 2). La supplémentation énergétique n'a pas altéré le cycle du glucose (a) et du phosphore (b) sur une période de 24 heures (Figure 2). Les valeurs moyennes journalières représentées par la ligne zéro sur le graphique (Figure 2) sont les mêmes que celles de la Figure 1. Les deux courbes de variations représentées sur chacun des graphiques sont parallèles, même si parfois elles s'éloignent un peu l'une de l'autre.

La production laitière journalière était différente pour les deux groupes de vaches. Les deux vaches en début de lactation produisaient respectivement en moyenne 36.1 ± 2.2 et 30.1 ± 2.7 kg de lait par jour et celles en milactation, 22.7 ± 1.8 et 18.3 ± 1.3 kg de lait par jour. La composition du lait affichait une valeur moyenne de 3.23 % pour la protéine et de 4.02 % pour le gras. L'urée du lait se situait en moyenne à 4.32 mmol/L le matin et à 3.84 mmol/L le soir. Les valeurs moyennes des données du comportement

alimentaire et des paramètres sériques sont présentées au Tableau 3. Les données sont exprimées selon le traitement (infusion ruminale de sucrose de jour ou de nuit), les trois périodes expérimentales et les trois intervalles de la journée. Les valeurs moyennes du comportement alimentaire (rumination, consommation d'eau et ingestion de matière sèche) et des paramètres sériques ne varient pas entre les traitements à l'exception de l'urée sérique (sucre de jour = 2.72 mmol/L vs sucre de nuit = 3.14 mmol/L; $p < 0.05$). La valeur sérique moyenne des chlorures est la seule qui varie de façon significative entre les périodes expérimentales (période 1 = 104 mmol/L vs période 2 = 102 mmol/L vs période 3 = 105 mmol/L; $p < 0.05$). Les valeurs moyennes du comportement alimentaire indiquent des différences significatives entre les trois intervalles. Les valeurs sériques moyennes du glucose, du phosphore, du potassium, des chlorures et du bicarbonate indiquent des différences significatives entre les trois intervalles ($p < 0.05$). Cependant, les valeurs sériques moyennes de l'urée, de la créatinine et du sodium n'affichent aucune différence significative entre les trois intervalles.

Les valeurs sériques moyennes du glucose, de l'urée, du phosphore, du sodium, des chlorures, du potassium et du bicarbonate à trois moments différents de la journée (07h00, 11h00, 15h00) ont été comparées aux valeurs moyennes journalières du paramètre correspondant (Tableau 4). Chaque prélèvement (07h00, 11h00, 15h00) comprend 12 observations puisque les quatre vaches sont échantillonnées lors de trois périodes. Quant aux valeurs moyennes journalières, elles comprennent 288 observations, car les quatre vaches sont échantillonnées à 24 reprises lors de trois périodes. Des différences significatives sont observées pour le glucose, l'urée, le phosphore, les chlorures, le potassium et le bicarbonate ($p < 0.05$; $p < 0.01$). La valeur sérique moyenne du sodium n'affiche aucune différence significative entre les heures d'échantillonnage. Les valeurs moyennes journalières ont été ensuite

comparées aux valeurs de référence du profil métabolique de la FMV. Des différences significatives sont observées entre toutes les valeurs moyennes journalières et les valeurs du profil métabolique.

Les variations sériques du glucose, de l'urée et du phosphore en relation avec l'ingestion de matière sèche sont présentées au Tableau 5. Elles ont été obtenues à l'aide de l'analyse spectrale, PROC SPECTRA de SAS[®]. Les variations sériques exprimées par kilogramme de matière sèche (M.S.) ingérée pendant une heure sont de -0.08 ± 0.02 , $+0.15 \pm 0.02$ et de $+0.10 \pm 0.01$ mmol/L pour le glucose, l'urée et le phosphore respectivement. Le délai entre l'ingestion de matière sèche et l'augmentation sérique du paramètre est de 0.6 ± 0.3 , 1.3 ± 0.8 et de 0.2 ± 0.3 heure pour le glucose, l'urée et le phosphore respectivement.

Discussion

Notre objectif est d'établir des relations entre les paramètres sériques et l'ingestion de matière sèche, puis de vérifier l'effet du traitement, soit le moment de la supplémentation ruminale de sucrose sur ces paramètres. Le dispositif en switchback utilisé nécessite trois périodes et deux traitements; la 1^{ère} et la 3^e période sont identiques quant au traitement tandis que la 2^e est à l'inverse des deux autres. Des variations cycliques sont observées au cours des trois périodes de 24 heures pour le glucose, le phosphore, l'urée, le potassium et le bicarbonate sériques (Figure 1). Les variations observées peuvent être associées au repas, au cycle circadien (Clement et al., 1991; Ndibualonji et al., 1997; Van Eenaeme et al., 1990) ou à l'effet du traitement (Brown et al., 1999; Obara et Dellow, 1994).

Un minima s'observe à 19h00 pour le glucose, soit une heure après le repas. La production d'insuline au cours du repas provoque une chute de la glycémie (Blum et al., 1985; Blum et al., 2000; Borrebaek et al., 1990; Clement et al., 1991; Fröhli et Blum, 1988). L'augmentation graduelle de la glycémie s'observe la nuit (Andersson et Lundström, 1984; Clement et al., 1991; Fröhli et Blum, 1988) et elle s'explique par un taux d'insuline plus bas pendant cette période (Blum et al., 1985).

L'augmentation du phosphore sérique semble reliée à l'ingestion de matière sèche (Bortolussi et al., 1996). Cependant, la concentration du phosphore sérique a déjà commencé à s'élever avant même le repas de 18h00 et cela pourrait impliquer la présence d'un cycle circadien.

L'urée sérique atteint une valeur maximale quelques heures après le repas. Ces résultats sont conformes à ceux déjà cités dans la littérature (Blum

et al., 2000; Eicher et al., 1999a; Gustafsson et Palmquist, 1993; Ropstad et al., 1989; Schelcher et al., 1995) et s'expliquent par la libération et l'absorption de l'azote non-protéique lors de la digestion des protéines alimentaires dans le rumen (Morrison et Mackie, 1996; Rodriguez et al., 1997). Lefcourt et al. (1999) affirment que les variations de l'urée sont circadiennes et ne sont pas directement influencées par le repas. Cependant, si la fréquence des repas est élevée (plus de deux par jour), le patron circadien de l'urée n'est pas si évident (Eicher et al., 1999a; Folman et al., 1981; Lefcourt et al., 1999).

Le potassium et le bicarbonate sériques affichent des variations inverses l'un par rapport à l'autre au cours de la journée. Le maintien de l'équilibre acido-basique du sang explique cette relation (Cunningham, 1997). Quant à l'ingestion de matière sèche, un pic important est observé lors du repas de 18h00 et celui-ci est suivi par de nombreux petits repas. Ce comportement alimentaire est normal pour des vaches en lactation (Beauchemin et al., 1990; Robinson et McQueen, 1994).

Les figures 1 et 2 illustrant les variations des paramètres sériques en fonction de leur moyenne journalière ont été conçus d'après le travail de Gonda et Lindberg (1994). Les moyennes journalières du glucose, du potassium et du bicarbonate sont comparables aux données de la littérature tandis que celles de l'urée et du phosphore sont plus basses (Kaneko et al., 1997).

Le traitement n'a pas eu d'effet sur la concentration du glucose sérique (Figure 2a). L'efficacité du mécanisme assurant l'homéostasie du glucose est évidente (Knowlton et al., 1998; Ruckebusch et al., 1991), mais le sucrose infusé est fermenté par les bactéries du rumen pour obtenir l'énergie

nécessaire à la production de protéines microbiennes (Kim et al., 2000; Rooke et al., 1987; Rooke et Armstrong, 1989). Le phosphore sérique (Figure 2b) n'a pas subi de changement important, mais les vaches recevant l'infusion de nuit ont une phosphorémie un peu plus élevée. Le sucrose infusé dans le rumen diminue l'importance de la rumination et ainsi, les pertes salivaires du phosphore sérique (Bell, 1984; Bortolussi et al., 1996).

L'urée, le potassium, le bicarbonate et l'ingestion de matière sèche (Figure 2 c, d, e, f) indiquent quelques différences significatives à certains moments de la journée. Ces différences s'expliquent, pour l'urée, par le traitement de jour qui semble mieux séquestrer l'azote alimentaire en protéines microbiennes.

Les effets du traitement peuvent aussi se prolonger dans les heures qui suivent son arrêt. Le traitement de nuit est responsable de valeurs plus élevées pour le potassium, probablement à cause du taux d'insuline plus bas observé pendant la nuit (Blum et al., 1985). Les variations du bicarbonate sérique s'avèrent significatives lorsque les valeurs de l'infusion de nuit sont inférieures à celles de l'infusion de jour et ce, dans deux des trois cas (02h00 et 07h00). Ces variations peuvent être causées par la production d'acides gras volatils reliés au processus intense de fermentation (Cunningham, 1997; Grummer et al., 1993) ou par les corps cétoniques libérés lors d'un jeûne relatif par rapport aux besoins énergétiques (Borrebaek et al., 1990). Les variations significatives de l'ingestion de matière sèche sont probablement associées au comportement alimentaire individuel de chaque vache. La ration des deux groupes de vaches est décrite aux Tableaux 1 et 2. Cette ration est isoénergétique, isoprotéique et conforme aux normes du NRC (1988).

La supplémentation énergétique de jour a fait diminuer de façon significative la valeur de l'urée sérique (Tableau 3). L'infusion de sucrose entraîne une plus grande rétention d'azote (Ørskov et al., 1999) de même qu'une diminution de la concentration sérique de l'urée. Des résultats similaires ont été obtenus chez le mouton (Sutoh et al., 1996; Obara et Dellow, 1993, 1994). La variation des chlorures entre les périodes peut s'expliquer par des variations de type analytique, c'est-à-dire inter-essai (Kampelmacher et al., 1997).

Les valeurs moyennes ont été regroupées selon trois intervalles de huit heures et les résultats sont présentés au Tableau 3. La rumination (nombre de coups de mâchoire) est moindre entre 10h00 et 18h00. La plus grande partie de la rumination survient pendant la nuit (Woodford et Murphy, 1988). Seulement 36.9 % de la rumination totale prend place entre 05h00 et 17h00 et cette dernière comporte aussi des variations cycliques (Beauchemin et al., 1990). La consommation d'eau suit l'ingestion de matière sèche; lorsque les vaches mangent, elles boivent. Le glucose sérique est plus élevé entre 02h00 et 10h00, probablement à cause du taux d'insuline plus bas la nuit (Blum et al., 1985).

L'urée n'a pas subi de changement significatif entre les trois intervalles. La vitesse d'ingestion varie entre les vaches (Beauchemin et Buchanan-Smith, 1989; Deswysen et al., 1987; Deswysen et al., 1993; Girard et Labonté, 1994). Un plus grand nombre de vaches nous aurait peut-être permis d'observer des différences significatives selon le moment de l'infusion de sucrose pour l'urée.

La stabilité de la créatinine est apparente et elle dépend de la masse musculaire de l'animal (Smith, 1996). Le phosphore est plus bas entre 02h00 et 10h00 et cette valeur peut être associée à l'ingestion de matière sèche plus

faible à ce moment (Bortolussi et al., 1996). Le sodium est stable au cours des trois intervalles. L'homéostasie du sodium est assurée par un système neuro-endocrinien impliquant le rein et elle dépend de l'équilibre hydrique de l'animal (Bannink et al., 1999). Le potassium est plus bas entre 10h00 et 18h00. Cette baisse du potassium est étroitement reliée à une augmentation du bicarbonate afin de maintenir l'équilibre acido-basique du sang. Les chlorures sont un peu plus élevés entre 02h00 et 10h00. Cette variation peut être associée à une consommation réduite en eau pendant la nuit, à une erreur de type analytique, c'est-à-dire inter-essai (Kampelmacher et al., 1997) ou encore à la substitution des chlorures au bicarbonate lors d'une acidose hyperchlorémique (Kaneko et al., 1997). Le bicarbonate est plus bas entre 18h00 et 02h00. Le repas le plus important est à 18h00 et le bicarbonate peut alors être sollicité pour neutraliser les acides produits lors du processus de digestion (Brown et al., 1999).

Sept paramètres sériques ont été comparés à trois temps différents de la journée, soit 07h00, 11h00 et 15h00 pour vérifier s'il existe des différences significatives entre les valeurs et leur moyenne journalière (Tableau 4). Les heures choisies coïncident avec la période habituelle de prélèvement des profils métaboliques. Le glucose comporte des différences significatives pour tous les prélèvements, mais la différence est moindre à 11h00 et à 15h00 ($p < 0.05$). La valeur de l'urée est différente de la moyenne journalière à 07h00 ($p < 0.01$) et à 15h00 ($p < 0.05$). Des différences significatives pour le phosphore s'observent à 11h00 et 15h00 ($p < 0.01$). Seul le sodium n'est pas influencé par le moment du prélèvement. Les chlorures sont différents à 11h00 ($p < 0.01$). Le potassium est différent à 07h00 ($p < 0.05$) et à 11h00 ($p < 0.01$). Le bicarbonate est différent à 11h00 ($p < 0.01$). Les variations observées sont associées au profil d'ingestion des vaches. Le prélèvement de 15h00 est celui qui affiche le moins de différences significatives entre les valeurs et leur

moyenne journalière. Par contre, cette heure tardive (15h00) ne convient pas à l'horaire des praticiens. Il nous apparaît plus plausible d'effectuer le prélèvement entre 11h00 et 15h00.

Nos moyennes journalières ne coïncident pas avec les valeurs de référence du profil métabolique de la FMV (Tableau 4). Nos vaches d'expérience ne sont pas soumises aux mêmes conditions (prélèvements sanguins fréquents, infusion ruminale de sucrose, collier masticateur, luminosité continue sur 24 heures, deux groupes de lactation différents) que les vaches d'un troupeau régulier et cela peut expliquer les différences rencontrées.

L'analyse spectrale (Beauchemin et al., 1990; Deswysen et al., 1993; Lefcourt et al., 1999) nous a permis d'établir une relation entre les variations de trois paramètres sériques (glucose, urée, phosphore) et l'ingestion de matière sèche (Tableau 5). Lorsqu'on se réfère aux écarts-type des références métaboliques (Tableau 4), le glucose et le phosphore varient d'un écart-type lorsque la vache consomme trois kg de matière sèche. Le délai entre l'ingestion et l'augmentation du paramètre sérique s'avère être le plus court pour le phosphore (12 minutes) et le plus long pour l'urée (80 minutes). La réduction postprandiale du glucose (0.08 mmole par kg de matière sèche ingérée) correspond aux variations postprandiales de 0.2 mmole observées par Blum et al. (2000), sachant qu'en moyenne les vaches consomment jusqu'à 3.2 kg de matière sèche pendant la première heure du repas.

Conclusion

Cette expérience nous a permis d'étudier les variations des paramètres sériques et ceux du comportement alimentaire sur une période de 24 heures. Les variations cycliques observées nous incitent à conserver la même fréquence de prélèvement, soit à toutes les heures. L'utilisation de l'analyse spectrale s'avère être un outil intéressant pour étudier ces variations. Cependant, si l'on ne voulait pas effectuer les prélèvements à toutes les heures, la période idéale d'échantillonnage se situerait entre 11h00 et 15h00 selon nos résultats. Le nombre restreint de vaches vient cependant réduire la précision de notre travail. Le traitement a seulement eu un effet significatif sur l'urée sérique si l'on compare l'infusion de jour à celle de nuit. La supplémentation énergétique de jour entraîne une séquestration de l'azote dans le rumen. Les fractions d'excrétion rénale de l'urée et des électrolytes pourraient donc nous apporter des informations supplémentaires pour mieux comprendre le recyclage de l'azote alimentaire et métabolique.

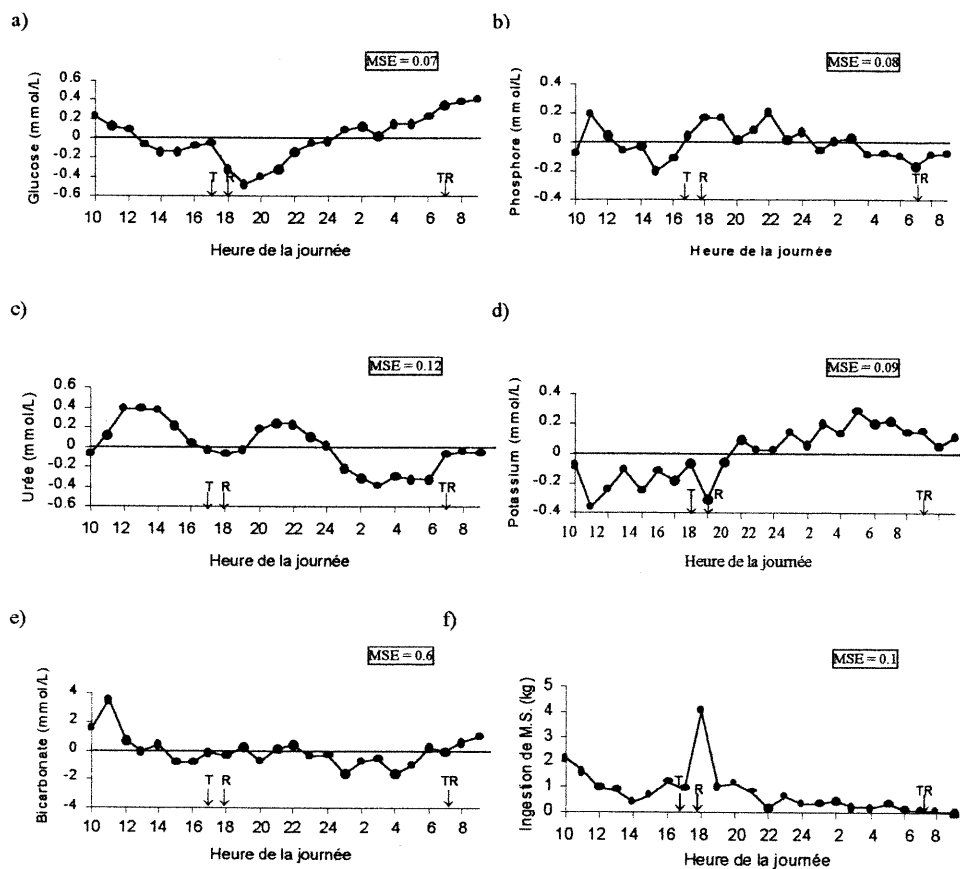


Figure 1. Variations horaires de cinq paramètres sériques au cours de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation (n =12). Ces variations sont exprimées en fonction d'une moyenne journalière.

T= traite R= repas ligne zéro = moyenne journalière (n =288) MSE= mean standard error.

L'ingestion de matière sèche est représentée selon les moyenne observées, donc sans les variations par rapport à la moyenne journalière.

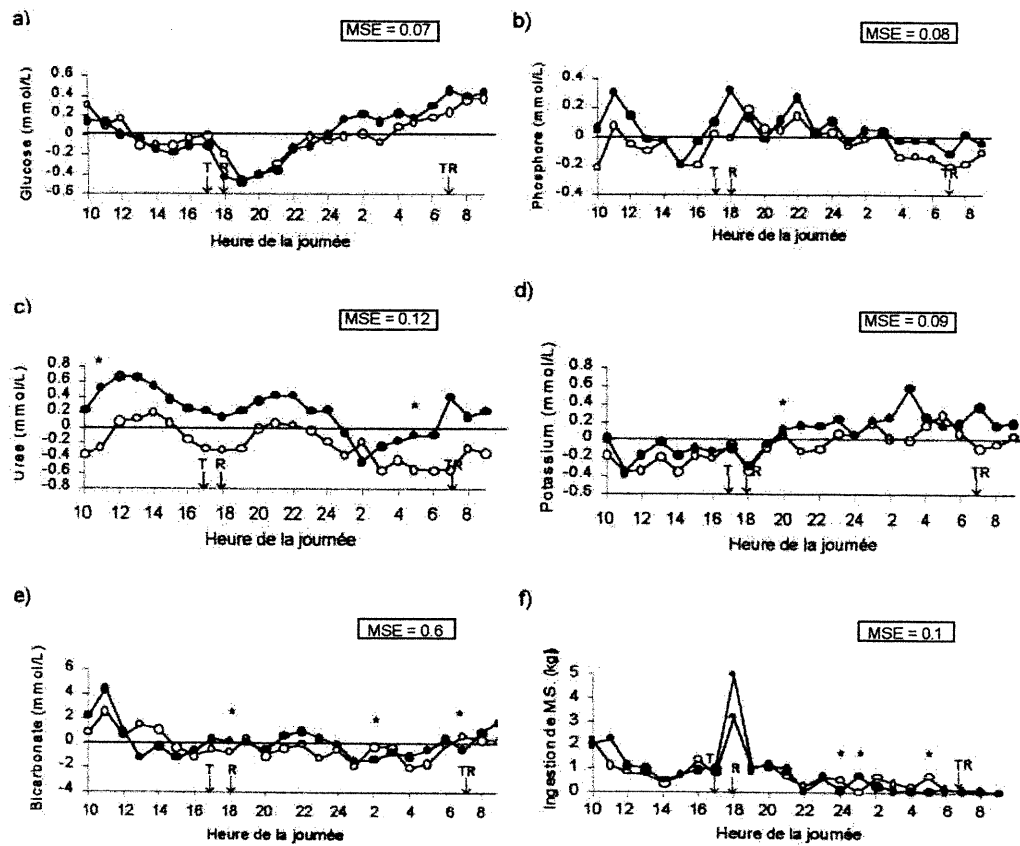


Figure 2. Effets du moment de l'infusion ruminale de sucrose sur cinq paramètres sériques et sur l'ingestion de matière sèche (M.S.) au cours de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation ($n=12$). Les différences significatives ($p < 0.05$) entre la supplémentation énergétique de jour et celle de nuit sont identifiées par (*).

Supplémentation énergétique de jour (o) = 10h00 à 22h00 et celle de nuit (●) = 22h00 à 09h00.

T = traite R = repas ligne zéro = moyenne journalière ($n=288$) MSE = mean standard error

L'ingestion de matière sèche est représentée selon les moyennes observées, donc sans les variations par rapport à la moyenne journalière.

Tableau 1. Description de la ration servie aux deux groupes de vaches (en %).

Aliments	Début de lactation ¹	Mi-lactation ²
Ensilage de luzerne	31.4	38.7
Ensilage de maïs	28.1	30.8
Maïs cassé	28.3	21.4
Tourteau de soya	5.4	3.4
Supplément protéique ³	6.6	5.4
Sel	0.1	0.2
Oxyde de magnésium	0.05	0.08

1) Les vaches en début de lactation ingèrent 24.7 kg de matière sèche par 24 heures.

2) Les vaches en mi-lactation ingèrent 21.6 kg de matière sèche par 24 heures.

3) Avec 44.4% de protéines brutes, 3.33% de calcium, 1.67% de phosphore, 1.11% de magnésium, 2.67% de sodium, 1.22% de potassium, 7.8% d'ADF(acid detergent fiber), 11.1% de NDF(neutral detergent fiber) et 1.56 Mcal/kg d'énergie nette de lactation.

Tableau 2. Composition de la ration (en %).

Nutriments	Début de lactation		Mi-lactation	
	vache 41	vache 50	vache 42	vache 56
Protéines brutes	15.4	16.3	14.3	14.3
Calcium	0.70	0.72	0.81	0.76
Phosphore	0.39	0.41	0.37	0.36
Potassium	1.57	1.61	1.85	1.80
Magnésium	0.23	0.25	0.23	0.28
ADF ¹	25.7	24.4	31.2	31.5
NDF ²	36.1	34.5	44.7	44.7

1) Acid detergent fibre.

2) Neutral detergent fibre.

Tableau 3. Valeurs moyennes des données du comportement alimentaire et des paramètres sériques chez quatre vaches en lactation.

Paramètres	Unités	Traitement ¹		Période	Intervalles			Erreur standard ⁴		
		sucre de jour	sucre de nuit		1	2	3		2h00-10h00 02h00	10h00-18h00
Rumination	coups de mâchoire/heure	1107	1036	1044	1090	1080	1229 ^a	794 ^b	1191 ^a	52
Consommation d'eau	litres/heure	3.1	3.8	4.0	3.2	3.1	0.9 ^a	4.8 ^b	4.5 ^b	0.4
Ingestion de M.S. ²	kg de M.S./heure	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.2 ^a	1.1 ^b	1.1 ^b	0.1
Glucose	mmol/L	3.31	3.32	3.31	3.29	3.33	3.54 ^a	3.30 ^b	3.10 ^b	0.07
Urée	mmol/L	2.72 ^{a3}	3.14 ^b	3.06	2.66	3.07	2.70	3.11	2.98	0.12
Créatinine	mmol/L	93	91	91	93	92	92	92	92	2.0
Phosphore	mmol/L	1.32	1.41	1.41	1.39	1.30	1.30 ^a	1.35 ^{ab}	1.45 ^b	0.08
Sodium	mmol/L	137	138	137	137	138	138	138	137	0.20
Potassium	mmol/L	3.99	4.13	3.99	4.01	4.19	4.22 ^a	3.88 ^b	4.08 ^a	0.09
Chlorures	mmol/L	103	104	104 ^a	102 ^b	105 ^a	104 ^a	103 ^b	103 ^b	0.30
Bicarbonate	mmol/L	22.1	22.3	23.3	22.0	21.2	21.9 ^{ab}	22.7 ^a	21.8 ^b	0.6

1) Infusion ruminale de sucrose de jour (10h00 à 22h00) ou de nuit (22h00 à 09h00).

2) Matière sèche

3) Les moyennes accompagnées d'une lettre indiquent une différence significative ($p < 0.05$) entre elles. Les moyennes qui n'ont pas de lettre sont semblables entre elles.

La procédure MIXED de SAS a été utilisée pour comparer les moyennes entre elles.

4) La valeur de l'erreur standard est valide pour toutes les moyennes de chaque paramètre.

Tableau 4. Comparaison des valeurs moyennes de sept paramètres sériques à trois temps différents de la journée par rapport aux valeurs moyennes journalières et aux valeurs de référence du profil métabolique de la FMV¹.

Paramètres	Unités	Références métaboliques ² n = 210	Moyenne journalière	Test de t ³	Heure d'échantillonnage n = 12		
					07h00	11h00	15h00
Glucose	mmol/L	3.10 ± 0.20	3.31 ± 0.33	*	3.66 ** ⁴	3.43 *	3.17 *
Urée	mmol/L	5.00 ± 1.30	2.93 ± 0.74	*	2.85 **	3.05	3.15 *
Phosphore	mmol/L	2.05 ± 0.30	1.37 ± 0.26	*	1.21	1.56 **	1.17 **
Sodium	mmol/L	140 ± 2	138 ± 2	*	139	138	138
Chlorures	mmol/L	100 ± 2	104 ± 3	*	105	101 **	104
Potassium	mmol/L	4.70 ± 0.35	4.06 ± 0.38	*	4.21 *	3.70 **	3.94
Bicarbonate	mmol/L	27.5 ± 2.0	22.2 ± 2.3	*	22.2	25.7 **	21.3

1) Service de diagnostic, Laboratoire de biochimie, Faculté de médecine vétérinaire.

2) Données utilisées pour évaluer les profils métaboliques des troupeaux laitiers québécois.

Source : Tremblay, A. 1996. Les bilans biochimiques chez les bovins laitiers du Québec. Journées Nationales des GTV, Pathologie et Nutrition, Angers : 283-287.

3) L'astérisque (*) indique une différence significative entre la référence métabolique et la moyenne journalière selon le test de Student (test de t).

4) Significativement différent de la valeur moyenne journalière *: p < 0.05 et **: p < 0.01

Tableau 5. Relation entre l'ingestion volontaire de matière sèche (M.S.) et trois paramètres sériques chez quatre vaches en lactation.

Paramètres	Délai de la réponse ¹ heure	Variations ¹ mmol/L
Glucose	0.6 ± 0.3 ²	-0.08 ± 0.02 ²
Urée	1.3 ± 0.8	$+0.15 \pm 0.02$
Phosphore	0.2 ± 0.3	$+0.10 \pm 0.01$

1) par kg de M.S. ingérée pendant une heure.

2) Ces résultats ont été obtenus à l'aide de l'analyse spectrale.

Bibliographie

Andersson, L. et K. Lundström. 1984. Milk and blood ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows; methodological studies and diurnal variations. *J. Vet. Med. A* 31 : 340-349.

Bannink, A., H. Valk et A.M. Vuuren. 1999. Intake and excretion of sodium, potassium, and nitrogen and the effects on urine production by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82 : 1008-1018.

Beauchemin, K.A. et J.G. Buchanan-Smith. 1989. Effects of dietary neutral detergent fiber concentration and supplementary long hay on chewing activities and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72 : 2288-2300.

Beauchemin, K.A., R.G. Kachanoski, G.B. Schaalje et J.G. Buchanan-Smith. 1990. Characterizing rumination patterns of dairy cows using spectral analysis. *J. Anim. Sci.* 68 : 3163-3170.

Bell, F.R. 1984. Aspects of ingestive behavior in cattle. *J. Anim. Sci.* 59 : 1369-1372.

Blum, J.W., F. Jans, W. Moses, D. Fröhli, M. Zemp, M. Wanner, J.C. Hart, R. Thun et U. Keller. 1985. Twenty four-hour pattern of blood hormone and metabolite concentrations in high-yielding dairy cows : effects of feeding low or high amounts of starch, or crystalline fat. *J. Vet. Med. A* 32 : 401-418.

Blum, J.W., R.M. Bruckmaier, P.-Y. Vacher, A. Münger et F. Jans. 2000. Twenty-four-hour patterns of hormones and metabolites in week 9 and 19 of lactation in high-yielding dairy cows fed triglycerides and free fatty acids. *J. Vet. Med. A* 47 : 43-60.

Borrebaek, B., K. Halse, B. Tveit, H.K. Dahle et L. Ceh. 1990. Plasma glucose, ketone bodies, insulin, glucagon and enteroglucagon in cows : diurnal variations related to ketone levels before feeding and to the ketogenic effects of feeds. *Acta Vet. Scand.* 31 : 5-15.

Bortolussi, G., J.H. Ternouth et N.P. McMeniman. 1996. Dietary nitrogen and phosphorus depletion in cattle and their effects on liveweight gain, blood metabolite concentrations and phosphorus kinetics. *J. Agric. Sci., Cambridge*, 126 : 493-501.

Brown, M.S., D.M. Hallford, M.L. Galyean, C.R. Krehbiel et G. Duff. 1999. Effect of ruminal glucose infusion on dry matter intake, urinary nitrogen composition, and serum metabolite and hormone profiles in Ewes. *J. Anim. Sci.* 77 : 3068-3076.

Canfield, R.W., C.J. Sniffen et W.R. Butler 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73 : 2342-2349.

Clement, C., F. Jans et J.W. Blum. 1991. Hormones and metabolites in lactating dairy cows fed insufficient amounts of protein. *J Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65 : 244-253.

Cunningham, J.G. 1997. Textbook of veterinary physiology, 2^e éd. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 683 p.

Deswysen, A.G., W.C. Ellis et K.R. Pond. 1987. Interrelationships among voluntary intake, eating and ruminating behavior and ruminal motility of heifers fed corn silage. *J. Anim. Sci.* 64 (3) : 835-841.

Deswysen, A.G., P. Dutilleul, J.P. Godfrin et W.C. Ellis. 1993. Nycterohemeral eating and ruminating patterns in heifers fed grass or corn silage : analysis by finite Fourier transform. *J. Anim. Sci.* 71 : 2739-2747.

Eicher, R., E. Fuschini, M. Wanner et P. Rusch. 1998. Multifactorial effect of intrinsic animal factors, season and herd effect on the parameter of metabolic profile in dairy cows : energy and protein metabolism. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* 105(7) : 261-265.

Eicher, R., A. Liesegang, E. Bouchard et A. Tremblay. 1999a. Effect of cow-specific factors and feeding frequency of concentrate on diurnal variations of blood metabolites in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 60 (12) : 1493-1499.

Eicher, R., E. Bouchard et A. Tremblay. 1999b. Cow level sampling factors affecting analysis and interpretation of milk urea concentrations in 2 dairy herds. *Can. Vet. J.* 40 : 487-492.

Eicher, R., E. Bouchard et M. Bigras-Poulain. 1999c. Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentrations in Quebec dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 39 : 53-63.

Ferguson, J.D. et Chalupa, W. 1989. Symposium : interactions of nutrition and reproduction. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci* 72 : 746-766.

Ferguson, J.D. 1996. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 59: 173-184.

Folman, Y., H. Neumark, M. Kaim et W. Kaufmann. 1981. Performance, rumen and blood metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybean. *J. Dairy Sci.* 64 : 759.

Fröhli, D.M. et J.W. Blum. 1988. Nonesterified fatty acids and glucose in lactating dairy cows : diurnal variations and changes in responsiveness during fasting to epinephrine and effects of beta-adrenergic blockade. *J. Dairy Sci.* 71 : 1170-1177.

Girard, V. et J. Labonté. 1994. Continuous registering device for daily feeding behaviour and study of behaviour variability in dairy cows. *Ann. Zootech.* 42 : 49-59.

Gonda, H.L. et J.E. Lindberg. 1994. Evaluation of dietary nitrogen utilization in dairy cows based on urea concentrations in blood, urine and milk, and on urinary concentration of purine derivatives. *Acta Agric. Scand. Sect. A Animal Sci.* 44 : 236-245.

Grummer, R.R., M.L. Luck et J.A. Barmore. 1993. Rumen fermentation and lactation performance of cows fed roasted soybeans and tallow. *J. Dairy Sci.* 76 : 2674-2681.

Gustafsson, A.H. et D.L. Palmquist. 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J. Dairy Sci.* 76: 475-484.

Herd, T.H. 2000. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice* 16 (2) : 387- 403.

Kampelmacher, M.J., R.G. van Kesteren et E.K. Winckers. 1997. Instrumental variability of respiratory blood gases among different blood gas analysers in different laboratories. *Eur. Respir. J.* 10 (6) : 1341-1344.

Kaneko, J.J., J.W Harvey et M.L. Bruss. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5^e édition, Academic Press, San Diego, 931 p.

Kebreab, E., A.R. Castillo, D.E. Beever, D.J. Humphries et J. France. 2000. Effects of management practices prior to and during ensiling and concentrate type on nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83 : 1274-1285.

Kelly, J.M. 1997. The use of metabolic profiles in dairy cows. *Irish Vet. J.* 50 (8) : 494-496.

Kim, K.H., S.S. Lee, B.T. Jeon et C.W. Kang. 2000. Effects of the pattern of energy supply on the efficiency nitrogen utilization for microbial protein synthesis in the non-lactating cows consuming grass silage. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 13 (7) : 962-966.

Knowlton, K.F., T.E. Dawson, B.P. Glenn, G.B. Huntington et R.A. Erdman. 1998. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. *J. Dairy Sci.* 81 : 3248-3258.

Lavie, P. et D.F. Kripke. 1981. Ultradian circa 1 ½ hour rhythms : A multioscillatory system. *Life Sci.* 29 : 2445-2450.

Lefcourt, A.M., J.B. Huntington, R.M. Akers, D.L. Wood et J. Bitman. 1999. Circadian and ultradian rhythms of body temperature and peripheral concentrations of insulin and nitrogen in lactating dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 16(1) : 41-55.

Morrison, M. et R.I. Mackie. 1996. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms : current understanding and future perspectives. *Aust. J. Res.* 47 : 227-246.

National Research Council (NRC). 1988. Nutrient requirements of dairy cattle, 6th ed., National Academy of Sciences, Washington, DC.

Ndibualonji, B.B., D. Dehareng, F. Beckers, C. Van Eenaeme et J.-M. Godeau. 1997. Continuous profiles and within-day variations of metabolites and hormones in cows fed diets varying in alimentary supplies before short-term feed deprivation. *J. Anim. Sci.* 75 : 3262-3277.

Obara, Y. et D.W. Dellow. 1993. Effects of intraruminal infusions of urea, sucrose or urea plus sucrose on plasma urea and glucose kinetics in sheep fed chopped lucerne hay. *J. Agric. Sci.* 121 : 125-130.

Obara, Y. et D.W. Dellow. 1994. Influence of energy supplementation on nitrogen kinetics in the rumen and urea metabolism. *Japan Agricultural research Quaterly* 28 : 143-149.

Ørskov, E.R., D.E. Meehan, N.A. MacLeod et D.J. Kyle. 1999. Effect of glucose supply on fasting nitrogen excretion and effect of level and type of volatile fatty acid infusion on response to protein infusion in cattle. *British J. Nutr.* 81 : 389-393.

Payne, J.M., S. M. Dew, R. Manston et M. Faulks. 1970. The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet. Rec.* 87 : 150-158.

Robinson, P.H. et R.E. McQueen. 1994. Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 1340-1353.

Rodriguez, L.A., C.C. Stallings, J.H. Herber et M.L. McGilliard. 1997. Diurnal variation in milk and plasma urea nitrogen in Holstein and Jersey cows in response to degradable dietary protein and added fat. *J. Dairy Sci.* 80(12) : 3368-3376.

Rooke, J.A., N.H. Lee et D.G. Armstrong. 1987. The effects of intraruminal infusions of urea, casein, glucose syrup and a mixture of casein and glucose syrup on nitrogen digestion in the rumen of cattle receiving grass-silage diets. *British J. Nutr.* 57 : 89-98.

Rooke, J.A. et D.G. Armstrong. 1989. The importance of the form of nitrogen on microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage and continuous intrarumen infusions of sucrose. *British J. Nutr.* 61 : 113-121.

Ropstad, E., L. Vik-mo et A.O. Refsdal. 1989. Levels of milk urea, plasma constituents and rumen liquid ammonia in relation to the feeding of dairy cows during early lactation. *Acta Vet. Scand.* 30 : 199-208.

Ruckebusch, Y., L.-P. Phaneuf et R. Dunlop. 1991. *Physiology of small and large animals*. B.C. Decker Inc., Hamilton, 672 p.

Sanders, W.L. et P.J. Gaynor. 1987. Analysis of switchback data using statistical analysis system, Inc[®] Software. *J. Dairy Sci.* 70 : 2186-2191.

Schelcher, F., J.F. Valarcher, G. Foucras et J. Espinasse. 1995. Profils biochimiques : intérêts et limites. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial "Maladies métaboliques des ruminants" 27 : 25-31.

Smith, B.P. 1996. *Large animal internal medicine*. 2nd ed., Mosby-Year Book Inc., St-Louis, Missouri, 2040 p.

Süphke, V.E, W. Junge, R. Preisinger et E. Kalm. 1989. Substrate, enzyme und hormone bei hochleistungskühen-beziehungen zwischen stoffwechselfparametern und futteraufnahmekriterien. *J. Anim. Breed. Genet.* 106 : 363-372.

Sutoh, M., Y. Obara et S. Miyamoto. 1996. The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *J. Agricultural Sci.* 126 : 99-105.

Tornquist, S.J. et R.J. Van Saun. 1999. Comparison of biochemical parameters in individuals and pooled bovine sera. *Vet. Pathol.* 36 (5) : 487.

Tremblay, A. 1996. Les bilans biochimiques chez les bovins laitiers du Québec. Journées Nationales des GTV, Pathologie et Nutrition, Angers : 283-287.

Van Saun, R.J. 1997. Prepartum nutrition : the key to diagnosis and management of periparturient disease. 30th Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners, Montréal, Québec, 33-42.

Van Eenaeme, C., L. Istasse, A. Gabriel, A. Clinquart, G. Maghuin-Rogister et J.M. Bienfait. 1990. Effects of dietary carbohydrate composition on rumen fermentation plasma hormones and metabolites in growing-fattening bulls. Anim. Prod. 50 : 409-416.

Van Saun, R.J. 2000. Blood profiles as indicators of nutritional status. Proceedings of the 2000 Western Canadian Dairy Seminar, Alberta, vol. 12.

Whitaker, D.A. 1997. Interpretation of metabolic profiles in dairy cows. Irish Vet. J. 50(8) : 498-501.

Woodford, S.T. et M.R. Murphy. 1988. Effect of forage physical form on chewing activity, dry matter intake and rumen function of dairy cows in early lactation. J. Dairy Sci. 71 : 674.

Excrétion urinaire et fractions d'excrétion rénale de l'urée et des électrolytes
chez la vache laitière

Guylaine Sauvé, Armand Tremblay, Vincent Girard

Département de biomédecine vétérinaire (Sauvé, Tremblay), Faculté de
médecine vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, St-Hyacinthe,
Québec J1S 7C6; Institut de Recherche et de Développement
Agroenvironnemental (IRDA), Centre de Deschambault, 120 chemin du Roy,
Deschambault, Québec G0A 1S0 (Girard).

Auteur correspondant et demande de tirés-à-part au Dre G. Sauvé

Cette recherche a été réalisée grâce à une aide financière accordée par le Fonds
du centenaire de la Faculté de médecine vétérinaire.

Cet article sera soumis à Canadian Veterinary Research.

Introduction

Au Canada, les émissions agricoles d'ammoniac ont augmenté d'un facteur de 2,5 entre 1980 et 1995 (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 1999). Cette hausse est liée à l'augmentation du nombre d'animaux d'élevage et à l'accroissement d'engrais commerciaux utilisés. La pollution de l'air par l'ammoniac et de l'eau par les nitrates s'installe progressivement et doit être mieux contrôlée (Dubé, 2000).

De 25 % à 30 % de l'azote consommé par les vaches se retrouve dans le lait; le reste est excrété dans les fèces et l'urine (Rotz et al., 1999). Chez la vache laitière, le maintien de l'urée sanguine à des valeurs inférieures à 5.0 mmol/L est associé à une perte minimale d'azote dans l'urine (Kaneko et al., 1997); la quantité d'urée excrétée dans l'urine étant proportionnelle à la concentration sanguine (Cizuk et Gebregziabher, 1994; Jonker et al., 1998).

Chez la vache, une partie de l'urée recyclée par la salive et sécrétée dans le rumen, sert à la formation de protéines microbiennes (Cunningham, 1997; Petit et Tremblay, 1995). Kebreab et al. (2000) ont observé chez la vache laitière une réduction de l'azote urinaire avec des diètes à base d'amidon comparativement à des diètes riches en fibre. Sutoh et al. (1996) ont obtenu les mêmes résultats chez le mouton avec une diète supplémentée en sucrose. Obara et Dellow (1994) ont utilisé une infusion ruminale de sucrose chez le mouton et l'excrétion urinaire d'azote a également diminué.

Les taux d'urée sérique et urinaire pourraient nous informer sur l'efficacité de l'utilisation de l'azote alimentaire. La fraction d'excrétion rénale de l'urée peut alors nous apporter des informations supplémentaires sur l'excrétion urinaire d'azote (Fleming et al., 1991; Fleming et al., 1992).

Cependant, l'urée sanguine augmentant de deux à quatre heures après le repas (Gustafsson et Palmquist, 1993 ; Rodriguez et al., 1997), il est possible que la synchronisation de l'infusion avec l'augmentation postprandiale de l'urée sanguine puisse améliorer l'effet du supplément énergétique.

Notre objectif est donc d'étudier l'effet du moment de la supplémentation ruminale de sucrose sur l'excrétion urinaire de l'urée, du phosphore, du potassium, du sodium et des chlorures chez la vache laitière. Nous utiliserons les fractions d'excrétion rénale pour vérifier l'effet du traitement sur les paramètres urinaires énoncés.

Matériels et méthodes

Animaux

Deux vaches Holstein en début de lactation (53 jours) et deux en milactation (157 jours) pourvues de fistules ruminales (Bar Diamond Inc., Parma, Idaho, USA) ont été utilisées lors de trois périodes de neuf jours pendant lesquelles deux infusions ruminales de sucrose ont été comparées, soit une infusion de jour (10h00 à 9h00) et une de nuit (22h00 à 10h00) à l'aide d'un dispositif en switchback. Les vaches recevaient à chaque traite (07h00 et 18h00) une ration totale mélangée isoénergétique et isoprotéique, consommée *ad libitum* (Tableau 1). Les règles de bonne pratique du CCPA (Conseil Canadien de Protection des Animaux de laboratoire) ont été respectées.

Ration

La ration totale mélangée a été échantillonnée une fois lors de chaque période et séchée à 60 °C pendant 72 heures pour en déterminer le contenu en matière sèche. Les échantillons d'aliments ont été analysés pour déterminer leur contenu en protéines brutes (Foss Tecator, Kjeltac auto 1030 analyzer, Silver Spring, Maryland, USA), en ADF, en NDF (Extracteur LABCONCO, Kansas City, Missouri, USA) et en minéraux, soit le calcium, le phosphore, le potassium et le magnésium (ICAP PLASMA 9000, St-Paul, Missouri, USA) (Tableau 2).

Sang

Au jour 7 de chaque période, deux cathéters sont installés dans la veine jugulaire de chaque vache (Micro-Renathane Tubing MRE-080[®]; volume de 0,2 ml). Une journée s'avère nécessaire pour vérifier le bon fonctionnement du matériel avant la collecte d'échantillons. Les cathéters veineux sont vérifiés à trois reprises au cours de cette journée. Une solution physiologique héparinée

contenant de la pénicilline est utilisée pour maintenir les cathéters fonctionnels entre les prélèvements (250 ml de 0.9 % NaCl + 10 millions I.U. de pénicilline G + 5 ml Hepalean[®], 1000 U/ml). La collecte d'échantillons sanguins s'effectue au jour 9. Les prélèvements sanguins sont effectués à toutes les heures, de 10h00 jusqu'à 09h00 le lendemain matin. La récupération de 10 ml de sang permet la vidange complète et le rinçage du cathéter avant de procéder au prélèvement. Un échantillon sanguin de 12 ml est prélevé à l'aide d'une seringue à toutes les heures sur chaque vache, puis recueilli dans un tube sans anticoagulant. Les échantillons reposent 40 minutes à la température de la pièce avant d'être centrifugés à 4 °C à une vitesse de rotation de 3500 RPM pendant 40 minutes. Les sérums sont récoltés, puis mis sur la glace pour être analysés selon le protocole standard des profils métaboliques de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV, St-Hyacinthe, Québec). Les paramètres sériques, soit l'urée, la créatinine, le sodium, le potassium, les chlorures et le phosphore ont été déterminés par un analyseur biochimique automatisé¹ utilisant des réactifs commerciaux².

Urine

Au jour 7, une sonde urinaire est mise en place et elle est retenue grâce au ballonnet rempli de saline. Au jour 9, la sonde urinaire est reliée à un réservoir par une tubulure pour effectuer la collecte totale de l'urine sur une période de 24 heures. Les réservoirs d'urine sont pesés, puis vidés trois fois pendant la période de 24 heures. La production cumulative d'urine sera acidifiée et conservée à -20 °C. Un échantillon de 7 ml d'urine est prélevé à toutes les six heures sur chacune des vaches (05h00, 11h00, 17h00, 23h00) et sera conservé à -20 °C. Les paramètres urinaires, soit l'urée, la créatinine, le sodium, le potassium, les chlorures et le phosphore ont été déterminés par un analyseur biochimique automatisé¹ utilisant des réactifs commerciaux² à l'aide d'une méthode de dilution 1 :10 pour l'urée et le potassium seulement.

Fractions d'excrétion rénale

La production totale d'urine au cours des trois périodes de 24 heures a permis d'établir la quantité d'urine produite en ml/minute pour chacune des vaches lors de chaque période. Les fractions d'excrétion de l'urée, du sodium, du potassium, des chlorures et du phosphore ont été calculés à partir des clearances relatives de chacun des paramètres par rapport à la clearance rénale de la créatinine correspondante :

$$C_{\text{créa}} = \frac{U_{\text{créa}} V}{S_{\text{créa}}} \quad (\text{en ml/minute})$$

où $C_{\text{créa}}$, la clearance de la créatinine, représente le volume de sang libéré de la créatinine par unité de temps, $U_{\text{créa}}$ représente la concentration urinaire de la créatinine, V est le volume urinaire produit en ml/minute lors de la collecte et $S_{\text{créa}}$ se définit comme étant la concentration sérique de la créatinine (Cunningham, 1997).

La fraction d'excrétion est ensuite calculée en utilisant la clearance rénale de la créatinine propre à chaque période:

$$FE_X = \frac{U_X / S_X}{U_{\text{créa}} / S_{\text{créa}}} \times 100 \quad (\text{en \%})$$

où FE_X , la fraction d'excrétion de la substance X , représente le taux d'excrétion urinaire de la substance X exprimé en pourcentage par rapport à celui de la créatinine. U_X et S_X représentent respectivement les concentrations urinaire et sérique de la substance X . $U_{\text{créa}}$ et $S_{\text{créa}}$ représentent

respectivement les concentrations urinaire et sérique de la créatinine (Cunningham, 1997).

Analyses statistiques

Les valeurs des paramètres urinaires ont été regroupées en trois intervalles, soit 10h00-18h00, 18h00-02h00 et 02h00-10h00. Les différences entre les valeurs moyennes des intervalles et entre l'effet du moment de l'infusion ruminale de sucrose ont été analysées à l'aide de contrastes avec la procédure MIXED de SAS[®] (version 6.12), puis déclarées significatives à $p < 0.05$.

1. Synchron CX5, Beckman Coulter, Brea., Calif.
2. Beckman Coulter, Somerset, NJ.

Résultats et discussion

Les valeurs moyennes urinaires regroupées selon le traitement, soit la clearance de la créatinine, les fractions d'excrétion rénale (urée, phosphore, potassium), l'excrétion urinaire sur 24 heures (urée, allantoiné) et l'urée sérique, sont présentées au Tableau 3. La clearance de la créatinine n'a pas subi de changement significatif entre les traitements (infusion ruminale de sucrose de jour= 1155 ml/minute et infusion ruminale de sucrose de nuit= 1195 ml/minute). Cela nous indique que la vitesse de perfusion du rein est demeurée stable au cours des traitements. Les vaches pesaient environ 650 kg et si l'on exprime les clearances de la créatinine en ml/minute/kg (sucre de jour= 1.78 ml/minute/kg et sucre de nuit= 1.84 ml/minute/kg), elles peuvent se comparer aux données de Jonker et al. (1998), soit 1.45 ml/minute/kg.

Les fractions d'excrétion rénale de l'urée, du phosphore, du potassium, du sodium et des chlorures ont ensuite été déterminées (Tableau 3). Seule la fraction d'excrétion de l'urée démontre une différence significative entre les traitements (sucre de jour= 35.9 % vs sucre de nuit= 46.8 % ; $p < 0.05$). L'excrétion d'azote urinaire est plus élevée lors de la supplémentation énergétique de nuit. La supplémentation énergétique de jour entraîne une plus grande rétention d'azote. Nous pensons que cet azote a été séquestré par les bactéries du rumen grâce à l'apport énergétique qui s'avère plus efficace lors de l'infusion de jour (Kim et al., 2000; Ørskov et al., 1999). Les fractions d'excrétion du potassium n'ont pas subi de changement significatif entre les traitements (sucre de jour= 67.3 % et sucre de nuit= 65.0 %). Les fractions d'excrétion du sodium (sucre de jour= 0.06 % et sucre de nuit= 0.04 %) et des chlorures (sucre de jour= 0.78 % et sucre de nuit= 0.76 %) sont stables entre les traitements. Elles représentent une fraction négligeable de l'excrétion et l'on ne doit pas leur accorder une grande importance. Michelini et al. (1999)

ont étudié les fractions d'excrétion chez la vache et ils ont obtenu 0.95 % pour le sodium et 54 % pour le potassium. Fleming et al. (1991, 1992) ont démontré que les valeurs moyennes des fractions d'excrétion du sodium, du potassium et des chlorures ne variaient pas de façon significative entre quatre périodes de six heures. La production laitière n'influence pas les valeurs des fractions d'excrétion (Fleming, 1992). Les fractions d'excrétion de l'urée, du phosphore et du potassium sont représentées en fonction du volume urinaire journalier à la Figure 1. Les relations linéaires obtenues nous empêchent d'utiliser ces fractions d'excrétion pour prédire le volume urinaire produit sur une période de 24 heures.

L'excrétion de l'azote urinaire sur une période de 24 heures a aussi été vérifiée. Les résultats obtenus coïncident avec ceux de la fraction d'excrétion (sucre de jour= 2079 mmoles d'urée ou 125g/j vs sucre de nuit= 2612 mmoles d'urée ou 157g/j ; $p < 0.05$). L'excrétion de l'azote urinaire sur 24 heures s'avère plus grande avec la supplémentation énergétique de nuit. Les valeurs d'excrétion d'azote urinaire trouvées par Valadares et al. (1999) se situent entre 238.7 et 342.0 g/j. Gonda et al. (1996) ont obtenu des valeurs se situant entre 122 et 179 g/j pour l'excrétion d'azote urinaire.

L'excrétion de l'allantoïne urinaire sur une période de 24 heures n'indique pas de différence significative selon le traitement (sucre de jour= 325 mmoles et sucre de nuit= 303 mmoles). Giesecke et al. (1994) ont obtenu un taux d'excrétion urinaire similaire pour l'allantoïne, soit de 294 mmoles/j. L'allantoïne urinaire peut servir d'indicateur de la synthèse microbienne (Gonda et al., 1996; Johnson et al., 1998; Valadares et al., 1999). La dégradation des acides nucléiques microbiens absorbés entraîne la formation des dérivés des purines, en grande partie l'allantoïne, qui sera excrétée dans l'urine. L'urée sérique affiche des différences significatives entre les

traitements (sucre de jour= 2.72 mmol/L et sucre de nuit= 3.14 mmol/L; $p<0.05$). Le jour, l'infusion ruminale de sucrose favorise la synthèse protéique microbienne, car ce sont les bactéries du rumen qui séquestrent l'azote à l'aide du sucrose infusé (Kim et al., 2000; Rooke et Armstrong, 1989).

Les valeurs moyennes de l'azote urinaire regroupées selon le traitement ont ensuite été réparties selon trois intervalles de huit heures (Tableau 4). La fraction d'excrétion de l'urée comporte des différences significatives lors de deux intervalles, soit 02h00-10h00 (sucre de jour= 35.9 % vs sucre de nuit= 40.2 % ; $p<0.05$) et 18h00-02h00 (sucre de jour= 37.2 % vs sucre de nuit = 63.7 % ; $p<0.05$). Les vaches ont consommé un repas lors des deux intervalles mentionnés. La diminution du taux d'azote urinaire peut être associée à la séquestration de l'azote par les bactéries du rumen. L'excrétion totale de l'azote urinaire comporte également des différences significatives aux mêmes intervalles, soit 02h00-10h00 (sucre de jour= 617 mmoles d'urée vs sucre de nuit= 759 mmoles d'urée ; $p<0.05$) et 18h00-2h00 (sucre de jour= 687 mmoles d'urée vs sucre de nuit= 1050 mmoles d'urée ; $p<0.05$). L'urée sérique démontre une différence significative entre l'infusion de jour et celle de nuit et ce, à deux moments précis, soit entre 10h00 et 18h00 (sucre de jour= 2.86 mmol/L et sucre de nuit= 3.35 mmol/L; $p<0.05$) puis entre 18h00 et 02h00 (sucre de jour= 2.81 mmol/L et sucre de nuit= 3.10 mmol/L; $p<0.05$). Lors des repas, les bactéries du rumen captent l'azote à l'aide du sucrose infusé et elles produisent des protéines microbiennes (Kim et al., 2000; Rooke et Armstrong, 1989). Nos résultats confirment que l'urée sérique est directement reliée à l'excrétion urinaire d'azote (Jonker et al., 1998).

Conclusion

L'azote urinaire est le seul paramètre ayant démontré des différences significatives entre les infusions et aussi entre les intervalles de huit heures. Ces résultats viennent corroborer ceux obtenus auparavant, soit sur l'urée sérique (article 1). Les fractions d'excrétion nous permettent d'évaluer la clearance rénale relative de l'urée et des électrolytes et ce, sans effectuer de collecte totale d'urine sur 24 heures. Cependant, le volume urinaire produit au cours d'une période de 24 heures ne peut être estimé à partir des fractions d'excrétion. D'autres expériences s'avèrent nécessaires pour trouver une méthode non-invasive nous permettant d'estimer le volume urinaire sur 24 heures.

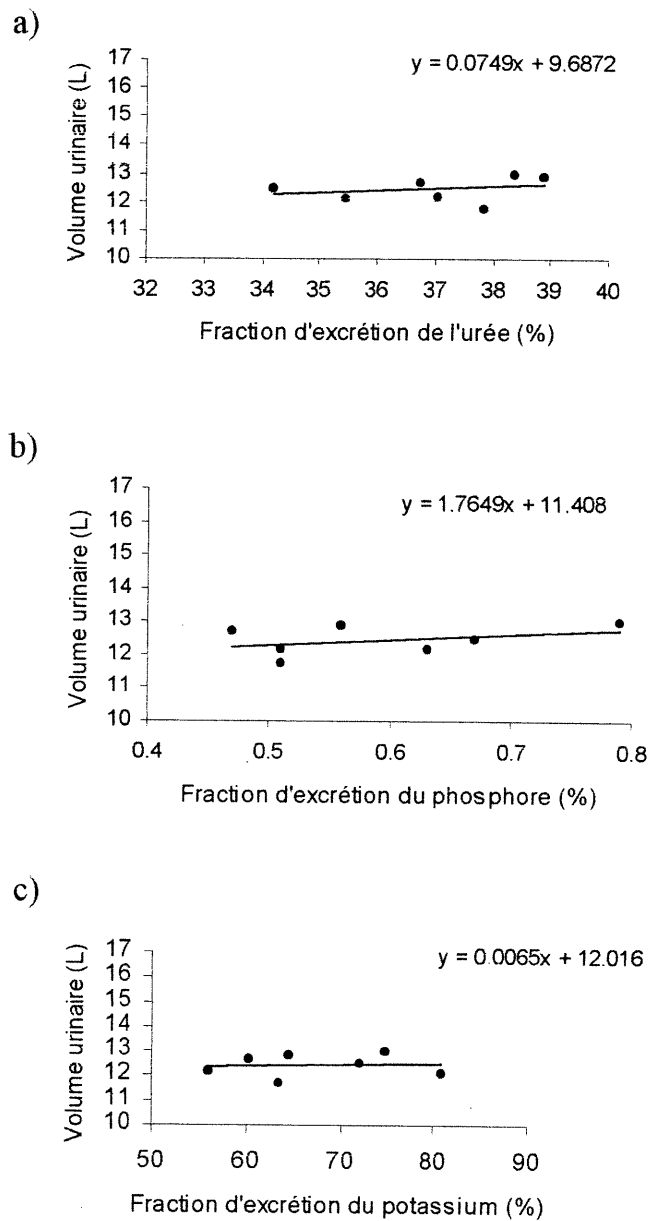


Figure 1. Fractions d'excrétion rénale de l'urée (a), du phosphore (b) et du potassium (c) au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation. Chaque point représente une moyenne de huit vaches. Une vache à une période donnée (#56, 2^e période) a été exclue de l'étude en raison des fractions d'excrétion trop élevées à ce moment.

Tableau 1. Description de la ration servie aux deux groupes de vaches (en %)

Aliments	Début de lactation ¹	Mi-lactation ²
Ensilage de luzerne	31.4	38.7
Ensilage de maïs	28.1	30.8
Maïs cassé	28.3	21.4
Tourteau de soya	5.4	3.4
Supplément protéique ³	6.6	5.4
Sel	0.1	0.2
Oxyde de magnésium	0.05	0.08

1) Les vaches en début de lactation ingèrent 24.7 kg de matière sèche par 24 heures.

2) Les vaches en mi-lactation ingèrent 21.6 kg de matière sèche par 24 heures.

3) Avec 44.4% de protéines brutes, 3.33% de calcium, 1.67% de phosphore, 1.11% de magnésium, 2.67% de sodium, 1.22% de potassium, 7.8% d'ADF(acid detergent fiber), 11.1% de NDF(neutral detergent fiber) et 1.56 Mcal/kg d'énergie nette de lactation.

Tableau 2. Composition de la ration (en %)

Nutriments	Début de lactation		Mi-lactation	
	vache 41	vache 50	vache 42	vache 56
Protéines brutes	15.4	16.3	14.3	14.3
Calcium	0.70	0.72	0.81	0.76
Phosphore	0.39	0.41	0.37	0.36
Potassium	1.57	1.61	1.85	1.80
Magnésium	0.23	0.25	0.23	0.28
ADF ¹	25.7	24.4	31.2	31.5
NDF ²	36.1	34.5	44.7	44.7

1) Acid detergent fibre.

2) Neutral detergent fibre.

Tableau 3. Valeurs moyennes urinaires et sériques selon le traitement au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation.

Paramètres	Unités	Traitement ¹	
		sucre de jour	sucre de nuit
Clearance de la créatinine	ml/minute	1155	1195
Fraction d'excrétion de l'urée	%	35,9 ^{a2}	46,8 ^b
Fraction d'excrétion du phosphore	%	0,57	0,55
Fraction d'excrétion du potassium	%	67,3	65,0
Excrétion totale sur 24 h de l'urée	mmoles	2079 ^a	2612 ^b
Excrétion totale sur 24 h de l'allantoïne	mmoles	325	303
Urée sérique	mmol/L	2,72 ^a	3,14 ^b

1) Infusion ruminale de sucrose de jour (10h00 à 22h00) ou de nuit (22h00 à 09h00).

2) Les moyennes accompagnées d'une lettre indiquent une différence significative ($p < 0,05$) entre elles. Les moyennes qui n'ont pas de lettre sont semblables entre elles.

Tableau 4. Valeurs moyennes de l'azote urinaire et de l'urée sérique par intervalles de huit heures selon le traitement au cours de deux périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation.

Paramètres	Unités	2h00 - 10h00		10h00 - 18h00		18h00 - 2h00	
		jour ¹	nuit	jour	nuit	jour	nuit
Fraction d'excrétion de l'urée	%	35.9 ^{a2}	40.2 ^b	32.7	50.5	37.2 ^a	63.7 ^b
Excrétion totale sur 24 h de l'urée	mmoles	617 ^a	759 ^b	775	802	687 ^a	1050 ^b
Urée sérique	mmol/L	2.47	2.95	2.86 ^a	3.35 ^b	2.81 ^a	3.10 ^b

1) Infusion ruminale de sucrose de jour (10h00 à 22h00) ou de nuit (22h00 à 09h00).

2) Les moyennes accompagnées d'une lettre indiquent une différence significative ($p < 0.05$) entre elles. Les moyennes qui n'ont pas de lettre sont semblables entre elles. Les différences ont été établies à l'aide de PROC MIXED.

Bibliographie

Agriculture et agroalimentaire Canada. 1999. Émissions agricoles d'azote atmosphérique. Bureau de l'environnement.

Ciszuk, A.U. et T. Gebregziabher. 1994. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. *Acta Agric. Scand.* 44 : 87-95.

Cunningham, J.G. 1997. *Textbook of veterinary physiology*, 2^e éd. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 683 p.

Dubé, P. Mars 2000. Le portrait agroenvironnemental des entreprises laitières du Québec : Les faits saillants (1^{ère} partie). Le producteur de lait québécois : 7-12.

Fleming, S.A., E.L. Hunt, J.E. Riviere et K.L. Anderson. 1991. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 52(1) : 5-8.

Fleming, S.A., E.L. Hunt, C. Brownie, A. Rakes et B. McDaniel. 1992. Fractional excretion of electrolytes in lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 53(2) : 222-224.

Giesecke, D., L. Ehrentreich, M. Stangassinger et F. Ahrens. 1994. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 2376-2381.

Gonda, H.L., M. Emanuelson et M. Murphy. 1996. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Techn.* 64 : 27-42.

Gustafsson, A.H. et D.L. Palmquist. 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J. Dairy Sci.* 76: 475-484.

Johnson, L.M., J.H. Harrison et R.E. Riley. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *J. Dairy Sci.* 81(9) : 2408-2420.

Jonker, J.S., R.A. Kohn et R.A. Erdman. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 : 2681-2692.

Kaneko, J.J., J.W Harvey et M.L. Bruss. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5^e édition, Academic Press, San Diego.

Kebreab, E., A.R. Castillo, D.E. Beaver, D.J. Humphries et J. France. 2000. Effects of management practices prior to and during ensiling and concentrate type on nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83 : 1274-1285.

Kim, K.H., S.S. Lee, B.T. Jeon et C.W. Kang. 2000. Effects of the pattern of energy supply on the efficiency nitrogen utilization for microbial protein synthesis in the non-lactating cows consuming grass silage. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 13 (7) : 962-966.

Michelini, F., R. Eicher, P. Tschudi et J. Martig. 1999. Investigations on renal excretion of sodium in dairy cattle. *DTW Dtsch Tierarztl Wochenschr* 106(1) : 18-21.

Obara, Y. et D.W. Dellow. 1994. Influence of energy supplementation on nitrogen kinetics in the rumen and urea metabolism. *Japan Agricultural research Quaterly* 28 : 143-149.

Ørskov, E.R., D.E. Meehan, N.A. MacLeod et D.J. Kyle. 1999. Effect of glucose supply on fasting nitrogen excretion and effect of level and type of volatile fatty acid infusion on response to protein infusion in cattle. *British J. Nutr.* 81 : 389-393.

Petit, H.V. et G.F. Tremblay. 1995. Ruminal fermentation and digestion in lactating cows fed grass silage with protein and energy supplements. *J. Dairy Sci.* 78 : 342-352.

Rodriguez, L.A., C.C. Stallings, J.H. Herber et M.L. McGilliard. 1997. Diurnal variation in milk and plasma urea nitrogen in Holstein and Jersey cows in response to degradable dietary protein and added fat. *J. Dairy Sci.* 80(12) : 3368-3376.

Rooke, J.A. et D.G. Armstrong. 1989. The importance of the form of nitrogen on microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage and continuous intrarumen infusions of sucrose. *British J. Nutr.* 61 : 113-121.

Rotz, C.A., L.D. Satter, D.R. Mertens et R.E. Muck. 1999. Feeding strategy, nitrogen cycling, and profitability of dairy farms. *J. Dairy Sci.* 82 : 2841-2855.

Sutoh, M., Y. Obara et S. Miyamoto. 1996. The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *J. Agricultural Sci.* 126 : 99-105.

Valadares, R.F.D., G.A. Broderick, S.C. Valadares Filho et M.K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 82 : 2686-2696.

Discussion

L'évolution des paramètres sériques et de l'ingestion de matière sèche a été suivie au cours de trois périodes de 24 heures chez quatre vaches en lactation. Des variations cycliques ont donc été observées pour le glucose, le phosphore, l'urée, le potassium et le bicarbonate sériques. Ces variations peuvent être associées à la prise alimentaire, au cycle circadien (Clement et al., 1991; Ndibualonji et al., 1997; Van Eenaeme et al., 1990) ou à l'effet du traitement, soit l'infusion ruminale de sucrose de jour ou de nuit.

Une diminution de la glycémie s'observe après le repas de 18h00. La production d'insuline au cours du repas provoque une chute de la glycémie (Blum et al., 1985; Blum et al., 2000; Borrebaek et al., 1990; Clement et al., 1991; Fröhli et Blum, 1988). L'augmentation graduelle de la glycémie pendant la nuit est aussi imputable à l'insuline (Andersson et Lundström, 1984; Clement et al., 1991) qui affiche alors un taux plus bas pendant cette période (Blum et al., 1985). Les variations du phosphore sérique semblent reliées à l'ingestion de matière sèche (Bortolussi et al., 1996), mais la concentration du phosphore sérique a déjà commencé à s'élever avant le repas de 18h00 et cela pourrait impliquer la présence d'un cycle circadien. L'urée sérique augmente quelques heures après le repas et ces résultats sont conformes à ceux déjà cités par d'autres études (Blum et al., 2000; Eicher et al., 1999; Gustafsson et Palmquist, 1993; Ropstad et al., 1989; Schelcher et al., 1995). La digestion ruminale des protéines alimentaires provoque une augmentation de l'urée sérique par la libération et l'absorption de l'azote non-protéique (Morrison et Mackie, 1996; Rodriguez et al., 1997). L'urée sérique démontre un patron circadien très évident si les vaches ne consomment que deux repas dans la journée (Eicher et al., 1999; Folman et al., 1981; Lefcourt et al., 1999). Cependant, Lefcourt et al. (1999) affirment que l'urée sanguine n'est pas

directement influencée par la prise alimentaire, mais plutôt par un cycle circadien. Le potassium et le bicarbonate sériques affichent des variations inverses l'un par rapport à l'autre au cours de la journée. Ces variations s'expliquent par le maintien de l'équilibre acido-basique et du pH sanguin (Cunningham, 1997). L'ingestion de matière sèche s'avère plus importante à 18h00 et elle est suivie par de nombreux petits repas. Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres études (Beauchemin et al., 1990; Robinson et McQueen, 1994). Les moyennes journalières du glucose, du phosphore, de l'urée, du potassium et du bicarbonate sériques ont été calculées, puis comparées aux données de la littérature (Kaneko et al., 1997). Seules les moyennes journalières de l'urée et du phosphore s'avèrent plus basses que celles de la littérature.

L'effet du moment de la supplémentation énergétique, soit de jour ou de nuit, a été vérifié sur plusieurs paramètres sériques. Le traitement n'a pas eu d'effet sur le glucose sérique. Knowlton et al. (1998) ont constaté que l'homéostasie du glucose est assurée chez les bovins par un mécanisme très efficace. La phosphorémie est légèrement plus élevée chez les vaches recevant l'infusion de nuit. Le sucrose infusé diminue l'importance de la rumination et ainsi, les pertes salivaires de phosphore sérique. L'urée sérique démontre quelques différences significatives entre les traitements au cours de la journée. La supplémentation énergétique de jour semble plus efficace que celle de nuit pour séquestrer l'azote alimentaire en protéines microbiennes (Kim et al., 2000; Rooke et al., 1987; Rooke et Armstrong, 1989). Elle explique ainsi la diminution significative de l'urée sérique. Selon Ørskov et al. (1999), l'infusion de sucrose entraîne une plus grande rétention d'azote dans le rumen. Des résultats similaires ont été obtenus chez le mouton (Sutoh et al., 1996; Obara et Dellow, 1993, 1994). Le potassium sérique s'avère un peu plus élevé chez les vaches recevant l'infusion de nuit, probablement à cause de la

réduction du taux d'insuline pendant cette période (Blum et al., 1985). Le bicarbonate sérique présente quelques différences significatives entre les traitements au cours de la journée. Ces différences peuvent être associées à la production d'acides gras volatils reliés au processus intense de fermentation (Cunningham, 1997) ou aux corps cétoniques libérés lors d'un jeûne relatif par rapport aux besoins énergétiques (Borrebaek et al., 1990).

Les valeurs moyennes sériques du glucose, de l'urée, de la créatinine, du phosphore, du sodium, du potassium, des chlorures, du bicarbonate et celles du comportement alimentaire représentées par la rumination, la consommation d'eau et l'ingestion de matière sèche, ont été regroupées selon trois intervalles de huit heures (02h00-10h00, 10h00-18h00, 18h00-02h00). La rumination s'avère moindre entre 10h00 et 18h00. La majeure partie de la rumination survient pendant la nuit (Woodford et Murphy, 1988; Beauchemin et al., 1990). La consommation d'eau évolue en parallèle avec l'ingestion de matière sèche. Le glucose sérique affiche une concentration plus élevée entre 02h00 et 10h00, probablement à cause de la réduction du taux d'insuline observée la nuit chez la vache laitière (Blum et al., 1985). L'urée n'a pas subi de changement significatif entre les trois intervalles, car la vitesse d'ingestion varie entre les vaches (Beauchemin et Buchanan-Smith, 1989; Deswysen et al., 1987; Deswysen et al., 1993; Girard et Labonté, 1994). La stabilité de la créatinine sérique est apparente et elle dépend de la masse musculaire (Smith, 1996). La phosphorémie plus basse observée entre 02h00 et 10h00 peut être reliée à la prise alimentaire plus faible à ce moment (Bortolussi et al., 1996). Les valeurs sériques du sodium sont très stables, car son homéostasie est assurée par un système neuro-endocrinien impliquant le rein (Cunningham, 1997). Le potassium sérique s'avère plus bas entre 10h00 et 18h00. Cette diminution est étroitement reliée à l'augmentation du bicarbonate pour maintenir le pH sanguin constant. Les chlorures affichent une concentration un

peu plus élevée entre 02h00 et 10h00, mais cette variation peut être associée à une consommation réduite d'eau pendant la nuit, à une erreur de type analytique, c'est-à-dire inter-essai (Kampelmacher et al., 1997) ou encore à une acidose hyperchlorémique (Kaneko et al., 1997). Le bicarbonate sérique s'avère plus bas entre 18h00 et 02h00, car il est sollicité pour neutraliser les acides produits lors du processus de la digestion (Brown et al., 1999).

Les paramètres sériques pris à trois temps différents de la journée, soit 07h00, 11h00 et 15h00, ont été comparés à leur moyenne journalière respective. Le glucose, l'urée et le potassium démontrent des différences significatives à 07h00. Le glucose, le phosphore, les chlorures, le potassium et le bicarbonate affichent des différences significatives à 11h00. Le glucose, l'urée et le phosphore dénotent des différences significatives à 15h00. Les variations observées sont associées au profil d'ingestion des vaches. Le prélèvement de 15h00 comporte peu de différences significatives, mais cette heure tardive ne convient pas à l'horaire de travail des praticiens. La période idéale de prélèvement se situerait donc entre 11h00 et 15h00. Les moyennes journalières ne coïncident pas avec les valeurs de référence du profil métabolique de la Faculté de médecine vétérinaire (St-Hyacinthe, Québec), car les quatre vaches de l'expérience sont soumises à des conditions différentes.

L'analyse spectrale (Beauchemin et al., 1990; Deswysen et al., 1993; Lefcourt et al., 1999) a permis d'établir une relation entre les variations de trois paramètres sériques et la prise alimentaire. Le glucose, l'urée et le phosphore varient respectivement de -0.08 , $+0.15$ et $+0.10$ mmol/L par kg de matière sèche ingérée. Le glucose, l'urée et le phosphore affichent respectivement un délai de 36, 78 et 12 minutes avant que leur concentration sérique ne soit altérée.

Les valeurs moyennes urinaires, soit la clearance de la créatinine, les fractions d'excrétion rénale de l'urée et des électrolytes, puis l'excrétion totale sur 24 heures de l'urée et de l'allantoïne ont été utilisées pour mieux définir l'excrétion urinaire. Ces valeurs ont été regroupées selon le traitement pour comparer les effets de l'infusion de jour à celle de nuit ($p < 0.05$).

La clearance de la créatinine n'a pas subi de changement significatif entre les traitements, nous indiquant que la vitesse de perfusion du rein est demeurée stable. Les fractions d'excrétion rénale de l'urée, du phosphore, du potassium, du sodium et des chlorures ont ensuite été déterminées. Seule la fraction d'excrétion de l'urée démontre une différence significative entre les traitements (jour= 35.9 % ; nuit= 46.8 %). L'excrétion d'azote urinaire s'avère plus élevée avec la supplémentation énergétique de nuit. La supplémentation énergétique de jour entraîne une séquestration de l'azote par les micro-organismes du rumen grâce à l'apport énergétique plus efficace lors de l'infusion de jour (Rooke et al., 1987; Ørskov et al., 1999; Kim et al., 2000). La fraction d'excrétion du potassium est demeurée stable entre les traitements (jour= 67.3 % ; nuit= 65.0 %). Les fractions d'excrétion du sodium (jour= 0.06 % ; nuit= 0.04 %) et des chlorures (jour= 0.78 % ; nuit= 0.76 %) apportent peu d'informations et l'on ne doit pas leur accorder une grande importance. Fleming et al. (1991, 1992) ont démontré que les valeurs moyennes des fractions d'excrétion du sodium, du potassium et des chlorures ne varient pas significativement au cours de quatre périodes consécutives de six heures. Des relations linéaires ont été obtenues lors de la représentation graphique des fractions d'excrétion en fonction du volume urinaire journalier. Ces relations linéaires ne permettent pas l'utilisation des fractions d'excrétion pour prédire le volume urinaire produit en 24 heures.

L'excrétion de l'azote urinaire sur une période de 24 heures démontre des différences significatives entre les traitements (jour= 2079 mmoles d'urée ou 125g/j ; nuit= 2612 mmoles d'urée ou 157g/j). Ces résultats coïncident avec ceux de la fraction d'excrétion de l'urée. La supplémentation énergétique de nuit entraîne une plus grande excrétion d'azote urinaire que celle de jour. Gonda et al. (1996) ont obtenu des résultats variant de 122 à 179 g/j pour l'excrétion d'azote urinaire. L'excrétion de l'allantoïne urinaire sur une période de 24 heures n'indique aucune différence significative entre les traitements (jour= 325 mmoles ; nuit= 303 mmoles). Giesecke et al. (1994) ont obtenu des résultats similaires, soit de 294 mmoles/j. L'allantoïne urinaire peut servir d'indicateur de la synthèse microbienne (Gonda et al., 1996; Johnson et al., 1998; Valadares et al., 1999).

Les valeurs moyennes de l'azote urinaire regroupées selon le traitement ont ensuite été divisées en trois intervalles de huit heures. La fraction d'excrétion de l'urée comporte des différences significatives lors de deux intervalles, soit 02h00-10h00 (jour= 35.9 % ; nuit= 40.2 %) et 18h00-02h00 (jour= 37.2 % ; nuit= 63.7 %). Ces variations peuvent être associées aux repas de 07h00 et de 18h00. L'excrétion totale de l'azote urinaire démontre des différences significatives lors des mêmes intervalles, soit 02h00-10h00 (jour= 617 mmoles d'urée ; nuit= 759 mmoles d'urée) et 18h00-02h00 (jour= 687 mmoles d'urée ; nuit= 1050 mmoles d'urée). L'urée sérique démontre une différence significative entre les traitements lors de deux intervalles, soit entre 10h00 et 18h00 (jour= 2.86 mmol/L ; nuit= 3.35 mmol/L), puis entre 18h00 et 02h00 (jour= 2.81 mmol/L et nuit= 3.10 mmol/L). Ces résultats confirment que la concentration de l'urée sérique est directement reliée à l'excrétion d'azote urinaire (Jonker et al., 1998).

La majeure partie de la rumination se déroule pendant la nuit chez les bovins et l'excrétion d'azote urinaire a été plus élevée avec la supplémentation énergétique de nuit. La supplémentation énergétique de jour a entraîné une diminution de l'urée sérique et du taux d'excrétion de l'azote urinaire. L'hypothèse de recherche doit alors être retouchée en se basant sur ces résultats. Donc, une supplémentation en énergie plus rapidement utilisable pendant les périodes d'ingestion (et non de rumination) réduit les rejets azotés dans l'urine.

Conclusion

Le suivi de l'évolution des paramètres sériques et du comportement alimentaire sur une période de 24 heures chez quatre vaches en lactation a révélé l'existence de variations cycliques parmi certains paramètres. L'analyse spectrale s'est avérée un outil intéressant pour étudier ces variations. Les prélèvements sanguins effectués à toutes les heures pendant 24 heures doivent être maintenus pour observer de telles variations. Nos résultats indiquent que la période idéale d'échantillonnage pourrait se situer entre 11h00 et 15h00. Cependant, le nombre restreint de vaches réduit d'autant la précision de notre travail.

L'infusion ruminale de sucrose a causé des différences importantes sur les concentrations de l'urée sérique. En effet, la supplémentation énergétique de jour entraîne une séquestration plus efficace de l'azote en protéines microbiennes par les micro-organismes du rumen.

Les paramètres urinaires ont par la suite complété notre étude afin de mieux comprendre le processus de recyclage de l'azote alimentaire et métabolique. Les fractions d'excrétion rénale, utilisées pour évaluer les clearances rénales relatives de l'urée et des électrolytes, ne nécessitent pas une collecte totale de l'urine sur 24 heures. Cependant, le volume urinaire produit au cours de la période de 24 heures ne peut pas être estimé à partir de ces fractions d'excrétion. Seul l'azote urinaire a été influencé par l'infusion ruminale de sucrose. La supplémentation énergétique de nuit entraîne une excrétion urinaire d'azote plus élevée comparativement à celle de jour. Ces résultats confirment que la quantité d'urée excrétée dans l'urine est proportionnelle à la concentration sanguine de l'urée.

Une grande partie de la rumination survient pendant la nuit chez les bovins. L'excrétion d'azote urinaire s'est avérée plus élevée avec la supplémentation énergétique de nuit. La supplémentation énergétique de jour a entraîné une diminution de la concentration de l'urée sérique de même qu'une réduction du taux d'excrétion de l'azote urinaire. L'hypothèse de recherche doit alors être retouchée en se basant sur ces résultats. Donc, une supplémentation en énergie plus rapidement utilisable pendant les périodes d'ingestion (et non de rumination) réduit les rejets azotés dans l'urine.

De nouvelles méthodes de valorisation de l'azote alimentaire et métabolique devront être proposées pour réduire les pertes d'azote urinaire des bovins laitiers. D'autres études permettront sûrement de développer et d'améliorer les systèmes de production animale pour les rendre à la fois plus efficaces et plus respectueux des ressources de l'environnement.

Bibliographie

- Agriculture et agroalimentaire Canada. 1999. Émissions agricoles d'azote atmosphérique. Bureau de l'environnement.
- Andersson, L. et K. Lundström. 1984. Milk and blood ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows; methodological studies and diurnal variations. *J. Vet. Med. A* 31 : 340-349.
- Bachand, C. Octobre 1999. Les rejets d'azote et de phosphore par les bovins laitiers. *Le producteur de lait québécois*, 32-34.
- Beauchemin, K.A., S. Zelin, D. Genner et J.G. Buchanan-Smith. 1989. An automatic system for quantification of eating and ruminating activities of dairy cattle housed in stalls. *J. Dairy Sci.* 72 : 2746-2759.
- Beauchemin, K.A., R.G. Kachanoski, G.B. Schaalje et J.G. Buchanan-Smith. 1990. Characterizing rumination patterns of dairy cows using spectral analysis. *J. Anim. Sci.* 68 : 3163-3170.
- Beauchemin, K.A., L.M. Rode et M.V. Eliason. 1997. Chewing activities and milk production of dairy cows fed alfalfa as hay, silage, or dried cubes of hay or silage. *J. Dairy Sci.* 80 : 324-333.
- Blum, J.W., F. Jans, W. Moses, D. Fröhli, M. Zemp, M. Wanner, J.C. Hart, R. Thun et U. Keller. 1985. Twenty four-hour pattern of blood hormone and metabolite concentrations in high-yielding dairy cows : effects of feeding low or high amounts of starch, or crystalline fat. *J. Vet. Med. A* 32 : 401-418.
- Blum, J.W., R.M. Bruckmaier, P.-Y. Vacher, A. Münger et F. Jans. 2000. Twenty-four-hour patterns of hormones and metabolites in week 9 and 19 of lactation in high-yielding dairy cows fed triglycerides and free fatty acids. *J. Vet. Med. A* 47 : 43-60.
- Bock, H.D., B.O. Eggum, A.G. Low, O. Simon et Zebrowska. 1989. Protein metabolism in farm animals. Oxford university Press, Berlin.

Borrebaek, B., K. Halse, B. Tveit, H.K. Dahle et L. Ceh. 1990. Plasma glucose, ketone bodies, insulin, glucagon and enteroglucagon in cows : diurnal variations related to ketone levels before feeding and to the ketogenic effects of feeds. *Acta Vet. Scand.* 31 : 5-15.

Bortolussi, G., J.H. Ternouth et N.P. McMeniman. 1996. Dietary nitrogen and phosphorus depletion in cattle and their effects on liveweight gain, blood metabolite concentrations and phosphorus kinetics. *J. Agric. Sci., Cambridge*, 126 : 493-501.

Brisson, J. Novembre 1999. Quelques pistes pour réduire les rejets d'azote. *Le producteur de lait québécois*, 28-30.

Broderick, G.A. et M.K. Clayton. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80 : 2964-2971.

Brouk, M. et R. Belyea. 1993. Chewing activity and digestive responses of cows fed alfalfa forages. *J. Dairy Sci.* 76 : 175-182.

Brown, M.S., D.M. Hallford, M.L. Galyean, C.R. Krehbiel et G. Duff. 1999. Effect of ruminal glucose infusion on dry matter intake, urinary nitrogen composition, and serum metabolite and hormone profiles in Ewes. *J. Anim. Sci.* 77 : 3068-3076.

Brun, J.P., S. Prache et G. Bechet. 1984. A portable device for eating behaviour studies. In : R. Armstrong et J. Doney (Editors), 5th meeting of European Grazing Workshop. Hill Farming Research Organisation, Midlothian.

Brun-Bellut, J. 1996. Urea recycling in the rumen of dairy goats: Effects of physiological stage and composition of intake. *Small Ruminant Research* 23: 83-90.

Burgwald-Balstad, L.A., J.S. Caton, V.I. Burke et K.C. Olson. 1995. Influence of forage level and naloxone injection on feed intake, digestion, and plasma hormone and metabolite concentrations in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 73 : 2677-2686.

Burke, J.M., C.R. Staples, C.A. Risco, R.L. de la Sota et W.W. Thatcher. 1997. Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance on lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80 : 3386-3398.

Carroll, D.J., F.R. Hossain et M.R. Keller. 1994. Effect of supplemental fish meal on the lactation and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 3058-3072.

Chalupa, W. et C.J. Sniffen. 1991. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice* 7(2) : 353-372.

Chen, X.B. 1989. Excretion of purine derivatives by sheep and cattle and its use for the estimation of absorbed microbial protein. Ph.D. thesis, Aberdeen.

Chen, X.B., G. Grubic, E.R. Ørskov et P. Osuji. 1992. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Anim. Prod.* 55 : 185-191.

Choung, J.J. et D. Chamberlain. 1995. Effects of intraruminal infusion of propionate on the concentrations of ammonia and insulin in peripheral blood of cows receiving an intraruminal infusion of urea. *J. Dairy Research* 62 : 549-557.

Cizuk, A.U. et T. Gebregziabher. 1994. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. *Acta Agric. Scand.* 44 : 87-95.

Clement, C., F. Jans et J.W. Blum. 1991. Hormones and metabolites in lactating dairy cows fed insufficient amounts of protein. *J Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 65 : 244-253.

CPAQ-Conseil des productions animales du Québec inc. 1998. Estimation des rejets d'azote et de phosphore par les animaux d'élevage.

Cunningham, J.G. 1997. Textbook of veterinary physiology, 2^e éd. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 683 p.

de Boer, I.J., H.T. Peters, M. Grossman et W.J. Koops. 1997. Nutrients flows in agriculture in the Netherlands with special emphasis on pig production. *J. Anim. Sci.* 75(8) : 2054-20-63.

- Dehareng, D., B.B. Ndibulaonji et J.M. Godeau 1996. Continuous profiles of ruminal ammonia and plasma urea in dry Friesian cows on hay-based rations. *J. of Anim. Nutr.-Zeitschrift Fur Tierphysiologie Tierernahrung und Futtermittelkunde* 75 : 57-72.
- Deswysen, A.G., W.C. Ellis et K.R. Pond. 1987. Interrelationships among voluntary intake, eating and ruminating behavior and ruminal motility of heifers fed corn silage. *J. Anim. Sci.* 64 (3) : 835-841.
- Deswysen, A.G., P. Dutilleul, J.P. Godfrin et W.C. Ellis. 1993. Nycterohemeral eating and ruminating patterns in heifers fed grass or corn silage : analysis by finite Fourier transform. *J. Anim. Sci.* 71 : 2739-2747.
- Dhiman, T.R., J. Kleinmans, N.J. Tessman, H.D. Radloff, P. Van Evert et L.D. Satter. 1991. Effect of dietary forage : grain ratio on blood constituents in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74(8) : 2691-2695.
- Dimski, D.S. 1994. Ammonia metabolism and the urea cycle : function and clinical implications. *J. Vet. Int. Med.* 8(2) : 73-78.
- Dubé, P. Mars 2000a. Le portrait agroenvironnemental des entreprises laitières du Québec : les faits saillants, 1^{ère} partie. *Le Producteur de lait québécois* : 7-12.
- Dubé, P. Avril 2000b. Le portrait agroenvironnemental des entreprises laitières du Québec : les faits saillants, 2^e partie. *Le Producteur de lait québécois* : 13-18.
- Eicher, R., E. Bouchard et M. Bigras-Poulain. 1999. Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentrations in Quebec dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 39 : 53-63.
- Elrod, C.C. et W.R. Butler. 1992. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.* 71 : 694-701.
- Ferguson, J.D., T. Blanchard, D.T. Galligan, D.C. Hoshall. et W. Chalupa. 1988. Infertility in dairy cattle fed a high percentage of protein degradable in the rumen. *J. Am. Vet. Assoc.*, 192 : 659.
- Ferguson, J.D., D.T. Galligan, T. Blanchard et M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate : The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76 : 3742-3746.

- Ferguson, J.D. 1996. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 59: 173-184.
- Fleming, S.A., E.L. Hunt, J.E. Riviere et K.L. Anderson. 1991. Renal clearance and fractional excretion of electrolytes over four 6-hour periods in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 52(1) : 5-8.
- Fleming, S.A., E.L. Hunt, C. Brownie, A. Rakes et B. McDaniel. 1992. Fractional excretion of electrolytes in lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 53(2) : 222-224.
- Folman, Y., H. Neumark, M. Kaim et W. Kaufmann. 1981. Performance, rumen and blood metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybean. *J. Dairy Sci.* 64 : 759.
- Fröhli, D.M. et J.W. Blum. 1988. Nonesterified fatty acids and glucose in lactating dairy cows : diurnal variations and changes in responsiveness during fasting to epinephrine and effects of beta-adrenergic blockade. *J. Dairy Sci.* 71 : 1170-1177.
- Giesecke, D., L. Ehrentreich, M. Stangassinger et F. Ahrens. 1994. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 2376-2381.
- Gill, M. et P.H. Robinson. 1995. Diurnal patterns in crude protein and amino acid flow in the duodenum and the influence of time of feeding a protein meal to lactating cows. *Ann. Zootech.* 44 (Suppl.) 230 (Abstr.).
- Girard, V. et J. Labonté. 1994. Continuous registering device for daily feeding behaviour and study of behaviour variability in dairy cows. *Ann. Zootech.* 42 : 49-59.
- Goering, H.K. et P.J. Van Soest. 1990. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook No. 379*. Washington, DC, USDA, ARS.
- Gonda, H.L. et J.E. Lindberg. 1994. Evaluation of dietary nitrogen utilization in dairy cows based on urea concentrations in blood, urine and milk, and on urinary concentration of purine derivatives. *Acta Agric. Scand. Sect. A Animal Sci.* 44 : 236-245.

Gonda, H.L., M. Emanuelson et M. Murphy. 1996. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Techn.* 64 : 27-42.

Gonda, H.L. et J.E. Lindberg. 1997. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80 : 364-373.

Gouvernement du Québec. 1992. État de l'environnement au Québec, Ministère de l'Environnement, Guérin.

Gouvernement du Québec. 1999. Règlement sur la réduction de la pollution d'origine agricole, Éditeur officiel du Québec.

Grémy, L. 1994. Agriculture et environnement : interdépendances. *Adour Garonne* : 3-11

Gustafsson, A.H. et D.L. Palmquist. 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J. Dairy Sci.* 76: 475-484.

Herd, T.H. 2000. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice.* 16 (2) : 387-403.

Johnson, L.M., J.H. Harrison et R.E. Riley. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. *J. Dairy Sci.* 81(9) : 2408-2420.

Jonker, J.S., R.A. Kohn et R.A. Erdman. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 : 2681-2692.

Jouany, J.P. 1994. Les fermentations dans le rumen et leur optimisation. *INRA Prod. Anim.* 7(3) : 207-225.

Kampelmacher, M.J., R.G. van Kesteren et E.K. Winckers. 1997. Instrumental variability of respiratory blood gases among different blood gas analysers in different laboratories. *Eur. Respir. J.* 10 (6) : 1341-1344.

Kaneko, J.J., J.W Harvey et M.L. Bruss. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals, 5^e édition, Academic Press, San Diego.

Kebreab, E., A.R. Castillo, D.E. Beever, D.J. Humphries et J. France. 2000. Effects of management practices prior to and during ensiling and concentrate type on nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83 : 1274-1285.

Kim, K.H., S.S. Lee, B.T. Jeon et C.W. Kang. 2000. Effects of the pattern of energy supply on the efficiency nitrogen utilization for microbial protein synthesis in the non-lactating cows consuming grass silage. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 13 (7) : 962-966.

Knowlton, K.F., T.E. Dawson, B.P. Glenn, G.B. Huntington et R.A. Erdman. 1998. Glucose metabolism and milk yield of cows infused abomasally or ruminally with starch. *J. Dairy Sci.* 81 : 3248-3258.

Korevaar. H. 1992. The nitrogen balance on intensive Dutch dairy farms : a review. *Livest. Prod. Sci.* 31 : 17-27.

Kovacs, P.L., Sudekum, K.H. et M. Stangassinger. 1997. Effects of intake level of a mixed diet on chewing activity and on particle size of ruminated boli, ruminal digesta fractions and faeces of steers. *Reprod. Nutr. Dev.* 37(5) : 517-528.

Lapierre, H. et J.F. Bernier, 1996. Le destin de l'azote alimentaire... après le rumen. Journées de recherche et 4^{ième} colloque en Zootechnie. CPAQ-Université Laval. (30 et 31 mai 1996) : 79-93.

Lefcourt, A.M. et J. Bitman. 1985. Method of automatic continuous blood sampling with remote alarm for clogged catheters. *J. Dairy Sci.* 68 : 2108-2114.

Lefcourt, A.M., J.B. Huntington, R.M. Akers, D.L. Wood et J. Bitman. 1999. Circadian and ultradian rhythms of body temperature and peripheral concentrations of insulin and nitrogen in lactating dairy cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* 16(1) : 41-55.

Lehner, P.N. 1979. Handbook of ethological methods. Garland STPM Press, New York, NY.

Lewis, D. 1960. Ammonia toxicity in the ruminant. *Journal of Agricultural Science* 55 : 111-117.

Lindberg, J.E. et M. Murphy. 1991. Rumen metabolism, excretion of purine derivatives and milk composition in dairy cows fed rations with negative and positive protein balance values in the rumen. *Proc. 6th Int. Symp. Protein Metabolism and nutrition*. Herning, Denmark. Vol. 2 : 336-338.

Lockyer, D.R. et D.C. Whitehead. 1990. Volatilization of ammonia from cattle urine applied to grassland. *Soil Biol. Biochem.* 22 : 1137-1142.

Luginbuhl, J.M., K.R. Pond, J.C. Russ et J.C. Burns. 1987. A simple electronic device and computer interface system for monitoring chewing behavior of stall-fed ruminants. *J. Dairy Sci.* 70 : 1307.

Matras, J. et R.L. Preston. 1989. The role of glucose infusion on the metabolism of nitrogen in ruminants. *J. Anim. Sci.* 67(6) : 1642-1647.

McCormick, M.E., D.D. French, T.F. Brown, G.J. Cuomo, A.M. Chapa, J.M. Fernandez, J.F. Betty et D.C. Blouin. 1999. Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci* 82 : 2697-2708.

Melendez, P., A. Donovan et J. Hernandez. 2000. Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 83 : 459-463.

Michelini, F., R. Eicher, P. Tschudi et J. Martig. 1999. Investigations on renal excretion of sodium in dairy cattle. *DTW Dtsch Tierarztl Wochenschr* 106(1) : 18-21.

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec - MAPAQ. 1997. Profil des exploitations agricoles en 1997. Direction de la sécurité du revenu agricole.

Ministry of Agriculture, Fisheries, and Food – MAFF. 1994. Organic manure and nitrate leaching. Pages 11-14 in *Solving the nitrate problem (Progress in Research and Development)*. MAFF Environment. United Kingdom.

Moorby, J.M. et V.J. Theobald. 1999. Short communication : The effect of duodenal ammonia infusions on milk production and nitrogen balance of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82 : 2440-2442.

Morrison, M. et R.I. Mackie, 1996. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. *Aust. J. Agric. Res.* 47: 227-246.

Morse, D. 1995. Environmental considerations of livestock producers. *J. Anim. Sci.* 73 : 2733-2740.

Morse, D. 1996. Impact of environmental regulations on cattle production. *J. Anim. Sci.* 74 : 3103-3111.

Moscardini, S., T.C. Wright, P.H. Luimes, B.W. McBride et P. Susmel. 1998. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen : Comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *J. Dairy Sci.* 81 : 2421-2329.

Ndibualonji, B.B., D. Dehareng, F. Beckers, C. Van Eenaeme et J.-M. Godeau. 1997. Continuous profiles and within-day variations of metabolites and hormones in cows fed diets varying in alimentary supplies before short-term feed deprivation. *J. Anim. Sci.* 75 : 3262-3277.

NRC-National Research Council. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. 6^e édition, National Academy press, Washington, DC.

Obara, Y. et D.W. Dellow. 1993. Effects of intraruminal infusions of urea, sucrose or urea plus sucrose on plasma urea and glucose kinetics in sheep fed chopped lucerne hay. *J. Agric. Sci.* 121 : 125-130.

Obara, Y. et D.W. Dellow. 1994. Influence of energy supplementation on nitrogen kinetics in the rumen and urea metabolism. *Japan Agricultural research Quaterly* 28 : 143-149.

Oldick, B.S., J.L. Firkins et N.R. St-Pierre. 1999. Estimation of microbial nitrogen flow to the duodenum of cattle based on dry matter intake and diet composition. *J. Dairy Sci.* 82 : 1497-1511.

Ørskov, E.R. 1992. Protein nutrition in ruminants. 2nd ed. Acad. Press, London, United Kingdom.

Ørskov, E.R., D.E. Meehan, N.A. MacLeod et D.J. Kyle. 1999. Effect of glucose supply on fasting nitrogen excretion and effect of level and type of volatile fatty acid infusion on response to protein infusion in cattle. *British J. Nutr.* 81 : 389-393.

Peyraud, J.L., S. Le Liboux et R. Vérité. 1997a. Effect of level and nature of degradable nitrogen on rumen digestion with a maize based silage diet in lactating cows. *Reprod. Nutr. Dev.* 37 (3) : 313-328.

Peyraud, J.L., L. Astigarraga et P. Faverdin. 1997b. Digestion of fresh perennial ryegrass fertilized at two levels of nitrogen by lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Tech.* 64 : 155-171.

Robinson, P.H. et R.E. McQueen. 1994. Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 1340-1353.

Robinson, P.H., W. Chalupa, C.J. Sniffen, W.E. Julien, H. Sato, T. Fujieda, T. Ueda et H. Susuki. 2000. Influence of abomasal infusion of high levels of lysine or methionine, or both, on ruminal fermentation, eating behavior, and performance of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 78 : 1067-1077.

Rodriguez, L.A., C.C. Stallings, J.H. Herber et M.L. McGilliard. 1997. Diurnal variation in milk and plasma urea nitrogen in Holstein and Jersey cows in response to degradable dietary protein and added fat. *J. Dairy Sci.* 80(12) : 3368-3376.

Rooke, J.A., N.H. Lee et D.G. Armstrong. 1987. The effects of intraruminal infusions of urea, casein, glucose syrup and a mixture of casein and glucose syrup on nitrogen digestion in the rumen of cattle receiving grass-silage diets. *British J. Nutr.* 57 : 89-98.

Rooke, J.A. et D.G. Armstrong. 1989. The importance of the form of nitrogen on microbial protein synthesis in the rumen of cattle receiving grass silage and continuous intrarumen infusions of sucrose. *British J. Nutr.* 61 : 113-121.

- Ropstad, E., L. Vik-mo et A.O. Refsdal. 1989. Levels of milk urea, plasma constituents and rumen liquid ammonia in relation to the feeding of dairy cows during early lactation. *Acta Vet. Scand.* 30 : 199-208.
- Roseler, D.K., J.D. Ferguson, C.J. Sniffen et J. Herrema. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76 : 525-534.
- Rotz, C.A., L.D. Satter, D.R. Mertens et R.E. Muck. 1999. Feeding strategy, nitrogen cycling, and profitability of dairy farms. *J. Dairy Sci.* 82 : 2841-2855.
- Schelcher, F., J.F. Valarcher, G. Foucras et J. Espinasse. 1995. Profils biochimiques : intérêts et limites. *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial "Maladies métaboliques des ruminants" 27 : 25-31.
- Schepers, A.J. et R.G. Meijer. 1998. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 81(2) : 579-584.
- Silanikove, N., E. Maltz, A. Halevi et D. Shinder. 1997. Metabolism of water, sodium, potassium, and chlorine by high yielding dairy cows at the onset of lactation. *J. Dairy Sci.* 80 : 949-956.
- Smith, B.P. 1996. *Large animal internal medicine*. 2nd ed., Mosby-Year Book Inc., St-Louis, Missouri, 2040 p.
- Sniffen, C.J. et L.E. Chase. 1988. Field application of the degradable protein system. *The application of nutrition in dairy practice*, Wayne, N.J., American Cyanimid.
- Spain, J.N., M.D. Alvarado , C.E. Polan, C.N. Miller et M.L. McGilliard. 1990. Effect of protein source and energy on milk composition in midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73 : 445-452
- Susmel, P., M. Spanghero, B. Stefanon et C.R. Mills. 1995. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and urine of lactating cows. *Livest. Prod. Sci.* 44 : 207-219.

- Sutoh, M., Y. Obara et S. Miyamoto. 1996. The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *J. Agricultural Sci.* 126 : 99-105.
- Symonds, H.W., D.L. Mather et K.A. Collis. 1981. The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolize ammonia. *Br. J. Nutr.* 46 : 481-486.
- Tamminga, S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *J. Dairy Sci.* 75 : 345-357.
- Tamminga, S. 1996. A review of environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74 : 3112-3124.
- Teller, E., M. Vanbelle, P. Kamatali, G. Collignon, B. Page et B. Matatu. 1990. Effects of chewing behavior and ruminal digestion processes on voluntary intake of grass silages by lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 68(11) : 3897-3904.
- Tremblay, A. 1996. Les bilans biochimiques chez les bovins laitiers du Québec. Journées Nationales des GTV, Pathologie et Nutrition, Angers : 283-287.
- Vagnoni, D.B., G.A. Broderick, M.K. Clayton et R.D. Hatfield. 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. *J. Dairy Sci.* 80 : 1695-1702.
- Valadares, R.F.D., G.A. Broderick, S.C. Valadares Filho et M.K. Clayton. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 82 : 2686-2696.
- Van Eenaeme, C., L. Istasse, A. Gabriel, A. Clinquart, G. Maghuin-Rogister et J.M. Bienfait. 1990. Effects of dietary carbohydrate composition on rumen fermentation plasma hormones and metabolites in growing-fattening bulls. *Anim. Prod.* 50 : 409-416.
- Van Horn, H.H., A.C. Wilkie, W.J. Powers et R.A. Norsted. 1994. Components of dairy manure management systems. *J. Dairy Sci.* 77 : 2008-2030.
- Verbic, J., X.B. Chen, N.A. MacLeod et E.R. Ørskov. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *J. Agric. Sci., Camb.* 114 : 243-248.

Vérité, R. 1991. Maîtrise des rejets azotés issus de l'élevage bovin : les possibilités d'action à travers l'alimentation. *Prod. Lait. Moderne* 208 : 140-146.

Whitaker, D.A. 1997. Interpretation of metabolic profiles in dairy cows. *Irish Vet. J.* 50(8) : 498-501.

Wilkerson, V.A., D.R. Mertens et D.P. Casper. 1997. Prediction of excretion of manure and nitrogen by Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80 : 3193-3204.

Woodford, S.T. et M.R. Murphy. 1988. Effect of forage physical form on chewing activity, dry matter intake and rumen function of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 71 : 674.

Wu, Z. et L.D. Satter. 2000. Milk production during the complete lactation of dairy cows fed diets containing different amounts of protein. *J. Dairy Sci.* 83 : 1042-1051.