

Equilibre acido-basique dans le rumen et le sang chez des moutons en situation d'acidose provoquée

L. BROSSARD (1,2), C. MARTIN (1), B. MICHALET-DOREAU (1)

(1) INRA, Unité de Recherche sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès-Champanelle, France

(2) Lallemand Animal Nutrition, 19 rue des Briquetiers, BP 59, 31702 Blagnac Cedex, France

RESUME - Chez le ruminant en production, l'ingestion de régimes riches en céréales entraîne des modifications ruminales conduisant à une chute de pH et l'apparition d'états d'acidose latente. Dans cet essai, 4 moutons ont reçu consécutivement un régime témoin (100% foin), un régime acidogène (60% blé + 40% foin), puis à nouveau le régime témoin. Nous avons étudié les variations du pH ruminal en relation avec les principaux constituants des systèmes tampons d'une part ruminaux, déterminés par titrimétrie, et d'autre part sanguins. La baisse de pH ruminal avec le régime acidogène s'explique avant repas par une diminution du pouvoir tampon des bicarbonates et une augmentation de celui des AGV. Après repas, l'effet régime sur le pH ruminal ne s'explique pas par les variations des pouvoirs tampon de ces 2 espèces chimiques. Parallèlement, le pH et la concentration en bicarbonates au niveau sanguin tendent à diminuer pendant et après l'acidose, suggérant une diminution des réserves alcalines au niveau de l'organisme.

Acido-basic balance in rumen and blood in induced acidotic sheep

L. BROSSARD (1,2), C. MARTIN (1), B. MICHALET-DOREAU (1)

(1) INRA, Unité de Recherche sur les Herbivores, Theix, 63122 St Genès-Champanelle, France

SUMMARY - In ruminant, ingestion of high cereals diets involves large ruminal modifications leading to a pH fall and to the appearance of latent acidosis states. In this study, 4 sheep received consecutively a control diet (100% hay), an acidotic diet (60% wheat + 40% hay), and again the control diet. We studied variations of ruminal pH in relation with the major components of buffer system in rumen, determined by titrimetry, and in blood. Ruminal pH fall successive to the rich diet ingestion can be explained before feeding by a decrease in bicarbonates buffer capacity and an increase in AGV buffer capacity. After feeding, diet effect on ruminal pH can't be explained by variations in buffer capacity of these two chemical species. In parallel, pH and bicarbonates concentration in blood tend to decrease during and after acidotic state, suggesting a decrease in body alkaline reserves.

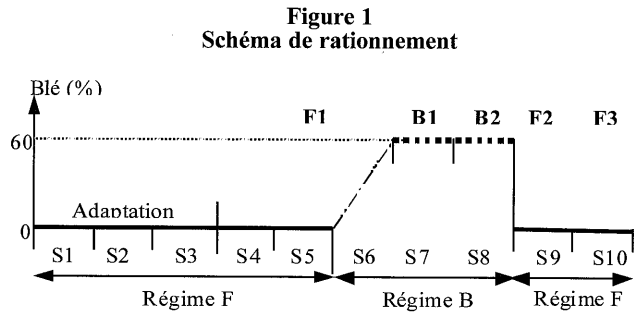
INTRODUCTION

En France, les ruminants en production (lait, viande) sont conduits avec des rations riches en glucides rapidement fermentescibles. Ces rations peuvent entraîner des modifications ruminales conduisant à une chute du pH et à l'apparition d'état d'acidose. Parmi les différents stades d'acidose ruminale, aujourd'hui l'acidose aiguë est devenue rare pour laisser place à l'acidose latente (acidose subaiguë prolongée) beaucoup plus discrète, mais qui atteint un plus grand nombre d'animaux dans toutes les filières de production. Cet état est extrêmement coûteux car il est à l'origine de pertes de production et de coûts de traitements liés à l'apparition d'autres troubles de santé (diarrhées, ruminite, infections mammaires). Peu d'études existent sur la caractérisation de l'acidose latente, car elle est de diagnostic difficile, contrairement à l'acidose aiguë. Le pH ruminal est le critère le plus utilisé comme indicateur de ce déséquilibre acido-basique, sans permettre d'en caractériser la cause. Pour cela, il est nécessaire de faire appel à une méthode analytique telle que la titrimétrie qui met en évidence les principaux constituants des systèmes tampons du contenu ruminal. L'objectif de notre essai était de mettre en relation les variations de pH et les principaux constituants des systèmes tampons ruminaux et sanguins sur des ovins en situation d'acidose latente provoquée par un régime acidogène. Cette relation a été étudiée pendant la période de distribution de la ration acidogène et lors du retour à la ration témoin.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. ANIMAUX, REGIMES ET SCHEMA EXPERIMENTAL

4 moutons mâles castrés de race Texel âgés de 3 ans et canulés du rumen, ont été utilisés dans cet essai. Les animaux, alimentés en 2 repas par jour espacés de 12 h, ont reçu successivement 2 régimes : un régime constitué de 100 % de foin de luzerne (F) et un régime acidogène contenant 40 % d'amidon (% MS) et composé de 60 % de blé et 40 % de foin de luzerne (B). Ces 2 régimes ont été distribués en alternance selon le schéma de rationnement suivant (figure 1).



Trois semaines avant le début de l'expérience (S1-S3), les animaux ont été adaptés au régime F et alimentés à volonté. Les

2 semaines suivantes (S4-S5), le régime F a été offert en quantité limitée (90 % *ad libitum*) à raison de 1,5 kg MS / jour. L'incorporation de la céréale a été ensuite progressive (10% par jour) mais rapide (6 jours) pour atteindre la ration finale de 60 % de blé et 40 % de foin (S6). Les animaux ont ensuite été maintenus sur le régime B pendant 2 semaines (S7-S8), puis remis sans transition sur le régime F durant 2 semaines (S9-S10). La durée totale de l'expérience a été de 10 semaines et 5 périodes expérimentales d'une semaine ont ainsi été définies : F1, 5^{ème} semaine sur régime F ; B1 et B2, 2^{ème} et 3^{ème} semaines sur le régime B ; F2 et F3, 1^{ère} et 2^{ème} semaines après le retour sur le régime F.

1.2. MESURES REALISEES

1.2.1. pH en continu

Etant donné l'importance du pH ruminal dans la définition de l'acidose, un intérêt particulier a été porté à ce paramètre en le mesurant en continu durant les 5 périodes expérimentales. Chaque mouton était équipé d'une sonde à pH lestée pour la maintenir dans le sac ventral. Le système était relié à un boîtier électronique enregistrant le pH toutes les 5 minutes. Les pH moyen, minimum et maximum, le temps sous pH 6 et l'aire sous pH 6 ont été calculés quotidiennement à partir des cinétiques obtenues.

1.2.2. analyse titrimétrique

Pendant chacune des 5 périodes expérimentales, un échantillon de contenu ruminal a été prélevé dans le sac ventral avant repas, 3 h et 6 h après le repas du matin, sur 2 jours consécutifs durant F1, F2 et F3, et sur 3 jours consécutifs durant B1 et B2. Après filtration (250 µm), le pouvoir tampon du jus ruminal a été mesuré par titrimétrie. Cette technique consiste en la titration des échantillons par des solutions normales d'HCl et de soude. A partir de la courbe de titration rapportant la quantité d'acide ou de base ajoutée aux variations de pH, il est possible de calculer la « courbe dérivée première » représentant l'évolution du pouvoir tampon en fonction de l'échelle des pH (Brugère *et al*, 1984). Les principaux constituants des systèmes tampons du rumen ont été identifiés par la position de leur pic vis à vis d'échelle des pH et par leur valeur de pK : le lactate (pK=3,7), les AGV (pK=4,8), les bicarbonates avec une première fonction acide (pK=6,2) et une deuxième fonction acide (pK=10,2), et le NH₃ (pK=9,3).

1.2.3. paramètres sanguins

Un échantillon (2 ml) de sang a été prélevé au niveau de la veine jugulaire 3h après le repas du matin les mêmes jours que le jus ruminal. Il était aussitôt traité par un analyseur automatique (IRMA SL 2000) pour la détermination du pH, de la concentration en bicarbonates ([HCO₃⁻]), du contenu total en CO₂ (TCO₂ = somme du CO₂ dans les bicarbonates et du CO₂ dissous) et de l'excès de base (Beb = quantités de bases titrables, fonction de [HCO₃⁻], du pH et du taux d'hémoglobine).

Tableau 1
Paramètres du pH ruminal

	F1	B1	B2	F2	F3	SE	FvsB	B1vsB2	F2vsF3	F1vsF2+F3
Moyen	6,48	5,91	6,04	6,63	6,50	0,097	***	NS	NS	NS
Minimum	6,12	5,34	5,52	6,25	6,13	0,114	***	NS	NS	NS
Maximum	6,89	6,65	6,69	7,08	6,98	0,068	***	NS	NS	NS
Temps sous pH 6 (h)	0,41	12,81	11,49	0,01	0,51	1,50	***	NS	NS	NS
Aire sous pH 6 (unité pH.h)	0,05	4,83	4,37	0	0,05	0,72	***	NS	NS	NS

NS : Non significatif ; * : significatif à 5% ; ** : significatif à 1% ; *** : significatif à 1%.

1.3. ANALYSES STATISTIQUES

Les résultats ont été analysés selon la procédure GLM de SAS (1988) avec comme effets principaux la période expérimentale (n=5) et l'animal (n=4). Dans cet essai, l'effet temps et l'effet période sont confondus. Cependant, les animaux étant physio-

logiquement stables (adultes et non productifs), nourris en quantité limitée et maintenus dans un environnement contrôlé, l'effet temps peut être considéré comme négligeable. L'analyse a été réalisée par heure de prélèvement pour les données titrimétriques et sanguines.

Les contrastes orthogonaux ont permis de tester les effets suivants : distribution d'un régime acidogène (F vs B), adaptation au régime acidogène (B1 vs B2), retour à l'état initial après une acidose (F2 vs F3 et F1 vs F2+F3)

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. EFFET D'UNE RATION ACIDOGENE (F vs B)

La ration acidogène a un effet significatif ($P < 0,001$; tableau 1) sur tous les paramètres du pH ruminal. Avec le régime B, le pH ruminal chute de 0,5, 0,7 et 0,3 unité pH pour les pH moyen, minimum et maximum respectivement, et reste 12 h sous pH 6 contre seulement 0,5 h avec le régime F. Les valeurs observées correspondent à celles définies par Sauvante *et al* (1999) pour caractériser une acidose latente. Quel que soit le régime considéré, les AGV, les deux fonctions acide des bicarbonates et le NH_3 ont été identifiés par titrimétrie comme les différents partenaires de l'équilibre acido-basique ruminal (tableau 2). La présence de lactate n'a pas été mise en évidence par cette technique, ce qui confirme les faibles concentrations ($< 2 \text{ mM}$; non présenté ici) mesurées pour les 2 régimes. En effet, lors d'une acidose latente, le lactate ne s'accumule pas contrairement aux situations d'acidose aiguë (Owens *et al*, 1998). De plus, le pouvoir tampon du NH_3 ne montre pas de variations significatives entre régimes

($P > 0,05$) et reste faible par rapport au pouvoir tampon lié aux AGV et aux bicarbonates. Aussi, le lactate et le NH_3 ne seront pas considérés dans la discussion. Avant repas, le pouvoir tampon lié aux AGV est plus élevé avec le régime B ($P < 0,01$), à l'inverse du pouvoir tampon lié aux 2 fonctions des bicarbonates ($P < 0,01$ et $0,05$, respectivement). Donc le pH plus faible avec le régime B qu'avec le régime F s'expliquerait à la fois par une augmentation du pouvoir tampon des AGV et par une diminution de celui des bicarbonates. En effet, avant repas, une bonne corrélation existe pour les 2 régimes entre le pH et d'une part le pouvoir tampon des AGV ($R^2 = 0,70$) et d'autre part le pouvoir tampon des 2 fonctions acides des bicarbonates ($R^2 = 0,52$ et $0,55$, respectivement) Après repas, pour les 2 régimes, le pouvoir tampon des AGV augmente et celui des 2 fonctions acides des bicarbonates diminue, comme l'ont observé Fernandez *et al* (2000) sur des vaches laitières nourries à l'ensilage de maïs. En effet, la production d'AGV après repas acidifie le milieu ruminal et contribue au déplacement de l'équilibre des bicarbonates vers la production de CO_2 . Le pouvoir tampon des AGV après repas n'est pas modifié par le régime acidogène ($P > 0,05$) mais celui de la première fonction acide des bicarbonates augmente ($P < 0,001$). Ces résultats peuvent s'expliquer par une augmentation de la vitesse d'absorption des AGV occasionnée par la diminution du pH

Tableau 2
Pouvoirs tampons liés aux différentes espèces de l'équilibre acide-base ruminal ((moles $\text{H}^+ \cdot \text{UpH}^{-1}$) $\times 10^3$)

	Régime F	Régime B		Régime F			Effet			
Paramètre et heure / repas	F1	B1	B2	F2	F3	SE	FvsB	B1vsB2	F2vsF3	F1vsF2+F3
AGV										
-1h	5,77	7,37	5,98	5,41	5,65	0,28	**	**	NS	NS
+3h	9,78	9,60	9,25	8,25	9,68	0,64	NS	NS	NS	NS
+6h	8,31	8,92	7,74	7,76	8,50	0,46	NS	NS	NS	NS
NH ₃										
-1h	1,43	0,63	1,20	1,57	1,23	0,55	NS	NS	NS	NS
+3h	2,49	1,04	1,46	1,26	1,77	0,43	NS	NS	NS	NS
+6h	1,14	1,07	0,4	0,45	0,48	0,32	NS	NS	NS	NS
Bicarbonates pK ₁ = 6,25										
-1h	3,71	3,06	3,09	4,97	4,30	0,42	**	NS	NS	NS
+3h	0,38	2,14	3,02	0,33	0,78	0,32	***	NS	NS	NS
+6h	1,30	1,86	2,42	0,33	0,35	0,25	***	NS	NS	**
Bicarbonates pK ₂ =10,25										
-1h	4,14	2,91	3,20	4,47	3,62	0,39	*	NS	NS	NS
+3h	2,66	2,32	2,98	2,63	3,11	0,45	NS	NS	NS	NS
+6h	2,35	2,05	3,63	2,21	3,39	0,64	NS	NS	NS	NS

NS : Non significatif ; * : significatif à 5% ; ** : significatif à 1% ; *** : significatif à 1‰.

Tableau 3
Paramètres sanguins

	Régime F	Régime B		Régime F		SE	Effet				
	F1	B1	B2	F2	F3		FvsB	B1vsB2	F2vsF3	F1vsF2+F3	
pH	7,423	7,412	7,417	7,408	7,388	0,007	NS	NS	*	*	
$[\text{HCO}_3^-]$, mM	26,85	26,20	25,70	25,18	24,70	0,52	NS	NS	NS	**	
TCO_2 , mM	28,05	27,38	26,90	25,90	25,90	0,53	NS	NS	NS	**	
BeB, mM	3,48	2,70	2,45	1,83	0,98	0,48	NS	NS	NS	**	

NS : Non significatif ; * : significatif à 5% ; ** : significatif à 1% ; *** : significatif à 1‰.

ruminal observée avec le régime B (Dijkstra J. *et al*, 1993). Ceci induit en réponse une augmentation de la vitesse d'entrée des bicarbonates du sang vers le rumen (Stevens, 1970). Cet effet régime n'est pas visible sur la deuxième fonction acide des bicarbonates, car la diminution du pH ruminal avec le régime B déplace l'équilibre des bicarbonates vers la première fonction.

Les relations observées précédemment entre pH et pouvoir tampon des différents partenaires n'ont pu être mises en évidence après repas où les équilibres entre production et absorption ou transformation des différents partenaires sont instables. Aucun effet régime n'a été mis en évidence sur les différents paramètres sanguins mesurés ($P > 0,05$, tableau 3). Cependant, l'heure de prélèvement choisie (3 h après repas) n'est proba-

blement pas optimale du fait de la grande variabilité liée à l'ingestion du repas.

Les observations avant repas seraient plus représentatives de l'état général de l'animal car les conditions ruminales sont stables, et donc plus pertinentes pour mettre en évidence l'effet d'un régime acidogène sur l'équilibre acido-basique ruminal.

2.2. ADAPTATION A LA RATION ACIDOGENE (B1 vs B2)

Les paramètres ruminiaux et sanguins ne présentent pas de différences entre B1 et B2 ($P > 0,05$). L'état d'acidose s'est donc maintenu sans aggravation sur les 2 semaines B1 et B2 de régime B.

2.3. RETOUR SUR REGIME FOIN (F2 vs F3 ET F1 vs F2+F3)

Les paramètres du pH ruminal et les différents pouvoirs tampons sont revenus à leur niveau initial (F1 vs F2+F3, $P > 0,05$) dès la 1^{ère} semaine sur régime F (F2) succédant à l'acidose (F2 vs F3, $P > 0,05$). Par contre, les paramètres sanguins ont diminué entre F1 et F2-F3 (pH, $P < 0,05$; bicarbonates et excès de bases, $P < 0,01$). Cette baisse, initialisée pendant la distribution du régime acidogène, s'est poursuivie après l'arrêt de ce régime. Cette tendance peut s'expliquer par une mobilisation des réserves alcalines corporelles (bases et bicarbonates san-

guins) au cours de l'acidose et par un temps de retour à l'état initial de ces réserves plus long au niveau sanguin que ruminal.

CONCLUSION

Dans ce travail, les AGV et les bicarbonates ont été identifiés par titrimétrie comme les principaux partenaires de l'équilibre acido-basique ruminal. Les observations avant repas apparaissent plus représentatives de l'état général de l'animal et plus pertinentes pour mettre en évidence l'effet d'un régime acidogène sur l'équilibre acido-basique ruminal. L'état prolongé d'acidose semble de plus induire un épuisement durable des réserves alcalines de l'animal, visible au niveau sanguin.

Brugère H., Ravel B., Nicolas F., 1984. Rec. Méd. Vét., 160, 585-593

Dijkstra J., Boer H., van Bruchem J., Bruining M., Tamminga S., 1993. Br. J. Nutr., 69, 385-396.

Fernandez I., Brugère H., Michalet-Doreau B., 2000. Renc. Rech. Ruminants, 7, 191

Owens F.N., Secsrit D.S., Hill W.J., Gill D.R., 1998. J. Anim. Sci., 76, 275-286

SAS, 1988. SAS/STAT® User's Guide: Statistics, Release 6.03. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

Sauvant D., Meschy f., Mertens D., 1999. INRA Prod. Anim., 12, 49-60

Stevens C.E., 1970. In Phillipson A.T. (Editor), Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Oriel Press, Newcastle, Grande-Bretagne. 101-111