

Diss. ETH No 13775

**EFFECTS OF BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE AND DEHYDRATION
ON FEEDING AND METABOLISM IN BOVINES**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of Doctor of Natural Sciences

presented by
MARTINE STEIGER BURGOS
Dipl. Ing. Agr. ETH
born November 26, 1972
from Flawil (SG) and Rovray (VD)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. W. Langhans, examiner
Prof. Dr. M. Kreuzer, co-examiner
Dr. M. Senn, co-examiner

Zurich 2000

1. SUMMARY

The present thesis studied two situations which negatively affect the productivity of bovines, i.e. Gram-negative bacterial infection simulated by intravenous infusion of bacterial lipopolysaccharides (LPS) and dehydration.

Gram-negative bacteria are responsible for many diseases in cattle (e.g. diarrhoea, respiratory diseases, mastitis). These infections can be simulated in healthy animals by infusion of LPS, which are the major cell wall components of Gram-negative bacteria. LPS trigger the local and systemic reactions observed in the infected organism. The systemic reactions are commonly referred to as acute phase response (APR) and are caused by mediators (especially proinflammatory cytokines) produced primarily by the host's macrophages. The major behavioral symptom of the APR is hypophagia.

Water scarcity is common in several regions of the world. It causes important losses in bovine production because bovines are less well adapted to drought than other ruminants. But dehydration can also occur under normal husbandry conditions, for instance in relation to diarrhoea or rumen acidosis. Continuing water losses via the digestive tract trigger extracellular dehydration followed by cellular dehydration. Dehydration is also accompanied by hypophagia.

The first study examined the effects of LPS on food intake and metabolism in heifers. One aim was to distinguish and better characterize the feeding suppressive and metabolic effects of LPS. Six heifers were infused intravenously for 100 min with either (1) LPS (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight) with food ad lib, (2) saline with food ad lib, or (3) saline with pair-feeding to the LPS treatment. Food intake, body temperature, plasma levels of various metabolites and hormones, as well as the respiratory quotient were measured.

LPS reduced food intake and induced pronounced changes in energy turnover, and fat and carbohydrate metabolism that were largely independent of the concomitant food intake reduction. Some of the metabolic changes were biphasic: the first phase resembled a stress response and the second phase reflected a beginning energy deficit. Many of the initial metabolic responses occurred prior to and therefore independent of an increase in circulating tumor necrosis factor.

The second study investigated how lactating cows are able to cope with a sustained water restriction. In a first experiment body weight and meal patterns were recorded with ad libitum access to water and during 8 days of 25 and 50% water restriction relative to ad libitum intake. In a second experiment, indirect calorimetry was combined with nitrogen and energy balance and plasma hormone and metabolite measurements to assess the effects of 50% water restriction on digestion and metabolism.

Food intake and body weight declined during the first 3 days of water restriction depending on the restriction level and stabilized thereafter at a lower level. Nitrogen balance became negative because, relative to intake, nitrogen excretion via urine and milk was higher. In contrast, energy balance was not affected by 50% water restriction. The lower energy intake during 50% water restriction was compensated by a lower milk production, a higher digestibility of organic matter and energy, and, apparently, a more efficient energy utilization. Through these changes and a preserved water balance the cows reached a new equilibrium at a lower water turnover level, which enabled them to cope with a sustained water restriction of 50%. The loss of nitrogen could become limiting for long-term adaptation to water scarcity.

The third study comprised three experiments with non-lactating, rumen-fistulated cows. The aim of this study was to assess the role of rumen fluid hypertonicity in dehydration-induced hypophagia. First, the course of rumen fluid and plasma osmolality before and after an individual test meal was recorded when water was offered ad libitum and on the fifth day of a 65% water restriction period. Then, the effects of intraruminal water infusions on food intake were examined in dehydrated cows. Finally, an attempt was made to pharmacologically inactivate the ruminal osmosensors potentially involved in dehydration-induced hypophagia.

Water restriction reduced test meal size and increased rumen fluid and plasma osmolality. Despite the smaller meal, the prandial increase in rumen fluid osmolality was more pronounced during water restriction than with water ad libitum. Independent of treatment, the test meal had no effect on plasma osmolality. Intraruminal water infusions during water deprivation normalized food intake. Injection of a local anesthetic into the rumen did not attenuate dehydration-induced hypophagia. These

results suggest that rumen fluid hypertonicity, perhaps in interaction with plasma osmolality, contributes to the early satiation induced by dehydration.

Both situations studied here, LPS administration as a model of bacterial infection and dehydration, are two examples of complex homeostatic mechanisms in ruminant animals. The hypophagia observed in both cases is beneficial for the organism. Hypophagia induced by LPS administration is an active host defense mechanism against pathogens that improves the short term chances for survival. On the other hand, dehydration-induced hypophagia must probably be considered as a compromise between nutrient intake and maintenance of the osmotic balance to save the maximum of water.

2. RESUME

Le sujet de cette thèse s'est concentré sur l'étude de deux situations qui affectent négativement la productivité des bovins: les infections par bactéries Gram-négatives, simulées ici par une intraveineuse de lipopolysaccharides (LPS) bactériens, et la déshydratation.

Les infections dues aux bactéries Gram-négatives provoquent des maladies importantes chez les bovins (diarrhées, maladies respiratoires, mammites, ...). Ces infections peuvent être simulées par l'injection de LPS, les constituants pariétaux principaux des bactéries Gram-négatives. Les LPS provoquent chez l'organisme infecté des réactions locales et systémiques. Les réactions systémiques ('acute phase response'), sont le résultat de médiateurs (entre autres, des cytokines) produits par les macrophages de l'hôte infecté. L'une de ces réactions est une baisse de l'ingestion (hypophagie).

Le manque d'eau est courant dans de nombreuses régions du globe. Les bovins, moins bien adaptés que les autres ruminants, y sont particulièrement sensibles et essuient de grosses pertes. Sous nos latitudes, des raisons pathologiques comme la diarrhée ou l'acidose du rumen peuvent aussi provoquer des déshydratations chez les ruminants. Les pertes d'eau continues par le tractus gastro-intestinal causent d'abord une déshydratation extracellulaire, puis une déshydratation cellulaire. L'un des symptômes de la déshydratation est également l'hypophagie.

Dans la première étude, il s'agissait de voir par quels mécanismes les LPS agissent sur l'ingestion et le métabolisme de génisses, et de distinguer et de mieux caractériser l'effet hypophagique et les effets métaboliques. Trois traitements (perfusions) ont été appliqués en chambre de respiration: 1) LPS (2 µg/kg PV) avec fourrage à volonté 2) solution saline avec fourrage à volonté, ou 3) solution saline avec la quantité de fourrage limitée à ce qui avait été ingéré en 1).

La perfusion de LPS a engendré une baisse de l'ingestion, ainsi que des réactions marquées dans le métabolisme de l'énergie, des lipides et des hydrates de carbone. Plusieurs des paramètres sanguins mesurés ont évolué de manière biphasique, la première phase ressemblant à une réaction de stress, la deuxième plutôt à un déficit énergétique. Ces réactions métaboliques étaient largement indépendantes de

l'hypophagie. La plupart d'entre elles devenaient visibles avant que le taux de 'tumor necrosis factor α ' n'augmente dans le sang. Ce dernier ne semble donc pas en être responsable.

Le but de la seconde étude était de voir en détails comment des vaches laitières réagissent à une restriction d'eau. Dans un premier essai, l'évolution de leur poids corporel et de leur comportement d'ingestion a été observé avec de l'eau à volonté, puis pendant 8 jours alors que l'eau disponible avait été réduite de 25% et de 50%. Dans un deuxième essai, des bilans azotés et énergétiques, accompagnés d'analyses sanguines, ont été réalisés en chambre de respiration, avec de l'eau à volonté, puis réduite de moitié.

Lors des 3-4 premiers jours de restriction, l'ingestion et le poids corporel des vaches ont diminué, puis ils se sont stabilisés. Le bilan azoté est devenu négatif en raison d'une augmentation des excréctions azotées via l'urine et le lait, proportionnellement à la quantité d'azote ingérée. Par contre, le bilan énergétique n'a pas été affecté par la restriction d'eau. La baisse de l'apport énergétique a été compensée par une diminution de la production laitière, une meilleure digestibilité de la matière organique et de l'énergie et apparemment par une utilisation plus efficace de l'énergie. Le bilan hydrique est resté inchangé, signe que les vaches avaient retrouvé un état métabolique plus économique et équilibré. Seules les pertes d'azote auraient pu nuire à long terme à l'adaptation de ces vaches laitières à une restriction d'eau de 50%.

La troisième étude a examiné le rôle de l'osmolalité ruminale dans l'hypophagie due à la déshydratation chez des vaches tarées et fistulées au niveau de la panse. Le premier essai a décrit l'évolution des osmolalités ruminale et sanguine avant et après l'ingestion d'un repas test individuel avec de l'eau à volonté et au cinquième jour d'une période de restriction d'eau de 65%. Un deuxième essai a étudié les effets sur l'ingestion d'injections d'eau directement dans la panse via la fistule. Dans un troisième essai, une tentative a été faite d'inactiver par anesthésie locale des récepteurs osmotiques ruminiaux éventuellement responsables de l'hypophagie.

La restriction d'eau a réduit la taille du repas test et augmenté les osmolalités ruminale et sanguine. Malgré le repas moins important, la hausse de l'osmolalité ruminale était plus prononcée dans le traitement avec moins d'eau que dans celui avec de l'eau à volonté. Le repas test n'a eu aucun effet sur l'osmolalité sanguine,

indépendamment du traitement. Les injections d'eau intraruminales, alors que les abreuvoirs étaient fermés, ont normalisé l'ingestion. Les injections intraruminales d'anesthésique n'ont pas atténué l'hypophagie. Ces résultats indiquent que l'hypertonie du rumen joue un rôle dans l'hypophagie due à la déshydratation, peut-être en interaction avec l'osmolalité sanguine.

L'étude de ces deux situations, infection de LPS et déshydratation, sont deux exemples de la complexité de l'homéostasie chez les ruminants. L'hypophagie constatée dans les deux cas est bénéfique pour l'organisme. L'hypophagie induite par la perfusion de LPS est un moyen actif de défense de l'hôte contre le pathogène, conduisant à court terme à de meilleures chances de survie. L'hypophagie induite par la déshydratation représente probablement un compromis entre l'ingestion de nutriments et le maintien de l'équilibre osmotique des fluides pour économiser le plus d'eau possible.