COLLEGE VEGETAL
DOCTORAL ANIMAL, ALIMENT
PAYS DE LA LOIRE MER, ENVIRONNEMENT

Oniris
VetAgroBio Nantes
ÉCOLE NATIONALE

THESE DE DOCTORAT

ONIRIS

ECOLE DOCTORALE N° 642
Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement
Spécialité : « Epidémiologie, évaluation des risques »

Par

« Laudy SERHAL »

« Impact des acides gras oméga-3 en période de tarissement sur la santé materno-néonatale en élevage bovin laitier : une approche par épidémiologie nutritionnelle »

Thèse présentée et soutenue à « Nantes », le « 30 Septembre 2025 »

Unité de recherche : : BIOEPAR (Oniris, INRAE)

Rapporteurs avant soutenance :

Marion Boutinaud	Directeur de recherche, INRAE
Nicolas Rose	Ingénieur de recherche, ANSES

Composition du Jury :

Président :	Aurélien Madouasse	Professeur, Oniris VetAgroBio
Examinateurs :	German Cano Sacho	Directeur de recherche, INRAE
	Marta Vazquez Gomez	Maitre de conférences, AgroParisTech
	Clair-Yves Boquien	Chargé de recherche, INRAE
	Aurélien Madouasse	Professeur, Oniris VetAgroBio
	Marion Boutinaud	Directeur de recherche, INRAE
	Nicolas Rose	Ingénieur de recherche, ANSES
Dir. de thèse :	Nathalie Bareille	Professeur, Oniris VetAgroBio
Co-enc. de thèse :	Juan Manuel Ariza	Maitre de conférences, Oniris VetAgroBio

Liste de productions

Article

Serhal, L., Ariza, J. M., and Bareille, N. (2025). Systematic review and meta-analysis of biomarkers measured in colostrum and transition milk of beef and dairy cows following maternal dietary supplementation during the dry period. *Preventive Veterinary Medicine*, *243*, 106604. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2025.106604

Communications dans des congrès international ou national

Serhal, L., Ariza, J. M., and Bareille, N. (2023, March). *A new era of veterinary medicine:" Nutritional Epidemiology"*. Society of Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine (SVEPM). https://hal.inrae.fr/hal-04478242

Serhal, L., Ariza, J. M., Mendowski, S., and Bareille, N. (2024). *Effet de l'apport en oméga-3 via la graine de lin extrudée durant le tarissement sur la composition du colostrum et sur le métabolisme énergétique de la vache laitière et son veau*. *27*. https://hal.inrae.fr/hal-04916112

Table des matières

Chapitre I. Introduction Générale ____ 8

I. Contexte et enjeux ____ 10

1. Santé materno-néonatale : une problématique multidimensionnelle ____ 10

1.1. Enjeux sanitaires et sociétaux dans l'élevage bovin laitier ____ 10

2. La nutrition comme levier de prévention ____ 11

La période de tarissement chez la vache laitière : une fenêtre d'intervention stratégique ____ 12

3. Expérimentation animale et épidémiologie nutritionnelle : deux approches complémentaires 14

II. Etat de l'art ____ 18

1. Santé maternelle et néonatale autour du vêlage : lien nutrition-santé ____ 18

Santé maternelle autour du vêlage ____ 18

Santé néonatale du veau nouveau-né ____ 19

2. Potentiel des acides gras oméga-3 comme stratégie nutritionnelle de contrôle en période de transition ____ 23

Apport en AG oméga-3 durant le tarissement : mécanismes, sources et biodisponibilité ____ 24

Effets des AG n-3 sur la santé maternelle et la qualité du colostrum ____ 24

Effets des AG n-3 sur la santé néonatale : transferts des AG au veau via le colostrum et le lait transitionnel ____ 26

3. Approche épidémiologique et méthodes d'évaluation des stratégies nutritionnelles en santé animale ____ 33

III. Objectifs et démarche scientifique ____ 37

Chapitre II. Systematic review and meta-analysis of nutritional biomarkers measured in colostrum and transition milk of beef and dairy cows following maternal dietary supplementation during the dry period ____ 39

____ 54

Chapitre III. Une étude interventionnelle randomisé contrôlé ____ 55

The impact of extruded linseed diets rich in omega-3 fatty acids during the dry period on colostrum quality and the health of the dairy cow-calf pair around calving ____ 55

INTRODUCTION ____ 55

MATERIALS AND METHODS ____ 57

Experimental design ____ 57

Nutritional Supplementation Strategy ____ 58

Calves management ____ 59

Blood, colostrum and transition milk sampling timeline strategy ____ 60

Biological analysis ____ 60

Statistical analysis ____ 62
RESULTS ____ 65
1. Nutrients and fatty acids analysis by diets ____ 65
2. Exposure Biomarkers ____ 65
3. Health Function Biomarkers ____ 76
4. Status Biomarkers ____ 79
DISCUSSION ____ 84
1. Exposure biomarkers ____ 84
2. Health function and status biomarkers ____ 87
3. Strengths and limitations ____ 91
CONCLUSION ____ 92
Appendix ____ 94
Chapitre IV. Conception et mise en œuvre d'un protocole d'une étude épidémiologique interventionnelle à grande échelle ____ 97
Chapitre V. Discussion Générale ____ 112
1. Les biomarqueurs comme outils de mesure de la santé : leçons de la revue systématique et méta-analyse ____ 112
2. Transferts nutritionnels démontrés en santé périnatale animale et au-delà ____ 115
3. Faisabilité, limites et leçons de terrain en épidémiologie nutritionnelle ____ 117
Chapitre VI. Conclusion Générale ____ 121
Références ____ 123
Annexes Chapitre 4 ____ 134
Remerciements ____ 164

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1. Les forces et limites des méthodes en expérimentation animale et en épidémiologie nutritionnelle
Tableau 2. Tableau récapitulatif des principales pathologies maternelles et néonatales autour du vêlage chez la vache laitière : mécanismes, impacts, facteurs de risque et mesures de prévention nutritionnelles
Tableau 3. Synthèse des études évaluant la supplémentation en oméga-3 pendant le tarissement chez la vache laitière

Chapitre 3

Tableau 1. Diet ingredients and composition during the experimental period in both groups across all three farms
Tableau 2. Biomarkers measured during the study, the type of sample in which they were analyzed, the analytical method used, and their relevance to maternal or neonatal health
Tableau 3. List of FA profiling and their classification
Tableau 4. Analysis of nutrient composition and FA profile over different diets
Tableau 5. Mean blood Health biomarkers levels of cows in control and treatment groups at each sampling time point
Tableau 6. Mean health biomarkers levels of colostrum and transitional milk samples in control and treatment groups
Tableau 7. Mean blood Health biomarkers levels of calves born to dams in control and treatment groups
Tableau 8. Mean blood status biomarkers levels of cows in control and treatment groups at each sampling time point
Tableau 9. Mean status biomarkers levels of colostrum and transitional milk samples in control and treatment groups
Tableau 10. Oligosaccharides concentrations measured in colostrum (d0) and transition milk (d+4)
Tableau 11. Mean blood status biomarkers levels of calves born to dams in control and treatment groups

Chapitre 4

Tableau 1. Checklist of items for the REFLECT statement: reporting guidelines for randomized control trials in livestock and food safety
Tableau 2. Tableau comparatif synthétique des deux protocoles

Liste des figures

Chapitre 1

Figure 1. Cycle de lactation et de gestation de la vache laitière

Chapitre 2

Figure 1. Flowchart of cow-calf pairs selection
Figure 2. Multiple factor analysis (MFA) of serum lipid profiles of dairy cows (n=36) across four timepoints and groups (control vs. treatment).
Figure 3. Variation in the maternal serum lipid profile (%) between treated and control cows across the peripartum period
Figure 4. Multiple Factor Analysis (MFA) of colostrum lipid profiles of dairy cows (n = 27) across groups (control vs. treatment).
Figure 5. Multiple Factor Analysis (MFA) of transition milk lipid profiles of dairy cows (n = 27) across groups (control vs. treatment)
Figure 6. Variation in colostrum (d0) and transition milk (d+4) lipid profile (%) between treated and control cows
Figure 7. Multiple Factor Analysis (MFA) of serum lipid profiles of calves (n = 32) across groups (control vs. treatment) at birth and 7 days of life
Figure 8. Variation in calves' (male and female) serum lipid profile (%) between treated and control groups
Figure 9. Concentrations of IgG, IgM, IgA respectively measured in calves' blood at birth (day 0) and 7 days of life (day +7)
Figure 10. Fat content of colostrum (d0) and transition milk (d+4)

Liste des abréviations

AOP	Appellation d'Origine Protégée
AG n-3	Acides Gras Oméga-3
AGPI	Acides Gras Polyinsaturés
AGNE	Acides Gras Non Estérifiés
ALA	Acide α-linolénique
BCS	Body Condition Score (*note d'état corporel*)
BACA	Balance Anion-Cation (ou Bilan Alimentaire Cation-Anion)
BEN	Bilan Énergétique Négatif
BHB	β-Hydroxybutyrate
CI	Confidence Interval (*intervalle de confiance*)
DHA	Acide Docosahexaénoïque
DMI	Dry Matter Intake (consommation de matière sèche)
DPA	Acide Docosapentaénoïque
ECR	Essai Contrôlé Randomisé
EPA	Acide Eicosapentaénoïque
FTPI	Failure of Transfer of Passive Immunity
GLE	Graine de Lin Extrudée
HCPC	Hierarchical Clustering on Principal Components
IgA / IgG / IgM	Immunoglobulines A / G / M
IT3	Indice de rationnement zootechnique IT3
LA	Acide Linoléique
LCFA	Long Chain Fatty Acids (Acides Gras à Chaîne Longue)
MCFA	Medium Chain Fatty Acids (Acides Gras à Chaîne Moyenne)
MUFA	Mono Unsaturated Fatty Acids (Acides Gras Mono-insaturés)
NEFA	Non-Esterified Fatty Acids
OSI	Oxidative Stress Index
OR	Odds Ratio
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids
REFLECT	Reporting Guidelines for Randomized Controlled Trials in Livestock
ROB	Risk of Bias
SFA	Saturated Fatty Acids
SEM	Standard Error of the Mean
w6/w3	Rapport oméga-6 / oméga-3

Chapitre I. Introduction Générale

Le lien entre nutrition et santé est largement établi chez l'humain, où les déséquilibres alimentaires sont reconnus comme facteurs de risque de maladies chroniques (diabète, obésité, etc.). Dans les élevages bovins laitiers, cette relation est partiellement documentée, notamment dans les phases critiques comme le tarissement ou autour du vêlage. Cette période est cruciale pour la vache et le veau : un grand nombre de pathologies affectant la vache laitière apparaissent dans les semaines post-partum, tandis que le nouveau-né est particulièrement exposé aux maladies néonatales. On constate souvent chez la vache en phase de lactation des désordres métaboliques (comme la fièvre du lait, la cétose, etc.) et des infections (telles que la métrite, la mammite, etc.) qui sont les conséquences des challenges immunitaires et énergétiques post-partum (Goff and Horst, 1997). On estime que 30 à 50 % des vaches laitières sont affectées par au moins un trouble métabolique ou infectieux après le vêlage (LeBlanc, 2010; Sundrum, 2015). Quant au veau nouveau-né, il doit affronter un environnement microbien sans bénéficier de la défense d'un système immunitaire entièrement développé. La diarrhée chez les nouveau-nés est la principale cause de mortalité parmi les veaux avant sevrage, et peut atteindre jusqu'à 50% des décès chez les jeunes veaux (Jessop et al., 2024; J. F. Mee, 2023). Elle entraîne des pertes économiques directes et peut nuire à la croissance future et aux performances du veau survivant. Ces pathologies périnatales (chez la vache autour du vêlage et chez le veau néonatal) représentent donc des défis considérables pour la santé et la productivité dans l'élevage bovins laitiers.

Face à ces risques, la nutrition a suscité un intérêt croissant, inspirée des concepts de médecine préventive développés en santé humaine. Il est question d'adapter l'alimentation des animaux non seulement pour satisfaire leurs besoins de production, mais aussi pour prévenir les maladies et renforcer leur résilience. L'état immunitaire et métabolique de la vache est fortement influencé par la transition alimentaire autour du vêlage (Lopreiato et al., 2020). Des lacunes en matière d'adaptation nutritionnelle pendant cette période peuvent entraîner des désordres physiologiques, problèmes digestifs, métaboliques et infectieux. Alors que, quelques nutriments ou suppléments ont des impacts positifs au-delà de leur apport nutritionnel, en interagissant avec les voies métaboliques et inflammatoires de l'organisme (Lopreiato et al., 2020).

Dans ce cadre, la phase de tarissement (période sèche) se présente comme une opportunité d'intervention particulièrement stratégique. Le tarissement, qui représente environ 60 jours d'interruption de la lactation avant le vêlage, est une étape de préparation durant laquelle la vache refait ses réserves et élève le fœtus à venir. C'est un pas essentiel pour éviter les complications de santé dès le début de la prochaine lactation.

En parallèle, l'évaluation scientifique des stratégies nutritionnelles en élevage pose un double défi méthodologique. D'un côté, l'approche expérimentale classique permet d'explorer les mécanismes biologiques à l'œuvre, mais reste souvent limitée à des conditions contrôlées, peu transposables aux élevages réels. De l'autre, l'épidémiologie nutritionnelle, encore émergente en santé animale, offre des outils puissants pour étudier l'effet réel d'interventions en conditions de terrain, en intégrant la variabilité propre aux troupeaux commerciaux. Elle permet de structurer l'analyse des effets nutritionnels à l'aide d'indicateurs fiables, objectivés,

et comparables, notamment par le recours à des biomarqueurs mesurables dans différentes matrices biologiques (sérum, colostrum, lait).

Effectivement, la réussite du vêlage et le début de la lactation sont directement influencés par les conditions de nutrition et de gestion du tarissement. Traditionnellement, le régime des vaches taries est conçu pour prévenir un excès d'embonpoint et pour assurer un équilibre minéral (ex. une diète acidogène pour éviter la fièvre du lait). Toutefois, outre ces aspects quantitatifs, la composition qualitative de l'alimentation de tarissement (profil en acides gras, antioxydants, etc.) pourrait aussi avoir un impact sur la santé de la vache et du veau. Plus précisément, les acides gras oméga-3 (AG n-3) ont suscité l'intérêt en tant que moyen nutritionnel potentiel pour favoriser la santé périnatale. Les AG n-3 à longue chaîne (EPA, DHA) sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires chez de nombreuses espèces, et l'acide α-linolénique (ALA, 18:3 n-3), principal AG n-3 d'origine végétale (lin, colza), peut servir de précurseur métabolique. Des recherches récentes menées entre BIOEPAR et Valorex ont montrés que chez la vache laitière en lactation, l'administration d'AG n-3 pourrait améliorer les fonctions reproductrices, influencer la composition du colostrum et optimiser les performances au début de la lactation (Ariza et al., 2019; Meignan et al., 2017). Cependant, beaucoup d'incertitudes persistent concernant les effets spécifiques de cette stratégie durant la période de tarissement sur la composition du colostrum, la réponse immunitaire et le métabolisme énergétique en période de tarissement. C'est dans ce contexte qu'a émergé l'intérêt d'évaluer la graine de lin extrudée, riche en ALA, comme stratégie de supplémentation en AG n-3 durant le tarissement, ouvrant ainsi la voie au projet de thèse présenté ici.

Ainsi, le présent chapitre a pour objectif de poser le cadre conceptuel et scientifique de cette recherche. Il est structuré en trois temps : (1) un état des lieux des enjeux sanitaires, économiques et sociétaux liés à la santé périnatale en élevage bovin laitier ; (2) une analyse du potentiel des AG n-3 comme stratégie nutritionnelle pendant la période de tarissement ; (3) une présentation des méthodes d'évaluation des stratégies nutritionnelles, combinant approches expérimentales et épidémiologie nutritionnelle, avec un focus sur l'intérêt des biomarqueurs. À chaque étape, les apports et limites de la littérature seront discutés afin d'identifier les questions scientifiques que cette thèse ambitionne d'éclairer.

I. Contexte et enjeux

1. Santé materno-néonatale : une problématique multidimensionnelle

1.1. Enjeux sanitaires et sociétaux dans l'élevage bovin laitier

Imaginez une vache en fin de gestation : elle ne produit pas encore de lait, mais son organisme est déjà intensément sollicité pour préparer la naissance de son veau. Cette période périnatale – définie ici les trois semaines avant et après le vêlage – constitue une fenêtre de vulnérabilité critique, souvent méconnue en dehors du milieu de l'élevage, mais déterminante pour la santé du couple vache- veau. L'élevage bovin laitier fait face à des défis sanitaires importants qu'il est essentiel de souligner pour garantir une production durable de lait de vache pour la consommation humaine. L'un des défis principaux réside dans la santé du couple vache-veau autour de la période du vêlage. Dans les élevages laitiers, environ un tiers des vaches développent au moins une pathologie clinique (la métrite, la mammite, la fièvre du lait, etc.) dans les trois semaines suivant le vêlage (Stevenson et al., 2020). Cette transition de la gestation vers la lactation est aussi le moment le plus à risque de réforme anticipée ou de mortalité chez la vache (Stevenson et al., 2020). Concernant le veau nouveau-né, la question de sa vulnérabilité sanitaire est également source d'inquiétude. En France, près de 12 % des veaux laitiers meurent avant l'âge d'un mois, plus de la moitié de ces pertes étant dues aux diarrhées (Reproscope). Le stress périnatale, définie ici comme l'ensemble des perturbations physiologiques et environnementales subies par la vache et le veau dans les 3 semaines avant et après le vêlage, l'échec du transfert d'immunité passive, et les pratiques de transport et de regroupement accentuent cette vulnérabilité (Renaud and Pardon, 2022). La mortalité dans les deux premières semaines de vie peut atteindre 2,8 % chez les mâles et 2,5 % chez les femelles en élevage laitier français (Perrin et al., 2011).

Néanmoins, ces enjeux sanitaires ne sont pas isolés : ils impactent le bien-être animal, alourdissent la charge de travail des éleveurs, fragilisent la rentabilité et soulèvent des enjeux croissants de santé publique. En effet, le recours fréquent aux antibiotiques pour prévenir ou traiter les pathologies périnatales contribue au développement de résistances antimicrobiennes (AMR) (Urban et al., 2022). Par exemple, dans les élevages, 25 % du temps de production est associé à des traitements antibiotiques dans le lait (Pardon et al., 2012). Ces pratiques sont d'autant plus préoccupantes que des études ont montré une transmission possible via le colostrum ou le lait de vaches traitées (Hazards et al., 2017; Lam et al., 2025). Le défi est évident : produire davantage avec moins de ressources, tout en assurant santé et bien-être.

Sur le plan économique, les enjeux sont colossaux. Le secteur bovin laitier représente un pilier de l'agriculture française, avec plus de 50 000 exploitations (Agreste, 2022), générant environ 30 milliards d'euros de chiffre d'affaires annuel et mobilisant près de 250 000 emplois directs et indirects (INSEE, 2022). Les pathologies représentent à elles seules jusqu'à 300 € de pertes par vache et par lactation, soit des millions d'euros à l'échelle nationale. Autrement dit, chaque amélioration de cette phase critique a un effet démultiplicateur : sur la santé, le bien-être, l'économie, et l'image de l'élevage.
Au-delà de la santé et de l'économie, cette filière contribue à des services écosystémiques essentiels, tels que le maintien de paysages ouverts, la préservation de la biodiversité, soutenant les économies rurales par la création d'emplois et la génération de revenus et la

production d'aliments riches en nutriments (GIS Avenir Elevages, 2023). Ce secteur fournit un bouquet de services écosystémiques structurés autour de quatre piliers : la production alimentaire, la qualité environnementale, la vitalité territoriale, et le patrimoine culturel (GIS Avenir Elevages, 2023). Les prairies permanentes et semi-naturelles constituent de puissants puits de carbone, protègent sols et eaux, réduisent le ruissellement tout en hébergeant une biodiversité riche (vers de terre, flore, pollinisateurs). Avec 11,5 M ha de prairies, la filière contribue à compenser 10–50 % de ses propres émissions de GES (GIS Avenir Elevages, 2021). L'élevage français représente 703 000 ETP (soit près de 882 000 emplois ; 3,2 % de l'emploi national), dont 115 000 emplois directs et 124 000 indirects, auxquels s'ajoutent 60 000 emplois dans la transformation laitière (700 sites industriels). Pour chaque emploi en ferme, l'activité en aval génère 1,25 ETP. Enfin, la collecte annuelle de 22 milliards de litres de lait, dont 38 % pour les fromages AOP, illustre la richesse culinaire et patrimoniale ancrée dans les territoires ruraux (Donnars et al., 2016; GIS Avenir Elevages, 2021).

Dans ce contexte, la recherche de stratégies nutritionnelles efficaces, durables et faciles à mettre en œuvre devient urgente. Des améliorations telles que l'optimisation de la nutrition maternelle en fin de gestation, une administration appropriée du colostrum au nouveau-né et des soins précoces au veau semblent essentielles pour améliorer la santé du couple vache-veau durant cette période cruciale. Le défi consiste à assurer une productivité durable de l'élevage laitier, tout en protégeant la santé et le bien-être des animaux durant toute leur période de production (Ducrot et al., 2024).

2. La nutrition comme levier de prévention

Les vaches sont des ruminants herbivores dont l'alimentation repose principalement sur des végétaux, distribués sous forme de fourrages (plantes entières, feuilles, tiges) et de concentrés (céréales, graines oléagineuses ou protéagineuses, coproduits agroalimentaires dont les tourteaux, …). En élevage laitier, la composition de la ration est formulée en matière sèche (MS), afin de s'affranchir des fortes variations de teneur en eau entre aliments et entre rations. La MS est elle-même constituée de deux fractions : la matière organique (MO) et la matière minérale (MM). La MO comprend essentiellement les glucides, les matières azotées et les lipides. Les glucides pariétaux (cellulose, hémicellulose, lignine) assurent la structure des parois végétales, tandis que les glucides cytoplasmiques (amidon, sucres solubles) sont des sources d'énergie rapidement fermentescibles (Jarrige et al., 1995). La fraction lipidique est composée de glycérides contenues dans les cellules végétales, d'acides gras composant la cuticule de la plante, et dans les grains d'oléagineux (réserve d'énergie). La fraction azotée regroupe les protéines, peptides, acides aminés libres, acides nucléiques, urée et ammoniac (NH_3), et est globalement désignée sous le terme de matières azotées totales (MAT) (INRA, 2018).

Chez les ruminants, les nutriments subissent une fermentation dans les pré-estomacs (rumen, réseau, feuillet), où une flore microbienne spécialisée (bactéries, protozoaires, champignons) transforme les composants végétaux en nutriments assimilables, notamment des acides gras volatils (AGV), peptides et acides aminés. Environ 70 % de la ration moyenne d'une vache laitière française est composée de fourrages, et 30 % de concentrés. En moyenne, une vache consomme chaque jour entre 18 et 22 kg de matière sèche, soit 45 à 60 kg de ration brute (Idele, 2023). Les besoins nutritionnels varient selon le stade physiologique de l'animal. Une

vache en lactation produisant 35 kg de lait par jour nécessite environ 35 à 40 MJ d'énergie nette lactation (UFL) et 2 400 g de protéines digestibles dans l'intestin (PDI alors qu'une vache en fin de gestation tarie a des besoins plus modérés, de l'ordre de 5 à 6 UFL et 700 à 850 g de PDI par jour, avec une vigilance particulière sur les apports en minéraux et oligoéléments pour préparer le vêlage (INRA, 2018).

La nutrition pourrait jouer un rôle pivot. Elle émerge ainsi non seulement comme un outil deperformance pour augmenter la productivité, mais aussi comme une stratégie préventive (Ducrot et al., 2024 ; Lopreiato et al., 2020) capable de concilier santé animale, rentabilité économique et attentes sociétales. Les stratégies nutritionnelles reposent sur deux axes complémentaires : l'optimisation des apports en nutriments essentiels et l'intégration de composés bioactifs ciblés. Contrairement à une approche purement corrective, elle repose sur l'anticipation des déséquilibres physiologiques, et sur la modulation active de fonctions biologiques clés (immunité, reproduction, colostrogenèse, homéostasie minérale). Elle se structure autour de deux grands axes complémentaires : l'optimisation des apports en nutriments essentiels, selon les besoins précis de la vache en transition ; et l'intégration de composés bioactifs ciblés, capables de moduler les réponses métaboliques, inflammatoires ou immunitaires.

Parmi les succès marquants, l'ajustement de la balance anions-cations (BACA) durant la phase de tarissement, qui a permis de réduire de 40 % l'incidence de la fièvre de lait, en modulant l'équilibre acido- basique et la mobilisation du calcium osseux (Leclerc & Block, 1989). Ce trouble demeure cependant une problématique actuelle en élevage laitier (Thèse de T. Aubineau 2021). Outre la BACA, la supplémentation en sélénium, un antioxydant clé, a démontré une diminution de 38 % des rétentions placentaires, améliorant ainsi la fertilité post-vêlage (Julien et al., 1976).

Ces avancées illustrent le potentiel de la nutrition comme un outil préventif, pour répondre à des enjeux sanitaires précis, mais leur efficacité dépend largement du moment et de la précision de l'intervention. D'où l'importance de cibler des périodes clés du cycle de reproduction, comme la phase de tarissement, fenêtre stratégique où les interventions nutritionnelles peuvent maximiser leurs bénéfices à la fois sur la santé maternelle, la qualité du colostrum et la santé néonatale.

La période de tarissement chez la vache laitière : une fenêtre d'intervention stratégique

Au cours de leur carrière, les vaches laitières passent par des périodes cycliques de reproduction et de lactation (Figure 1). La période de tarissement, généralement fixée entre 6 et 8 semaines avant le vêlage, constitue une phase de transition critique pour la vache laitière. Durant cette période, l'arrêt de la traite permet à la glande mammaire de se régénérer et de préparer la production du colostrum, riche en immunoglobulines (Baumrucker et al., 2010) et en nutriments essentiels pour le veau (Fischer-Tlustos et al., 2021). Elle permet aussi à la vache de finir de reconstituer ses réserves corporelles en prévision de la lactation suivante. Cependant, la période autour du vêlage s'accompagne d'un bilan énergétique négatif (BEN) pré-partum, résultant d'une conjonction entre l'augmentation des besoins du fœtus en croissance et de la préparation métabolique à la lactation et la perte d'appétit de la vache. Ce déficit énergétique entraîne une mobilisation excessive des réserves lipidiques, conduisant à

une élévation des acides gras non estérifiés (AGNE) dans le sang, facteur clé de la cétose et de la stéatose hépatique post-vêlage (Drackley, 1999).

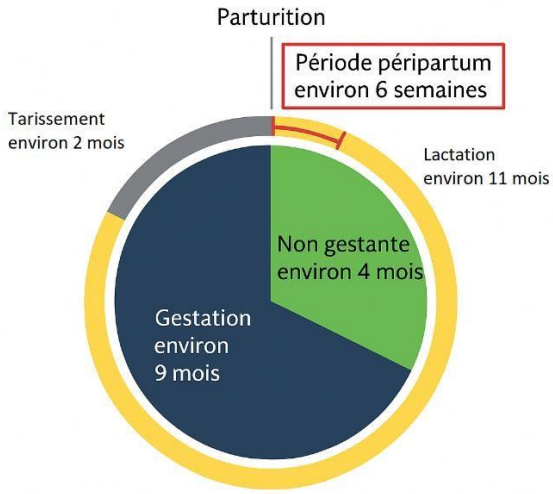


Figure 1. Cycle de lactation et de gestation de la vache laitière

Dans ce contexte, la nutrition préventive émerge comme une stratégie de choix. Elle se définit comme l'ensemble des interventions alimentaires visant à prévenir l'apparition de pathologies en agissant en amont, par l'ajustement ciblé des apports nutritionnels.

Parmi les exemples emblématiques de cette approche, on peut citer l'ajustement de la BACA, la supplémentation en antioxydants, etc… D'autres composés, comme les acides gras oméga-3 (AG n-3) suscitent un intérêt croissant en raison de leurs effets anti-inflammatoires démontrés qui pourraient avoir des bénéfiques sur la santé materno-néonatale.

Ces avancées illustrent le potentiel de la nutrition comme stratégie préventive, capable de répondre à des enjeux sanitaires précis. Toutefois, leur efficacité dépend de plusieurs facteurs : le bon ciblage des périodes critiques, la formulation adaptée à chaque stade physiologique, et une mise en œuvre précise dans les élevages. La période de tarissement en particulier pourrait être comme un moment clé où les interventions nutritionnelles peuvent maximiser leurs bénéfices à la fois sur la santé maternelle, la qualité du colostrum, et la santé néonatale. Cette période reste un levier sanitaire sous-exploité dans les pratiques d'élevage et la recherche. Plusieurs raisons expliquent cette sous-utilisation : l'absence de recommandations personnalisées, la difficulté à anticiper les besoins individuels, l'obstacle pratique à l'application de ces stratégies réside dans la difficulté de supplémenter individuellement les vaches en périodes de tarissement vu que généralement l'alimentation est djstribuée en lots, et la fragmentation des résultats scientifiques qui limite la transposition en routine. En effet, les données disponibles sont souvent issues d'études expérimentales hétérogènes, difficiles à comparer en raison de la diversité des protocoles, des formulations de suppléments, des conditions d'élevage, ou encore de manque de consensus sur le choix des méthodes utilisés pour évaluer l'effet nutritionnel.

Cette approche nutritionnelle préventive répond pleinement aux enjeux de santé animale, économiques et sociétaux. Elle permet de limiter le recours aux antibiotiques, de réduire les pertes de production, de diminuer la charge de travail pour le soin aux animaux malades, tout en répondant aux attentes croissantes des consommateurs en matière de bien-être animal et de durabilité. En cela, elle incarne une stratégie concrète du concept One Welfare au croisement des intérêts de l'éleveur, de l'animal et de la société.

3. Expérimentation animale et épidémiologie nutritionnelle : deux approches complémentaires

La recherche en santé animale s'est traditionnellement appuyée sur l'expérimentation animale pour optimiser la santé et les performances dans l'élevage (Festing and Wilkinson, 2007). Cette méthode repose sur des protocoles rigoureusement contrôlés : randomisation, alimentation standardisée, uniformité des conditions de logement. Ces caractéristiques assurent une forte validité interne, permettant d'isoler des relations causales directes entre une intervention nutritionnelle et ses effets biologiques mesurables (ex. homéostasie calcique, production laitière). Dans le domaine de la nutrition, de nombreuses avancées ont été réalisées grâce à des protocoles expérimentaux destinés à évaluer l'impact d'un changement de régime alimentaire sur un ensemble de vaches dans des conditions contrôlées. L'approche expérimentale offre l'avantage considérable de pouvoir isoler les facteurs analysés et de déterminer des relations causales directes. Elle reste donc essentielle pour confirmer les processus biologiques d'une intervention nutritionnelle et fournir des preuves tangibles de son efficacité.

Cependant, bien que ces essais offrent une haute validité interne, ces mêmes conditions contrôlées réduisent la validité externe de ces études. Les environnements expérimentaux, bien que scientifiquement rigoureux, ne reflètent que partiellement la complexité du monde réel : variabilité génétique des animaux, diversité des systèmes de production (pâturage, stabulation), aléas climatiques et pratiques d'élevage hétérogènes. De plus, les effectifs sont souvent réduits et les troupeaux homogènes, limitant la généralisabilité des résultats (Pariza, 1997). En conséquence, bien que l'expérimentation animale soit indispensable pour élucider les mécanismes biologiques, elle ne peut à elle seule prédire l'efficacité sanitaire en élevage réel : les résultats doivent être validés et calibrés par des études de terrain (essais randomisés en ferme, cohortes) pour aboutir à des recommandations robustes. Ce qui fait appel à l'intégration de méthodes complémentaires, telles que l'épidémiologie nutritionnelle, déjà éprouvée en santé humaine.

L'épidémiologie nutritionnelle, définie comme « l'étude des relations entre les apports alimentaires et les états de santé au sein de populations » (Willett, 2013), mobilise des méthodologies variées (ex. études observationnelles, études de cohortes, cas-témoins, essais randomisés) (Margetts and Nelson, 1997). Les études observationnelles, telles que les cohortes prospectives, suivent des populations sur le long terme pour identifier des associations entre facteurs nutritionnels et la survenue des maladies. L'étude Framingham, initiée en 1948, a ainsi établi un lien entre la consommation de graisses saturées et l'incidence des maladies cardiovasculaires chez l'homme (Mahmood et al., 2014). Les études cas-témoins, rétrospectives, comparent des groupes malades et sains pour isoler des facteurs de risque,

tels que la carence en vitamine D associée au rachitisme infantile (Maiya et al., 2008). Les études interventionnelles, incluant des essais randomisés contrôlés, valident des causalités en attribuant aléatoirement une supplémentation. Un essai a démontré une réduction de 70 % des fractures ostéoporotiques grâce à une supplémentation en calcium et vitamine D (Chapuy et al., 1992). Ces méthodes ont permis d'autres avancées en santé publique, notamment via la fortification alimentaire en acide folique pour prévenir les malformations neurales (Crider et al., 2011). Appliquée aux animaux de production, cette discipline permet de relier la diversité des régimes alimentaires aux indicateurs sanitaires, en tenant compte des spécificités de l'élevage, par exemple : types de rations, pratiques de transition, environnement, management, interactions nutrition-microbiote.

Les forces de l'épidémiologie nutritionnelle résident dans sa capacité à analyser simultanément de multiples facteurs de risque et à intégrer des déterminants contextuels complexes :

- Facteurs individuels : stade physiologique, rang de lactation, note d'état corporel, susceptibilité génétique.
- Facteurs alimentaires : teneur en énergie, ratio fourrages/concentrés, apport en acides gras, minéraux ou antioxydants.
- Facteurs environnementaux : saison, température, stress thermique, qualité des fourrages.
- Facteurs liés au troupeau : densité, conduite du tarissement, hygiène, pratiques de gestion du colostrum.

Ces données sont collectées dans des conditions de terrain, ce qui assure une meilleure représentativité des systèmes d'élevage réels. Elles permettent aussi d'explorer une grande variété de variables sanitaires d'intérêt, à court terme (ex. : taux de β-hydroxybutyrate post-partum, concentration en IgG) ou à un terme plus long (ex. : morbidité néonatale, survie des veaux, performances de lactation) (Bingham, 2002). De plus, la taille des échantillons, souvent plus grande que dans les essais expérimentaux (de 50 à plusieurs milliers d'animaux), confère à ces études une puissance statistique accrue (Tableau 1) (Serhal et al., 2023).

Toutefois, l'approche épidémiologique appliquée à la nutrition animale présente certaines limites qu'il convient de considérer avec rigueur. L'une des plus importantes est la présence potentielle de facteurs de confusion. En épidémiologie, un facteur de confusion est défini comme une variable associée à la fois à l'exposition étudiée (par exemple, un supplément en acides gras) et à l'issue de santé (par exemple, la morbidité périnatale), sans appartenir à la chaîne causale directe. En l'absence d'ajustement adéquat (par stratification ou modélisation multivariée), ce facteur peut entraîner une estimation biaisée de l'effet réel, ce qu'on appelle un biais de confusion. Une autre limite fréquente réside dans la qualité de la mesure des variables. Si l'exposition nutritionnelle est souvent bien quantifiée en élevage grâce aux rations calculées et suivies informatiquement, la mesure de l'état de santé peut être plus sujette à l'erreur. Les phénotypes de santé peuvent être évalués par observation clinique non standardisée, ou par prélèvements biologiques réalisés à des moments non comparables d'un individu à l'autre, induisant une hétérogénéité de la mesure.

Enfin, la variabilité inter-élevages constitue un défi méthodologique majeur. Les pratiques de conduite, la génétique des animaux, les conditions d'environnement et les calendriers de reproduction varient considérablement d'un élevage à l'autre. Pour isoler les effets propres aux facteurs nutritionnels, il est souvent nécessaire de recourir à des modèles statistiques, capables de tenir compte des effets fixes (exposition) et aléatoires (élevage, période), et de contrôler simultanément plusieurs variables confondantes (Marshall, 2003).

En somme, l'expérimentation animale permet de démontrer l'efficacité biologique potentielle d'une intervention, tandis que l'épidémiologie nutritionnelle quantifie son efficacité réelle et sa transférabilité à l'échelle des filières. Leur intégration conjointe est indispensable pour étudier les effets nutritionnels robustes, contextualisées, et les appliquer à grande échelle. Cette complémentarité est au cœur d'une recherche moderne en santé animale, qui vise à relier les preuves expérimentales aux enjeux opérationnels du terrain. Afin de synthétiser les principales différences entre ces approches, ainsi que leurs avantages et limites respectifs, le tableau suivant propose une comparaison structurée selon plusieurs critères clés : précision de la mesure de l'exposition, taille des échantillons, nature des critères de jugement (court vs long terme), et niveau de représentativité des conditions réelles. Cette lecture croisée met en évidence la place stratégique de l'épidémiologie nutritionnelle animale, à l'interface entre les preuves expérimentales et les enjeux opérationnels des filières.

Tableau 1. Les forces et limites des méthodes en expérimentation animale et en épidémiologie nutritionnelle

Critères	**Expérimentation animale**	**Epidémiologie nutritionnelle humaine**	**Epidémiologie nutritionnelle animale**
Mesure de l'exposition	+++	+	++
Taille de l'échantillon	+	+++	++
Critères de jugements	Court terme	Long terme	Court et long terme
Représentativité	+	+++	++
Validité interne	+++	+	++
Validité externe/ généralisabilité	+	+++	+++
Risque de biais de confusion	+	++	++
Cout et logistique	++	+++	++

+++ : avantage fort / performance élevée ; **++** : avantage modéré / performance intermédiaire ; **+** : avantage faible ou limité.

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous avons délibérément choisi une approche d'épidémiologie nutritionnelle afin d'examiner notre problématique au sein de l'élevage bovin laitier. Cette approche méthodologique, encore en phase d'émergence (Boeing, 2013) dans le domaine de la médecine vétérinaire axée sur la nutrition, donne à la thèse son unicité et son aspect innovant. Cependant, elle s'harmonise avec l'expérimentation animale traditionnelle : les résultats issus de l'analyse sur le terrain doivent être interprétés à la lumière des connaissances mécanistiques obtenues expérimentalement. L'originalité de cette thèse réside dans l'application de cette démarche au secteur bovin laitier, en s'appuyant à la fois sur les connaissances expérimentales disponibles et sur une analyse de terrain rigoureuse. Cette orientation méthodologique ouvre la voie à une meilleure compréhension des effets nutritionnels dans leur complexité, en lien avec les pratiques d'élevage.

II. Etat de l'art

Dans la continuité des enjeux exposés précédemment, cette seconde partie du chapitre propose un état des lieux des connaissances scientifiques disponibles sur les relations entre nutrition maternelle autour du vêlage et santé du couple vache-veau. Il s'agit d'ancrer le projet de recherche dans une compréhension approfondie de trois dimensions complémentaires. Tout d'abord, une première section est consacrée aux données épidémiologiques et physiopathologiques décrivant les principales pathologies périnatales chez la vache et chez le veau. Ensuite, une seconde section se concentre sur le rôle potentiel des AG n-3 — et notamment de leurs différentes sources et mécanismes d'action — comme levier nutritionnel pour améliorer la santé périnatale. Les effets rapportés dans la littérature sur la santé maternelle, la qualité du colostrum et la santé néonatale y sont détaillés. Enfin, une troisième section interroge les méthodes d'évaluation mobilisables pour étudier ces liens nutrition-santé. Elle introduit les fondements de l'épidémiologie nutritionnelle en santé animale, en soulignant l'intérêt des biomarqueurs pour dépasser les limites des indicateurs classique, et pour renforcer la qualité des preuves en conditions d'élevage réelles.

1. Santé maternelle et néonatale autour du vêlage : lien nutrition-santé

La période périnatale ou péripartum, qui s'étend classiquement des dernières semaines de gestation aux premières semaines de lactation, constitue une étape cruciale pour la santé des vaches laitières et de leur veau nouveau-né.

Santé maternelle autour du vêlage

Chez la vache, le péripartum est caractérisé par des modifications physiologiques significatives : le vêlage et le début de la lactation provoquent un déséquilibre énergétique (réduction puis augmentation lente de l'ingestion et mobilisation des réserves corporelles lipidiques), accompagné d'une immunosuppression temporaire. De ce fait, les maladies métaboliques et infectieuses durant la phase de transition sont courantes en élevage bovin laitier. Il n'est donc pas surprenant qu'environ 30 à 50 % des vaches laitières sont touchées par une forme de maladie métabolique ou infectieuse autour du vêlage (LeBlanc, 2010).

Les vaches laitières subissent au vêlage un bilan énergétique négatif marqué (ingestion diminuée de 30–50 % en fin de gestation) puis, avec le démarrage de la lactation, l'ingestion croissante ne permet pas de couvrir les besoins. Cela entraîne une lipomobilisation intense (jusqu'à 30–60 kg de graisse mobilisée en péripartum) (Ingvartsen and Andersen, 2000) et une élévation des concentrations plasmatiques en acides gras non estérifiés (AGNE > 0,4 mmol/L en prépartum étant associée à une incidence accrue de troubles) (Goff and Horst, 1997). L'excès d'AGNE surcharge les voies d'oxydation hépatique, menant à la production de corps cétoniques (cétose subclinique si β-hydroxybutyrate sanguin > 1,2–1,4 mmol/L) et à l'accumulation de triglycérides dans le foie (stéatose hépatique) (Enjalbert et al., 2001). La stéatose altère le fonctionnement hépatique (néoglucogenèse réduite) (Wang et al., 2024), aggravant la baisse d'appétit et contribuant à l'immunodépression déjà présente au vêlage. La vache en début de lactation devient alors plus sensible aux infections : un taux élevé d'AGNE avant vêlage est associé à davantage de rétentions placentaires et de métrites (LeBlanc et al., 2004), et l'hypercétonémie postpartum augmente le risque de déplacement de caillette, de mammites plus sévères et d'autres troubles (Drackley, 1999).

Parallèlement, la chute brutale de calcémie le jour du vêlage (les besoins calciques doublent avec la synthèse du colostrum) provoque la “fièvre de lait” (hypocalcémie clinique). Même à des niveaux subcliniques, l’hypocalcémie induit une faiblesse musculaire (décubitus sévère) et une atonie digestive et utérine, favorisant respectivement le déplacement de caillette et la rétention placentaire, et s’accompagne d’une baisse des défenses immunitaires (LeBlanc, 2010). De plus, des carences nutritionnelles aggravent ces désordres : on observe avant parturition un effondrement plasmatique des vitamines A et E (–38 % et –47 %), ce qui diminue l’immunité (ces vitamines étant cruciales pour les défenses antioxydantes), et des statuts inadéquats en oligoéléments (Zn, Se) multiplient par 5 à 6 fois le risque de rétention placentaire, de métrite ou de mammite (Enjalbert et al., 2001; Goff and Horst, 1997). L’ensemble de ces déséquilibres métaboliques interconnectés a des conséquences sanitaires majeures pour la vache, soulignant l’importance de stratégies préventives, et cela repose en partie sur la bonne gestion de la période de tarissement en amont.

Santé néonatale du veau nouveau-né

Parallèlement, le veau nouveau-né fait face à ses propres défis sanitaires. Chez le veau, l’immunité est essentiellement passive à la naissance : la structure syndesmochoriale du placenta bovin empêche le transfert d’immunoglobulines maternelles in utero, rendant le nouveau-né dépendant de l’absorption de colostrum pour acquérir une protection immunitaire (Fischer-Tlustos et al., 2021). Un veau qui ne reçoit pas un volume suffisant de colostrum riche en IgG (idéalement ≥50 g/L) dans les heures suivant la naissance est exposé à un échec du transfert d’immunité passive (FTPI). Cette situation, définie par une concentration sérique d’IgG <10 g/L chez le veau dans les premiers jours de vie, est fréquemment observée sur le terrain. On estime qu’environ un tiers des veaux laitiers présentent un FTPI. Ce déficit immunitaire expose le nouveau-né à un risque accru de morbidité néonatale, notamment les entérites et infections respiratoires, ainsi que la mortalité dans les premiers jours de vie (Urie et al., 2018). En pratique, les principales pathologies néonatales du veau incluent les diarrhées néonatales (colibacillose, rotavirus, coronavirus) et les pneumonies (d’origine bactérienne ou virale) pouvant survenir dès les premières semaines de vie. Ces affections représentent la première cause de mortalité chez les veaux dans de nombreux élevages (Urie et al., 2018).

La **qualité et la quantité de colostrum** ingérées à la naissance sont un facteur déterminant de la santé du veau. Un colostrum de haute qualité contient non seulement des concentrations élevées d’immunoglobulines (Ig), principalement IgG, mais aussi IgA, IgM, indispensables à la protection du veau (Baumrucker et al., 2010), mais également d’autres composants bioactifs : oligosaccharides, vitamines antioxydantes (vitamines E, A) et hormones de croissance etc. (Fischer-Tlustos et al., 2021). Fait notable, le colostrum renferme également des AG à longues chaînes, y compris des AG polyinsaturés (AGPI) essentiels, qui peuvent jouer un rôle clé dans la modulation de la réponse immunitaire et du stress oxydatif du nouveau-né (Opgenorth et al., 2020a). À plus long terme, un transfert colostral adéquat permet au veau d’établir ses propres mécanismes de défense immunitaire et antioxydants (Carter et al., 2021), tandis qu’un veau en échec de transfert colostral demeure vulnérable aux infections et peut montrer des performances de croissance inférieures.

Outre la prise de colostrum, les conditions maternelles pendant la fin de gestation (nutrition sous-optimale, déséquilibre métabolique) influent fortement sur la programmation fœtale, modifiant le développement immunitaire, métabolique et inflammatoire du futur veau (Abuelo, 2020). Ling et al. (2018) montrent que des concentrations plasmatiques maternelles élevées de NEFA (mobilisation lipidique) et un fort état oxydatif se traduisent par un poids de naissance et un poids en première semaine de vie plus bas, une élévation des biomarqueurs d'inflammation basale (haptoglobine et TNF-α sériques augmentés) ainsi qu'une réponse innée affaiblie aux stimuli infectieux (production de TNF-α moindre après stimulation par LPS) chez le veau. Donc, une exposition prénatale à un stress maternel perturbe la fonction immuno- métabolique du nouveau-né et accroît sa vulnérabilité ultérieure aux maladies (Abuelo, 2020).

Afin de mieux appréhender les enjeux sanitaires autour du vêlage, le tableau 2 synthétise les principales pathologies rencontrées durant la période périnatale chez la vache laitière et son veau. Il présente, pour chaque affection, les mécanismes physiopathologiques (étiologie, pathogenèse, diagnostic), les impacts sur la santé, les performances zootechniques, ainsi que les principaux facteurs de risque identifiés, en mettant particulièrement l'accent sur les déterminants nutritionnels. L'objectif est de mettre en lumière la relation étroite entre statut nutritionnel péripartum et risques sanitaires, notamment le rôle que peuvent jouer les stratégies nutritionnelles préventives pour limiter l'apparition de ces troubles à l'échelle individuelle comme à l'échelle du troupeau.

Tableau 2. Tableau récapitulatif des principales pathologies maternelles et néonatales autour du vêlage chez la vache laitière : mécanismes, impacts, facteurs de risque et mesures de prévention nutritionnelles

Catégorie	Maladie	Pathogenèse / Étiologie / Diagnostique	Impact (Prévalence, performances)	Facteurs de risque (nutritionnels inclus)	Prévention nutritionnelle (et autres mesures)	Références
Santé maternelle	Rétention placentaire	Échec de l'expulsion du placenta >12-24h après vêlage ; étiologie multifactorielle : hypocalcémie, déficit immunitaire, stress oxydatif.	Prévalence : 5-15%. Augmente le risque, de métrites et d'infertilité.	Carence en Se/Vit E, stress oxydatif, immunodépression, hypocalcémie, vêlage dystocique	Supplémentation en Se/Vit E, gestion vêlage, surveillance postpartum, bonne hygiène obstétricale	(LeBlanc et al., 2004; Muller and Owens, 1974)
Santé maternelle	Fièvre de lait (hypocalcémie)	Diminution rapide du calcium sanguin au vêlage. Besoin en Ca augmente pour la colostrogenèse/lactation. Symptômes : hypotonie musculaire, atonie digestive.	Prévalence clinique : 5%, subclinique : 25%. Réduit l'appétit, cause atonie, fragilise l'immunité. Risque accru de mammites	Absence de régulation hormonale PTH/Vit D, BACA non ajustée, baisse ingestion Ca pré-partum,	Ration anionique en pré-partum (BACA < -100 mEq/kg MS), supplémentation Ca orale systématique post-partum.	(Goff and Horst, 1997; Leclerc and Block, 1989)
Santé maternelle	Cétose / stéatose hépatique	Mobilisation lipidique excessive → excès d'AGNE → surcharge hépatique → accumulation de corps cétoniques. Diagnostic : BHBA >1,2 mmol/L.	Incidence clinique 2-5%, subclinique 40-60%. Augmente le risque de DA, d'infections secondaires (mammites, métrites) et d'infécondité	Transition alimentaire mal gérée, excès de concentrés prépartum, déficit d'apport énergétique post-partum, déficit antioxydant.	Apport énergétique progressif en pré-partum, lipides protégés, antioxydants (vit E, Se)	(Cascone et al., 2022; Enjalbert et al., 2001; Suthar et al., 2013)
Santé maternelle	Mammite	Inflammation/infection mammaire souvent bactérienne par infection	Incidence clinique et subclinique élevée	Lésions du sphincter du trayon, hygiène de la traite et des	Supplémentation en antioxydants, prévention des lésions,	(Fukushima et al., 2020; S. J. LeBlanc et al.,

		remontante depuis le sphincter du trayon.	en début de lactation. Réduction de production de lait (10-20%)	logements. Déficit énergétique, immunité affaiblie, carence en Vit A/E	hygiène de traite et des logements, probiotiques.	2002; Suthar et al., 2013)
Santé néonatale	Diarrhée néonatale	Agents infectieux (rotavirus, E. coli, coronavirus, crypyosporidium parvum). Déficit d'immunité passive via colostrum. Diagnostic : signes cliniques, PCR selles.	Prévalence : 15-30%. Morbidité élevée, croissance ralentie. Première cause de mortalité néonatale, usage d'antibiotiques	Échec transfert immunité passive (colostrum <50 g IgG/L, distribution après 6h de vie, quantité insuffisante), hygiène du logement, surpeuplement, alimentation inadéquate.	Colostrum de qualité ≥50 g/L IgG, ≥4 L dans les 6h. Hygiène des cases, vaccination des mères.	(Fischer-Tlustos et al., 2021; Urie et al., 2018)
Santé néonatale	Broncho-pneumonie	Agents bactériens/viraux (Pasteurella, Mycoplasma, BRSV). Diagnostic : signes respiratoires, imagerie pulmonaire, PCR sur prélèvement profond.	Prévalence : 10-20%. Affecte la croissance, favorise l'usage d'antibiotiques, mortalité	Échec du transfert colostral, ventilation déficiente, stress, transport, mélange de lots, déficit vitamines.	Qualité colostrum, logement bien ventilé, vaccination précoce à tropisme respiratoire, supplémentation Vit E/Sélénium.	(Abuelo, 2020; Fischer-Tlustos et al., 2021)

En résumé, la période périnatale constitue une phase critique où la santé de la vache et celle du veau sont étroitement liées. Les pathologies maternelles les plus fréquentes autour du vêlage, telles que la cétose, peuvent avoir des répercussions directes sur la santé de la mère, mais aussi indirectes sur le nouveau-né, notamment via une altération de la qualité du colostrum ou un retard dans sa distribution. De même, les troubles néonatals comme les diarrhées ou les bronchopneumonies sont influencés par des facteurs multiples, dont la qualité du transfert immunitaire passif et les conditions d'élevage.

Plusieurs de ces affections partagent des facteurs de risque nutritionnels communs, ce qui souligne l'intérêt croissant porté à la nutrition en période de tarissement comme levier de prévention globale. Cependant, les résultats disponibles restent hétérogènes, et les effets précis de certaines interventions sur la santé conjointe de la mère et du veau sont encore peu étudiés. Ce constat justifie la nécessité d'explorer de nouvelles pistes nutritionnelles en période de tarissement afin d'améliorer la santé périnatale de manière holistique.

2. Potentiel des acides gras oméga-3 comme stratégie nutritionnelle de contrôle en période de transition

Parmi les leviers nutritionnels envisageables pour améliorer la santé des vaches et de leurs veaux, l'apport d'acides gras oméga-3 (AG n-3), suscite un intérêt croissant.

En particulier la graine de lin extrudée (GLE) ; ce développement est étroitement lié aux travaux de l'entreprise Valorex, pionnière dans la transformation des graines oléagineuses grâce à une technologie brevetée de thermo-extrusion, qui optimise la digestibilité et la stabilité des oméga-3 issus du lin. C'est dans ce contexte qu'a émergé en 2000 la filière Bleu-Blanc-Cœur (BBC), réunissant producteurs de lin, fabricants d'aliments, éleveurs, industriels et consommateurs autour d'un objectif commun : améliorer la qualité nutritionnelle des produits animaux au bénéfice de la santé publique. La filière repose sur des obligations de moyens (formulation des rations) et de résultats (profil lipidique du lait, notamment un ratio n-6/n-3 contrôlé), qui conditionnent l'obtention du label.

Au-delà de cette structuration filière, la diffusion croissante des aliments extrudés riches en oméga-3 repose également sur des arguments zootechniques, tels que l'amélioration potentielle de la reproduction, de la santé métabolique et de l'immunité. Pour étayer scientifiquement ces bénéfices, des projets de recherche appliquée ont été initiés au sein de BIOEPAR (Oniris, INRAE), en partenariat avec Valorex. Ces travaux visent à évaluer, dans des conditions d'élevage réelles, l'effet des oméga-3 sur la santé du couple vache-veau. C'est dans cette dynamique que s'inscrit la présente thèse, qui mobilise une approche d'épidémiologie nutritionnelle pour objectiver le potentiel des AG n-3, comme stratégie de prévention en période de transition.

Apport en AG oméga-3 durant le tarissement : mécanismes, sources et biodisponibilité

Les AG n-3, notamment l'acide alpha-linolénique (ALA, C18:3), l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6), sont des lipides essentiels non synthétisés par les ruminants, aux propriétés anti-inflammatoires, immunomodulatrices et énergétiques. Deux sources principales d'AGPI n-3 sont utilisées en alimentation des ruminants : les graines de lin (source végétale), riche en ALA (C18:3n-3), avec 20–22 % de protéines et 35–40 % de lipides (Petit, 2010) ; et l'huile de poisson (source animale), riche en EPA et DHA (Donovan et al., 2000). Pour garantir un apport constant en ALA tout au long de l'année, l'incorporation de graines oléagineuses, en particulier de lin, constitue une stratégie nutritionnelle pertinente. En effet, la graine de lin est composée à environ 40 % de lipides, dont 54 % sont des AGPI de type ALA (Brunschwig et al., 2010).

Toutefois, l'amélioration du profil en AG du lait par cette voie est complexe, en raison de plusieurs facteurs : la présence de composés cyanogènes, la faible digestibilité liée à la coque qui protège naturellement les AGPI, et la forte biohydrogénation ruminale (BHR) observée lorsque les lipides sont administrés sous forme d'huile. Glasser et al. (2008), dans une méta-analyse regroupant 222 observations, estiment que près de 86 % (± 12 %) de l'ALA ingéré est biohydrogéné dans le rumen, réduisant considérablement sa disponibilité intestinale. Il est donc crucial de protéger partiellement l'ALA de la BHR pour maximiser son passage vers l'intestin, tout en conservant une bonne digestibilité (Sterk et al., 2012). Par ailleurs, les AGPI peuvent perturber l'écosystème microbien du rumen, notamment en affectant certaines bactéries cellulolytiques (Maia et al., 2010), d'où l'importance de limiter leur temps de séjour ruminal (Sterk et al., 2010). Le procédé d'extrusion, qui combine température et pression, permet non seulement de détruire les composés cyanogènes, mais aussi de rendre les AGPI plus accessibles en brisant partiellement la coque (Sterk et al., 2010). Les conditions d'extrusion (prétraitement, température, durée) influencent fortement la BHR et la digestibilité des lipides (Akraim et al., 2006; Doreau et al., 2009; Sterk et al., 2010). Globalement, l'extrusion offre un compromis entre la protection naturelle de la graine entière et l'absence de protection des huiles : elle limite partiellement la BHR, favorise la formation d'intermédiaires biohydrogéné au détriment de l'acide stéarique, et augmente la fraction d'ALA qui atteint l'intestin grêle sous forme non modifiée.

Effets des AG n-3 sur la santé maternelle et la qualité du colostrum

De nombreuses études se sont initialement focalisées sur l'impact des oméga-3 sur les performances de production et la composition du lait, souvent chez des vaches en lactation. Une méta-analyse de Meignan et al. (2017) a ainsi compilé 17 essais en contions expérimentales évaluant l'ajout de GLE dans la ration de vaches laitières. Il en ressort que la supplémentation en lin extrudé augmente significativement le rendement laitier (+0,7 kg de lait/vache/j en moyenne), sans effet négatif majeur sur l'ingestion, tout en diluant légèrement la teneur en protéines du lait (diminution modeste du taux protéique, due à l'augmentation du volume de lait produit). L'effet sur le taux butyreux est variable en fonction du régime fourrager auquel elle est associée : un léger abaissement du TB est observé dans les rations très riches en maïs ensilé, alors qu'aucune diminution n'est notée avec des rations à base d'ensilage d'herbe ou de foin. De façon intéressante, cet apport en oméga-3 se traduit par une amélioration du profil en acides gras du lait : on observe une réduction des acides gras

saturés de faible longueur de chaîne (C4:0 à C14:0) et de l'acide palmitique (C16:0), accompagnée d'une augmentation linéaire des acides gras mono- et polyinsaturés dans le lait, notamment l'oléique (C18:1 cis-9), le vaccénique (C18:1 trans-11), le ruménique (CLA cis-9, trans-11) et l'α-linolénique (C18:3 n-3) . En somme, le lait des vaches ayant reçu du lin extrudé présente une proportion accrue d'acides gras bénéfiques pour la santé (acides gras insaturés oméga-3 et CLA), sans pénaliser la production laitière – un résultat favorable également du point de vue économique pour l'éleveur.

Ces effets observés en conditions expérimentales contrôlées ont été confirmés à grande échelle en élevage commercial. En France, une vaste étude épidémiologique a exploité les données de contrôles laitiers de plus de 1200 troupeaux recevant du lin extrudé pour quantifier l'effet dose en conditions de terrain. Les résultats, publiés par Ariza et al. (2019), rejoignent les conclusions de la méta-analyse : chaque augmentation de 100 g/jour de la quantité de lin extrudé distribué est associée à un gain de +0,11 à +0,14 kg de lait par jour (selon la parité de la vache). En parallèle, une légère diminution dose-dépendante des TB et TP du lait est mise en évidence (baisse de 0,06 à 0,13 g/ kg du TB et de 0 à 0,02 g/kg du TP pour chaque palier de 100 g de lin, effets relativement modestes). Sur l'ensemble de la période étudiée (2008–2015), cette stratégie d'enrichissement lipidique n'a pas montré d'effet négatif sur la santé du troupeau – en particulier, aucune augmentation du risque de mammites ou de troubles métaboliques n'a été reportée dans l'analyse publiée. On peut souligner que les doses utilisées par les éleveurs dans cette étude restaient modérées (en moyenne ~700 g de lin extrudé/vache/j), sans commune mesure avec les très fortes doses parfois testées dans des essais expérimentaux (>1 kg/j). Ainsi, les oméga-3 ajoutés via le lin extrudé apparaissent comme un levier nutritionnel performant et sûr pour améliorer la production laitière et le profil lipidique du lait, sans nuire à la santé des vaches en lactation.

Au-delà des performances laitières, les acides gras n-3 exercent des effets profonds sur le métabolisme et l'inflammation, ce qui revêt un intérêt particulier durant la période péripartum. La vache est alors exposée à diverses affections susceptibles de compromettre sa santé immédiate, mais aussi sa reproduction et sa production laitière ultérieure. Ces troubles sont souvent associés à une dérégulation de la réponse inflammatoire, reflétant un déséquilibre dans la production de médiateurs lipidiques de l'immunité — principalement les oxylipides, dérivés oxydés des acides gras polyinsaturés (AGPI) qui régulent la synthèse des cytokines, la vasodilatation et le recrutement des cellules immunitaires (Tam, 2013). Ces molécules bioactives dérivent de la peroxydation enzymatique ou non enzymatique des AGPI n-6 (principalement l'acide arachidonique, AA) et des AGPI n-3 (ALA, EPA, DHA). Tandis que les dérivés des n-6, tels que les prostaglandines de série 2 et les leucotriènes de série 4, sont majoritairement pro-inflammatoires, ceux issus des n-3, notamment les résolvines, protectines et maresines, présentent des effets anti-inflammatoires (réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires, inhibition du recrutement des neutrophiles) et pro-résolutifs (stimulation de la phagocytose des débris cellulaires et restauration de l'homéostasie tissulaire) (Calder, 2013). Le stress oxydatif modifie profondément la synthèse et l'équilibre de ces médiateurs lipidiques, influençant directement la gravité ou la persistance de l'inflammation (Mavangira and Sordillo, 2018). Ce stress oxydatif est d'ailleurs de plus en plus reconnu comme un facteur clé de prédisposition aux maladies du péripartum. Dès lors, cibler la voie inflammatoire via l'apport nutritionnel en AGPI, notamment ceux de la série n-3, apparaît comme une option prometteuse pour réduire l'incidence et la sévérité

des mammites (Raphael et al., 2014; Raphael and Sordillo, 2013; Ryman et al., 2017). En modulant la disponibilité en substrats lipidiques, en influençant les voies métaboliques de synthèse des oxylipides et en réduisant les dérives oxydatives, les AGPI n-3 pourraient atténuer l'intensité de la réponse inflammatoire lors d'infections intra-mammaires (Ryman et al., 2017). Toutefois, malgré des

perspectives thérapeutiques intéressantes, la littérature sur ces mécanismes reste encore émergente. La diversité des agents pathogènes, des régimes utilisés, des durées de supplémentation et des périodes d'administration rend complexe toute généralisation. En l'état actuel des connaissances, on peut néanmoins formuler l'hypothèse que les GLE, par leur richesse en ALA et en lignanes aux propriétés antioxydantes reconnues, participent à la régulation des processus oxydatifs et inflammatoires associés aux pathologies péripartum.

Ainsi, sur le plan mécanistique, l'apport d'oméga-3 en période de transition pourrait contribuer à réduire l'inflammation utérine et systémique post-partum, à améliorer la fonction immunitaire (par exemple, l'efficacité des neutrophiles) et à favoriser un rétablissement métabolique plus rapide après le vêlage. Par exemple, Sun et al. (2023) ont rapporté qu'un apport prépartum de lin extrudé (3,5 % de la matière sèche) augmentait l'ingestion alimentaire et le bilan énergétique net des vaches taries, tout en diminuant la mobilisation des réserves corporelles, reflétée par une réduction des concentrations plasmatiques de NEFA, comparativement à un régime témoin. Cet effet améliore le statut énergétique autour du vêlage. En pratique, tout cela pourrait se traduire par une diminution de l'incidence de certaines maladies de période de transition liées à l'inflammation ou au métabolisme. On peut citer par exemple l'hypothèse d'une réduction du risque de métrite puerpérale ou de mammite clinique (grâce à une meilleure réponse immunitaire), ou d'une diminution de la prévalence de la cétose subclinique (grâce à une meilleure insulinémie et un équilibre énergétique moins négatif). Toutefois, il convient de noter que les données directes sur l'effet sur la santé ou l'incidence de pathologies en fonction des apports en n-3 sont encore limitées. Cela souligne la pertinence de mettre en œuvre des études d'intervention en nutrition. Les études épidémiologiques en élevage, ont principalement rapporté des effets sur la reproduction (intervalles vêlage-œstrus, etc. comme celle de Meignan et al. (2019)) et la production laitière (Ariza et al., 2019), sans mise en évidence d'une réduction d'un biomarqueurs précis ou une modification nette de maladies cliniques – possiblement par manque de données standardisées disponibles dans cette étude de suivi de cohorte rétrospective.

Effets des AG n-3 sur la santé néonatale : transferts des AG au veau via le colostrum et le lait transitionnel

La supplémentation maternelle en GLE durant la gestation pourrait aussi contribuer à renforcer la santé des veaux, en favorisant le passage transplacentaire des AGPI n-3 et en enrichissant la composition lipidique du colostrum en ces acides bénéfiques (Lerch et al., 2015; Or-Rashid et al., 2010; Santschi et al., 2009). Salehi et al. (2016) ont notamment montré que l'ingestion de colostrum (DIM 0-1) et de lait transitionnel (DIM 2-6) provenant de mères supplémentées en AG essentiels augmentait la disponibilité de ces AG chez le veau nouveau-né. En clair, le veau tète un colostrum enrichi en oméga-3 lorsque sa mère en a reçu dans l'alimentation prépartum, ce qui peut influencer positivement son statut en AG et potentiellement sa santé.

Des études se sont penchées sur l'administration directe d'oméga-3 aux veaux via le colostrum. Par exemple, Opgenorth et al. (2020) ont ajouté une émulsion d'huile de poisson et de lin dans le colostrum distribué à des veaux nouveau-nés. Cette supplémentation a réduit l'indice de stress oxydatif au cours de la première semaine de vie par rapport aux

veaux témoins, avec une augmentation significative des concentrations plasmatiques d'EPA et de DHA et une diminution des biomarqueurs de stress oxydant, notamment le malondialdéhyde (MDA) et l'activité de la glutathion peroxydase (GPx). Ces modifications traduisent une amélioration du statut antioxydant et une tendance à une moindre activation inflammatoire, mesurée par une réduction des concentrations de TNF-α et d'IL-6.

Ces résultats suggèrent que l'enrichissement du colostrum en acides gras n-3 améliore le statut antioxydant et anti-inflammatoire du nouveau-né. Par extension, des vaches dont le colostrum est naturellement enrichi en n-3, grâce à leur alimentation, pourraient transmettre une meilleure protection antioxydante et immunomodulatrice à leurs veaux.
Une autre étude par Grodkowska et al. (2023) a montré que la distribution à des vaches taries d'un mélange d'huile de poisson (source d'EPA/DHA) et de graine de lin avant vêlage modifiait le profil des composants immunomodulateurs du colostrum. Bien que les résultats sur les IgG colostraux soient variables selon les travaux (certaines études n'observant pas de changement significatif du titre en IgG colostral avec un régime enrichi en gras, d'autres rapportant une augmentation modérée), il apparaît que la composition lipidique du colostrum, elle, est nettement influencée par la ration prépartum de la vache. Ainsi, le colostrum des vaches supplémentées en n-3 présente un profil d'acides gras plus insaturés, pouvant inclure davantage d'ALA, d'EPA et de DHA (selon la source utilisée). Or, comme évoqué précédemment, les AGPI du colostrum participent à la régulation de la réponse immunitaire du veau. On peut donc raisonnablement émettre l'hypothèse qu'un colostrum enrichi en oméga-3 pourrait améliorer l'immunité du veau (par exemple en influençant positivement le microbiote intestinal via des effets immunotropes). In fine, le veau ayant bénéficié d'un meilleur transfert de facteurs immunitaires et anti-inflammatoires colostraux pourrait être plus résilient face aux infections néonatales courantes.

Malgré ces espoirs, il faut souligner que relativement peu d'études se sont focalisées spécifiquement sur la période du tarissement pour l'administration d'oméga-3. La plupart des essais nutritionnels ont eu lieu soit en lactation (pour mesurer des effets sur la production laitière ou la reproduction), soit sur la période de transition élargie (prénatal + post-partum immédiat). La fenêtre précise du tarissement, c'est-à-dire les ~60 jours avant vêlage, où la vache n'est plus traite, est une période clé mais souvent délaissée par la recherche sur les suppléments lipidiques. Or, c'est durant cette phase que se construisent les réserves corporelles et que se préparent la colostrogenèse ainsi que le veau à naître. Peu de travaux publiés à ce jour ont testé l'incorporation d'une source d'oméga-3 uniquement pendant le tarissement et évalué ensuite, de façon détaillée, ses conséquences sur la santé de la vache au vêlage et la santé du veau nouveau-né surtout en conditions réelles d'élevage. Le tableau 3 synthétique qui suit compile les essais disponibles menés durant cette période. Il récapitule pour chaque étude les paramètres expérimentaux (nature du supplément et durée de la supplémentation), les matrices biologiques analysées, les biomarqueurs mesurés, ainsi que les effets cliniques observés chez la vache ou son veau.

Tableau 3. Synthèse des études évaluant la supplémentation en oméga-3 pendant le tarissement chez la vache laitière

Article	Taille d'échantillon	Supplémentation nutritionnelle	Période	Matrice	Biomarqueurs	Résultats
Badiei et al. 2014	32 vaches Holstein (16 primip, 16 multip)	160 g/j de suppl. d'oméga-3 (Optomega, sels Ca de poissons)	Durées variables prépartum : **8 sem.** (tout tarissement), **5 sem.** (tarissement éloigné), **3 sem.** (période close-up) vs témoin sans n-3	Sang, lait, ovaires échographie	Glucose, BHB, NEFA, cholestérol, urée sanguine, AST, insuline (pré et post), progestérone post-partum; production laitière; taille follicules; BCS	Rendements laitiers et composition similaires entre groupes, sauf % matière grasse lait ↓ tendance (p≈0,07) pour n-3 *tout tarissement*. Aucune différence sur métabolites sanguins ni hormones (glucose, NEFA, etc.). En revanche, les vaches sous n-3 (quelque soit la durée) avaient des follicules de plus grand diamètre en post-partum; aucune amélioration de la fertilité (taux de gestation).
Đidara et al. 2015	20 vaches Holstein	Contrôle: régime riche en n-6 (tourteau de soja). *LS:* substitution du soja par graines de lin extrudé (n-3, ALA) iso-énérg.	Environ 3 sem. avant vélar jusqu'à 6 sem. après vêlage	Sang	Immunité cellulaire ($CD45^+$ leucocytes, capacité et indice de phagocytose des PMN), stress oxydatif (SOD, GPx), marqueurs de peroxydation (MDA)	**LS vs témoin:** proportion moindre de $CD45^+$ ($P<0,05$) et capacité phagocytaire des neutrophiles réduite ($P<0,05$) dans le groupe n-3. L'activité des enzymes antioxydantes (SOD, GPx) a augmenté autour du vêlage (temps) sans effet régime. La concentration de MDA (peroxydation lipidique) était supérieure chez les vaches n-3 et a culminé au vêlage (effet temps).
Garcia et al. 2014	78 vaches nullipares et multipares	1.7% MS prépartum : graisse saturée (C18:0, SAT) vs insaturée (C18:2n-6, ESS) vs faible gras	Dernières 8 sem. gestation	Colostrum, plasma des veaux	Profil en AG du colostrum; AG plasmatiques du veau; IgG veau (sérum)	Les AG saturées ou linoléiques modifient le profil du colostrum (↑ C18:2n-6, isomères trans). Les veaux de mères nourries aux graisses ont tendance à ↑ IgG sérique et efficacité d'absorption; SAT a eu un effet plus prononcé qu'ESS sur l'IgG veau.
Grossi et al. 2013	26 vaches Friesian multipares	12 g/j d'AG oméga-3 LC (huile de poisson)	3 dernières semaines de gestation	Sang	Protéines de phase aiguë (haptoglobine etc),	Par rapport au témoin, **OME (n-3 seul)**: meilleure balance énergétique post-partum (↓ BHB, ↑ glucose, moins de perte de BCS),

		pendant 3 semaines prépartum (du -21 au -1 j); **OMAS:** même + aspirine (6 mg/kg/j du -7 j) vs **CTR:** huile de palme (saturés)	(prépartum uniquement)		albumine, glucose, BHB, BCS, taux de gestation, RP	inflammation similaire. **OMAS (n-3 + ASA)**: signes d'inflammation aggravée (↑ protéines de phase aiguës, ↓ albumine), métabolisme énergétique altéré (↑ BHB) et très mauvais résultats reproductifs (gestation plus longue, rétention placentaire fréquente).
Jolazadeh et al. 2019	120 vaches (3 traitements), 84 veaux suivis	3 sem. prépartum : témoin; Ca-sels soja (linoléique); Ca-sels huile de poisson (EPA/DHA)	Dernières 3 sem. de gestation	Sérum et performance du veau	IgG veau (sérum et efficacité d'absorption), ADG, température rectale; à 28/77 j : albumine, cholestérol, urée, ALP	Veaux de mères supplémentées (CSO ou CFO) ont IgG sérique ↑, efficacité d'absorption IgG ↑, ADG ↑ (597 vs 558 g/j) et T° rectale ↓ par rapport au témoin. Le starter riche en gras (FC-2) améliore aussi la croissance et réduit la diarrhée (vs FC-0).
Liermann et al. 2021	38 veaux (issus de 37 vaches)	Mères supplémentées par sonde : coco (SFA, témoin), EFA (lin+saflor), CLA, ou EFA+CLA (lipides)	63 j avant vêlage (tarissement) jusqu'au début de lactation	Plasma des veaux (jours 1–5 postnatal)	Bilirubine, cholestérol, protéines totales; cytokines (IL-1β, IL-8, IL-10), COX-2, TNF-α; statut oxydatif (FRAP, ROM, rétinol); hématologie (lignée blanche)	J2 : veaux issus de mères EFA ont bilirubine, cholestérol, IL-1β, FRAP ↓ comparé à sans EFA. J3 : veaux EFA ROM ↑; J5 : leucocytes tot. ↓ (EFA vs CLA). En revanche, CLA maternel ↑ IL-1β et bilirubine veau (p.ex. vs EFA).
Moallem et al. 2020	516 vaches (EFLX 276, Témoin 240)	Flocons de lin extrudé : 40 g/kg MS (~80 g ALA/j) durant tarissement; 50 g/kg MS (~220 g ALA/j) en lactation post-partum	21 j avant vêlage (tarissement) et périodes post-partum	Vaches : production laitière, composition du lait	Production laitière (kg/j), %MG, %Prot, profil FA du lait; incidence de la cétose, mortalité, intervalles de gestation	+4.5% de lait (1.8 kg/j de plus) sous ALA; MG et Prot% du lait ↓; FA n-3 du lait ×3.9 (ratio n-6:n-3 passe de 13→4.1). Incidence de la cétose ↓ (31.2→23.5%) et gravité moindre sous EFLX; mortalité ↓ (4.6→0.7%); tendance à réduire le temps à la conception.

Salehi et al. 2016	39 vaches taries (14 primip., 25 multip.)	8% MS de graines roulées : canola (riche oléique) vs tournesol (riche linoléique) vs témoin (aucune)	Derniers 35 jours avant vêlage (tarissement)	Colostrum (1re traite)	Composition du colostrum (lipides, protéines, lactose), profil en AG, valeur Brix (indicateur IgG)	Tournesol vs canola : ↑ prot. colostre (15.0 vs 12.9%), Brix (24.3 vs 20.3%), et CLA cis-9,trans-11 (0.64 vs 0.48%). Les profils AG du colostrum reflètent largement la graine donnée (p.ex. +linoléate, isomères trans).
Santschi et al. 2009	16 vaches taries (7 Holstein, 9 Brune)	0 vs 1.8 kg/j huile de palme (C16:0, contrôle) ou lin extrudé (riche ALA, n-3)	5 sem. avant à 4 sem. après vêlage (transition)	Colostrum et lait	Profil en AG du colostrum et du lait; paramètres métaboliques maternels (NEFA, BHBA…)	Lin extrudé↑ C18:0, C18:1, C18:2, C18:3 dans le colostrum et le lait (p.ex. proportion n-3 la plus élevée dans lait du groupe LL); aucun effet sur production laitière, composition standard ni paramètres métaboliques des vaches.
Santschi et al. 2009	16 vaches taries (7 Holstein, 9 Suisse Brune)	1,8 kg/j DM d'huile de lin extrudé (21 % DM en gras, riche en ALA) vs huile de palme (témoin)	5 sem. avant à 4 sem. après vêlage (plan croisé CC, CL, LC, LL)	Colostrum, lait de début de lactation, plasma sanguin	Profil FA du colostrum et du lait (principalement 16–18 C), glucose et triglycérides plasmatiques, insuline	Aucun effet sur DMI, taux plasmatiques de glucose/insuline/TG, production ni composition laitière. Le lin a ↑ la part des C18:0, C18:1, C18:2 et C18:3 dans le colostrum et le lait (plus haut en n-3 dans le groupe LL), avec réponse rapide en début de lactation pour les vaches passant au lin après vêlage. Le transfert prépartum du C18:3 vers le lait a été minime.
Sun et al. 2022	45 vaches multipares Holstein – 37 utilisées (12 CON, 12 HN3, 13 HN6)	3 régimes isoénergétiques pré- et post-partum: **CON** : 1 % AG hydrogénés (saturés); **HN3**: 3,5 % extrudat de lin (ALA, n-3); **HN6**: 8 % soja extrudé (C18:2n-6)	28 j avant vêlage à 28 j post-partum	Sang maternel et veau, colostrum, lait transitionnel	Comptages des cellules immunitaires (neutrophiles, lymphocytes, monocytes), IgG/IgA/IgM sériques, cytokines inflammatoires (IL-1β, IL-2, TNF, etc.), IgG du colostrum, éléments traces (Zn, Ca) du lait, production laitière (14–28j)	**Sang vache:** HN3↑ neutrophiles en fin de gestation et post-partum, glucose↑, IL-1β↓ ($p<0,05$ pré & post) vs CON; TNF↓ dans sérum de veaux HN3 vs HN6 (24h). **Colostrum:** [IgG] en g/L plus faible en HN3/HN6 vs CON ($p<0,01$), mais rendement en IgG non modifié. **Lait (14–28j):** production lait +5–6 kg/j en HN3/HN6 vs CON ($p<0,01$); Zn et Ca modifiés (HN3: Zn↑, Ca↑).

Uken et al. 2021	38 vaches (CTRL 9, EFA 9, CLA 9, EFA+CLA 11)	Huile de coco (CTRL); 78 g/j lin+saflor (EFA, n-3); Lutalin (CLA); combo EFA+CLA	Dernières 9 sem. gestation (tarissement) et début lactation	Colostrum/ lait, sang des veau	FA du colostrum/lait; FA plasmatiques du veau (phospholipides, esters cholestérol: ALA, LA, DPA, DHA, AA, CLA…)	EFA↑ ALA dans **toutes** les fractions plasmatiques du veau (jours 1 & 5); EFA+CLA↑ CLA (cis9, trans11) plasmatiques au jour 5; pas d'effet sur le poids des veaux.
Uken et al. 2021	38 vaches multipares	Dernières 9 sem. avant vêlage (et ensuite transition milk) : EFA (78 g/j lin + 4 g/j carthame, ratio n-6:n-3=1:3), CLA (BASF Lutalin, 27% CLA), EFA+CLA vs témoin (76 g/j huile coco)	9 sem. prépartum + colostrum/trans. milk (jusqu'à 5 j de vie du veau)	Colostrum /lait, sang des veaux (0 et 5 jours)	Composition lipidique du colostrum et du lait (acides gras essentiels, CLA); profil des fractions lipidiques plasmatiques du veau (TG, PL, CE)	L'apport maternel EFA ↑ nettement l'ALA (C18:3n-3) dans toutes les fractions lipidiques plasmiques du veau (J1 et J5). Le groupe EFA+CLA avait plus de c9,t11-CLA dans le plasma du veau (puis augmentation des isomères CLA à J5). La composition du colostrum/trans. milk a changé selon le régime (plus de PUFA n-3 dans EFA), mais le poids des veaux au sevrage précoce n'a pas varié entre groupes.
Zachut et al. 2010	44 vaches multipares Holstein	*1 kg/j d'extrudat de lin* (ricaî en ALA, C18:3n-3) prépartum (4 sem.), puis 9,2 % DM postpartum	256 j de gestation (~–4 sem.) à 100 j post-partum	Plasma sanguin	Glucose et AGNE (NEFA) plasmatique, profil en AG du tissu adipeux et lait (C18:3n-3, rapport n-6:n-3), DMI, production laitière, bilan énergétique	DMI +3,8 %, production laitière +6,4 %, % MG du lait ↓ (–0,4 %U) par rapport au témoin. Bilan énergétique amélioré; aucune diff. sur NEFA ou glucose plasmatiques. Forte ↑ de C18:3n-3 dans plasma/adipose et du n-3 dans le lait (x3,7) avec baisse du rapport n-6:n-3.

Les études existantes suggèrent que les AG n-3 pourraient améliorer certains paramètres métaboliques et la production laitière chez la vache laitière. Cependant, de nombreuses incertitudes subsistent concernant leurs effets sur la santé à proprement parler, en particulier lorsque l'apport est ciblé sur la période de tarissement. Premièrement, l'impact des oméga-3 sur les indicateurs cliniques de santé en postpartum (incidence des maladies de la transition, paramètres hépatiques, réponses immunitaires) reste insuffisamment documenté, et les résultats disponibles sont parfois difficiles à dissocier de ceux relatifs à la production. Deuxièmement, les données sur la qualité du colostrum et la santé du veau en lien avec la supplémentation maternelle en AG n-3 sont limitées et proviennent essentiellement d'études indirectes. De plus, la période du tarissement reste un champ peu exploré dans la littérature : peu de travaux se sont intéressés à cette phase pourtant stratégique pour la santé périnatale.
Par ailleurs, la majorité des études ont été réalisées en ferme expérimentale, souvent avec des effectifs réduits et des conditions très contrôlées, ce qui limite la transposabilité des résultats aux élevages commerciaux. Ces lacunes justifient la conduite d'études spécifiques en conditions terrain, visant à évaluer l'effet d'une supplémentation en AG n-3 pendant le tarissement sur la santé des vaches et des veaux. Une autre difficulté méthodologique réside dans la grande hétérogénéité des critères utilisés pour évaluer les effets des interventions. Certaines études utilisent des indicateurs classiques de santé ou de performance (morbidité, production laitière), tandis que d'autres mobilisent des approches plus fines, basées sur des biomarqueurs mesurés dans divers fluides biologiques. Dans ce contexte, il devient nécessaire de clarifier les méthodes d'évaluation disponibles afin de mieux comprendre la nature des effets rapportés, leur cohérence biologique, et leur pertinence pratique.

3. Approche épidémiologique et méthodes d'évaluation des stratégies nutritionnelles en santé animale

En élevage bovin laitier, la santé du troupeau est traditionnellement surveillée à l'échelle populationnelle, à l'aide d'indicateurs de performances techniques et sanitaires. Il s'agit en particulier de la production laitière (quantité de lait par vache et sa composition), de la fréquence déclarée des pathologies d'intérêt (mammites, boiteries, métrite, dystocies, etc.). la note moyenne d'état corporel (NEC) au vêlage Ainsi, la majorité des éleveurs citait la production laitière journalière et la composition du lait (taux protéique, butyreux) comme indicateurs de suivi privilégiés (Dalez et al., 2018). Ces indicateurs « classiques » fournissent donc une lecture globale de la santé et de la productivité du troupeau.

Malgré leur utilité, ces indicateurs présentent plusieurs limites méthodologiques importantes. D'une part, ils offrent une faible sensibilité et spécificité au niveau collectif pour détecter précocement un déséquilibre nutritionnel émergent. Par exemple, la NEC est largement utilisée pour évaluer le bilan énergétique de la vache, mais elle est un indicateur a posteriori : une baisse de NEC n'apparaît souvent que lorsque la vache a déjà fait face à un déficit énergétique important (Terral and Laurent, 2019). De même, les bilans de production ou les scores cliniques restent assez grossiers et peuvent fluctuer en fonction de nombreux facteurs (parité, stade de lactation, environnement, pratiques de gestion) sans qu'il soit possible d'isoler facilement l'effet d'un changement nutritionnel spécifique (Silva et al., 2024). Ces facteurs confondants, combinés à la forte variabilité individuelle, peuvent biaiser l'interprétation : par exemple, le stade de lactation ou la santé métabolique préalable de la vache influencent naturellement la production et la composition du lait, indépendamment de l'intervention alimentaire. De plus, la production laitière peut réagir rapidement à un changement de ration, mais cette variabilité ne permet pas toujours d'identifier un déséquilibre nutritionnel de manière spécifique. Enfin, des biais méthodologiques tels que le choix de l'échantillon ou la subjectivité de la mesure (évaluation visuelle de la NEC, déclaration des pathologies) peuvent altérer la fiabilité des données récoltées.

Pour toutes ces raisons, ces indicateurs ne constituent pas des outils de surveillance nutritionnelle spécifiques ou prédictifs à l'échelle populationnelle. Ce manque de clarté méthodologique s'explique en partie par l'hétérogénéité des critères d'évaluation utilisés dans les études disponibles. Face à cette variabilité, il devient essentiel de recourir à une approche épidémiologique rigoureuse, capable de structurer l'analyse des effets des interventions nutritionnelles, en particulier lorsque l'on souhaite objectiver des effets physiologiques ou cliniques via des indicateurs fiables, mesurables et reproductibles. Dans cette optique, les biomarqueurs lipidiques et inflammatoires, tels que les profils d'acides gras plasmatiques (EPA/DHA), les concentrations de NEFA, le rapport oméga-6/oméga-3, les cytokines (IL-6, TNF-α) ou les marqueurs du stress oxydatif (MDA, GPx), apparaissent comme des outils d'évaluation prometteurs pour suivre les effets métaboliques, antioxydants et immunomodulateurs des interventions nutritionnelles (Perera et al., 2022). Ils permettent d'aller au-delà des critères classiques de production ou de santé apparente, en apportant des informations précieuses sur l'exposition, la réponse fonctionnelle de l'organisme et l'état biologique global du couple vache-veau. L'utilisation raisonnée de biomarqueurs, intégrée dans une démarche épidémiologique, est donc au cœur de l'enjeu méthodologique de cette thèse.

Bien que l'épidémiologie adopte une perspective globale au niveau du troupeau, les analyses reposent finalement sur des données collectées à l'échelle individuelle. Les paramètres

physiologiques, cliniques ou zootechniques mesurés sur chaque animal – qu'il s'agisse d'un biomarqueur sérique, d'un score corporel, ou de la composition du lait – constituent la matière première. C'est la répétition et l'agrégation de ces mesures individuelles qui permettent de dégager des tendances fiables, ajustées pour les facteurs de confusion, et ainsi d'éclairer la décision sanitaire en élevage. Par exemple, un taux élevé de BHB chez quelques vaches à différents jours postpartum, pris isolément, n'indique qu'un incident métabolique ponctuel. En revanche, une analyse épidémiologique intégrant ces mesures dans un modèle ajusté (tenant compte de la parité, de la ferme, de la saison, etc.) peut établir un lien entre un régime alimentaire et le risque de cétose à l'échelle du troupeau. Cette articulation entre données individuelles et raisonnement populationnel est la clé de voûte des études en nutrition animale appliquée à la santé.

Introduction aux concepts épidémiologiques appliqués à la nutrition animale

En épidémiologie, comprendre l'apparition et la répartition des problèmes de santé nécessite une approche systémique intégrant à la fois la fréquence des événements, leurs déterminants, et les relations causales sous-jacentes. Cette démarche analytique s'appuie sur l'identification des facteurs de risque, des conditions environnementales, et des comportements susceptibles d'influencer l'état de santé d'une population animale ou humaine. Dans le contexte de la nutrition animale, l'épidémiologie s'impose comme une approche pertinente pour évaluer l'impact réel d'une supplémentation sur la santé, en conditions réelles d'élevage. Elle permet de passer d'un raisonnement mécanistique ou expérimental isolé à une analyse intégrée prenant en compte la variabilité biologique, environnementale et zootechnique des troupeaux (Merrill, 2024).

La ***distribution*** fait référence à la fréquence et au schéma des états ou événements liés à la santé. Lorsqu'on décrit la distribution d'un état de santé, on considère à la fois le nombre de cas (fréquence) et la manière dont ces cas se répartissent dans la population (schéma). La fréquence prend tout son sens lorsqu'elle est rapportée à la taille de la population à risque, ce qui permet de comparer des groupes. Le schéma décrit qui est affecté, où, et à quel moment – des dimensions indispensables dans l'analyse des interventions nutritionnelles (Merrill, 2024).

Les ***déterminants*** sont les facteurs qui produisent un effet sur la santé. L'objectif de l'épidémiologie est d'identifier ces relations causales afin d'élaborer des stratégies de prévention ou de correction. Cette notion est centrale dans l'analyse des effets d'une supplémentation en oméga-3, qui peut être envisagée comme un déterminant nutritionnel potentiel de la santé métabolique, immunitaire ou néonatale. Les déterminants peuvent être multiples et s'articuler dans des chaînes causales complexes, ce qui justifie le recours à des outils de mesure sensibles et spécifiques, comme les biomarqueurs (Merrill, 2024).

Facteurs de risque et causalité : structurer l'interprétation des effets

Un ***facteur de risque*** est un comportement, une exposition environnementale ou une caractéristique biologique qui augmente la probabilité de survenue d'un problème de santé. Appliqué à notre contexte, une carence en oméga-3, ou à l'inverse un apport excessif ou mal

synchronisé, pourrait constituer un facteur de risque pour certains troubles de la transition chez la vache ou de mauvaise qualité colostral.

Ces facteurs peuvent être *modifiables* (alimentation, environnement) ou *non modifiables* (parité, génétique). L'épidémiologie nutritionnelle cherche à isoler les premiers afin d'identifier des leviers d'intervention.

L'analyse statistique occupe une place centrale dans l'épidémiologie. Elle permet de modéliser les associations entre une exposition nutritionnelle et un ensemble de critères de jugement de la santé (par ex. biomarqueurs), d'ajuster les effets pour des variables de confusion potentielles (élevage, parité, état corporel, saison…), d'identifier des interactions (par exemple, entre groupe expérimental et moment du prélèvement), et de quantifier la part attribuable au facteur nutritionnel**,** à travers les fractions attribuables au risque ou à la population.

L'utilisation de biomarqueurs nutritionnels facilite l'évaluation causale des liens nutrition-santé selon les critères de Hill (Shimonovich et al., 2021). En pratique, on peut vérifier la temporalité (le biomarqueur d'exposition mesuré avant l'effet), la plausibilité biologique et la cohérence (des mécanismes métaboliques connus reliant le nutriment au biomarqueur et à la santé), la spécificité (un biomarqueur spécifique au nutriment d'intérêt), ainsi que le gradient dose-réponse (une augmentation progressive de l'apport entraînant une variation graduelle du biomarqueur et de l'effet). Par exemple, on s'attend à ce que plus l'ingestion d'un nutriment augmente, plus la concentration correspondante du biomarqueur dans le lait croisse, et que ceci se traduise par un effet graduellement modifié. Ces éléments sont explicitement cités dans les « critères de Hill » (force de l'association, cohérence, spécificité, temporalité, plausibilité, gradient, etc.) qui renforcent la preuve d'une relation causale lorsque plusieurs critères sont satisfaits. Sans de tels biomarqueurs intermédiaires, les études nutritionnelles restent souvent limitées par l'absence de séquence temporelle claire et la difficulté à isoler l'effet purement diététique (Vries et al., 2013).

L'étude des déterminants de santé, combinée à l'analyse des facteurs de risque et à l'identification de liens causaux solides, permet de structurer l'évaluation des interventions nutritionnelles dans une perspective scientifique rigoureuse. L'utilisation des biomarqueurs dans cette démarche représente une avancée méthodologique majeure, en permettant une mesure sensible, spécifique et dynamique des effets biologiques induits par la supplémentation.
Dans cette thèse, les concepts épidémiologiques présentés ici serviront de socle à l'analyse des effets des oméga-3 sur la santé du couple vache-veau, tant dans la revue systématique que dans l'étude terrain, avec un accent sur les biomarqueurs mesurés dans le sérum, le colostrum et le lait transitionnel.

Sur le plan méthodologique, bien que les outils d'épidémiologie nutritionnelle existent et aient déjà montré leur valeur, leur application demeure relativement récente en santé animale. Il reste peu d'exemples d'études d'intervention en élevages commerciaux, la plupart des conseils reposent encore sur des essais expérimentaux. En outre, la recherche de biomarqueurs prédictifs fiables et faciles à mesurer dans les différentes matrices reliant la nutrition aux statuts de santé est en cours : identifier des indicateurs précoces (par exemple un profil métabolique sanguin en fin de gestation) permettant de prévoir quelles vaches bénéficieront le plus d'une supplémentation en AG n-3 donnée constituerait une avancée majeure, mais les connaissances sont embryonnaires à cet égard. Enfin, la rareté des données concernant la période spécifique du tarissement et l'utilisation de suppléments en conditions terrain fait que les décideurs disposent de peu de références pour guider leurs pratiques pendant cette phase. Tout ceci justifie pleinement la réalisation d'études dédiées, combinant approche expérimentale et épidémiologique, afin de combler le fossé entre la recherche expérimentale et la réalité de l'élevage. C'est dans cette optique que s'inscrivent les objectifs de la thèse, présentés dans la partie suivante.

III. Objectifs et démarche scientifique

L'objectif principal de cette thèse est d'évaluer, par une approche épidémiologique, l'effet d'une supplémentation en graine de lin extrudées (GLE) riche en acides gras (AG) oméga-3 durant la période tarie sur la santé et le métabolisme énergétique maternel et du veau en début de vie, leurs effets sur la composition et la qualité du colostrum et du lait transitionnel, ainsi que le transfert des oméga-3 de la ration à la vache, puis au veau via les échanges fœto-maternels in utero et via le colostrum et le lait transitionnel. Et, concevoir et tester la faisabilité d'une étude interventionnelle randomisée contrôlée d'épidémiologie nutritionnelle. Cette démarche vise à initier des études d'épidémiologie nutritionnelle en santé animale, en s'appuyant sur une approche combinant revue systématique, essais contrôlés randomisés (ECR) et développement de protocoles à grande échelle.

Première approche : Synthèse des preuves scientifiques par revue systématique et méta-analyse

Une **revue systématique** est une méthode rigoureuse et structurée de synthèse des connaissances scientifiques sur une question de recherche précise. Elle vise à identifier, sélectionner, évaluer de manière critique et synthétiser toutes les études pertinentes sur un sujet donné, en suivant un protocole prédéfini et reproductible, afin de réduire les biais et d'offrir une vue d'ensemble critique. La **méta-analyse**, quant à elle, est une technique statistique utilisée pour combiner quantitativement les résultats de plusieurs études indépendantes mais similaires, produisant une estimation globale (par exemple, un effet moyen pondéré). Ensemble, ces méthodes constituent le niveau de preuve le plus élevé en médecine factuelle (*evidence-based medicine*).

Dans cette thèse, une revue systématique associée à une méta-analyse a été mobilisée pour synthétiser les données existantes sur les biomarqueurs nutritionnels dans le colostrum et le lait transitionnel chez les bovins. Compte tenu du nombre limité d'études spécifiques aux AG n-3, une analyse élargie aux supplémentations nutritionnelles variées a permis d'explorer la variabilité méthodologique des essais expérimentaux, d'identifier les forces et limites des protocoles existants, et de sélectionner des biomarqueurs pertinents pour l'épidémiologie nutritionnelle. La matrice colostrum-lait transitionnel, facilement accessible, a été ciblée comme support clé pour vérifier l'exposition aux supplémentations et quantifier leurs effets biologiques (cf. chapitre 2).

Deuxième approche : études épidémiologiques

°Une étude pilote interventionnelle : un essai randomisé contrôlé à petite échelle

Un essai randomisé contrôlé (ECR) représente une méthode de référence où des participants sont répartis aléatoirement entre un groupe expérimental (recevant une intervention spécifique) et un groupe témoin, afin de comparer objectivement les effets de l'intervention. Dans cette thèse, un ECR à petite échelle a été conçu afin de tester la faisabilité sur le terrain, en collaboration avec la société Valorex, utilisant des graines de lin extrudées (Tradilin®) riches en acides gras n-3. L'objectif était d'évaluer l'incorporation et la dynamique de transfert de ces acides gras chez la vache en fin de gestation, ainsi que leur redistribution post-vêlage : (1) vers le veau via le colostrum et le lait transitionnel, et (2) chez la vache pour soutenir ses besoins énergétiques post-partum.

Les biomarqueurs identifiés dans la revue systématique ont permis d'évaluer l'impact de la supplémentation sur le métabolisme énergétique maternel, le développement néonatal du veau et la qualité nutritionnelle des matrices lactées (cf. chapitre 3).

°Conception et mise en œuvre d'un protocole d'une étude épidémiologique interventionnelle à grande échelle : Sur la base des résultats et des enseignements tirés de l'étude pilote précédent (cf. chapitre 3), un protocole d'étude interventionnelle à large échelle a été élaboré (cf. chapitre 4) en s'appuyant sur une approche épidémiologique rigoureuse et une collaboration avec le réseau Innoval et Valorex. Cet essai vise à évaluer l'effet de la supplémentation en AG n-3 durant le tarissement sur la santé péripartum des vaches, incluant la prévention des troubles métaboliques et l'optimisation du bilan énergétique. Il étudie également l'impact sur la qualité nutritionnelle du colostrum, ainsi que sur la morbidité et la mortalité néonatales des veaux. Enfin, il cherche à déterminer la fraction attribuable (PAF) des AG n-3 sur la santé du couple vache-veau, en comparaison avec d'autres facteurs de risque établis. À la lumière des contraintes identifiées lors de l'étude pilote, le protocole a été allégé sur le plan opérationnel : il repose principalement sur la collecte standardisée de biomarqueurs dans le colostrum et l'exploitation des données existantes (indicateurs zootechniques, sanitaires), afin d'en améliorer la faisabilité tout en renforçant sa validité externe.

Structure globale de la thèse

Cette thèse s'articule autour de trois chapitres principaux (hors introduction générale et discussion générale), chacun correspondant à une étape méthodologique distincte mais complémentaire : la synthèse critique des preuves existantes, la validation épidémiologique d'une intervention nutritionnelle en santé animale, et le passage à l'épidémiologie à grande échelle. Cette progression reflète une démarche complète, allant de l'identification de biomarqueurs à l'application sur le terrain, dans le but de renforcer les stratégies de prévention en santé animale par l'épidémiologie nutritionnelle.

Chapitre II. Systematic review and meta-analysis of nutritional biomarkers measured in colostrum and transition milk of beef and dairy cows following maternal dietary supplementation during the dry period

(Note : Ce résumé synthétise les objectifs, résultats et implications de la revue systématique et la métanalyse. L'article complet est présenté dans les pages suivantes ou via https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2025.106604).

Cette revue systématique et méta-analyse constitue la première étape méthodologique de la thèse, servant de fondement pour guider les approches expérimentales et épidémiologiques développées dans les chapitres suivants. Son objectif était double : (1) identifier les biomarqueurs nutritionnels pertinents dans le colostrum et le lait transitionnel en réponse à des supplémentations maternelles durant le tarissement, et (2) évaluer la qualité méthodologique des études existantes pour proposer un cadre rigoureux en épidémiologie nutritionnelle animale.

Principaux résultats et leur intégration dans la thèse

Pour renforcer la fiabilité des conclusions, une évaluation rigoureuse du risque de biais a été réalisée sur les 70 études incluses, via un outil adapté combinant les directives REFLECT (Sargeant et al., 2010) et l'outil RoB de Cochrane (Higgins et al., 2008). Quatre domaines clés (D1 à D4) ont été notés de 0 (risque élevé) à 1 (risque faible) :

- **D1 (Conception de l'étude)** : 70 % des études présentaient un faible RoB, avec des interventions bien décrites (dose, durée).
- **D2 (Sélection des biomarqueurs)** : 24 % des études justifiaient le choix des biomarqueurs, contre 22 % à risque élevé (absence de lien avec les objectifs).
- **D3 (Randomisation)** : 52 % des études avaient une randomisation adéquate (faible RoB), mais 48 % présentaient un risque élevé (groupes non comparables).
- **D4 (Analyse des données)** : Seulement 2 % des études détaillaient la justification des tailles d'échantillon ou les données manquantes (faible RoB).

Classement global : 41 % des études = faible RoB (haute qualité) ; 47 % = RoB incertain (qualité modérée) ; 12 % = risque élevé (qualité faible).

Cette analyse révèle que la majorité des études manquent de rigueur méthodologique, notamment dans la justification des biomarqueurs (D2).

Absence de justification des biomarqueurs dans les études expérimentales

Sur les 70 études analysées, 76% ne justifiaient pas le choix des biomarqueurs mesurés, malgré leur rôle central pour évaluer l'effet des supplémentations. Par exemple, les IgG (mesurées dans 41 % des études) étaient souvent sélectionnées pour leur lien avec l'immunité passive du veau, mais sans explication mécanistique liée au type de supplémentation (ex. : vitamines vs. lipides). Cette lacune méthodologique limite la transposabilité des résultats et souligne la nécessité d'une approche systématique, intégrée dans les chapitres suivants de la thèse pour optimiser les protocoles.

Proposition d'une classification des biomarqueurs

Pour pallier ces limites, nous avons classé les 47 biomarqueurs identifiés en trois catégories adaptées de Gibson (2024) :

Biomarqueurs d'exposition (38 biomarqueurs, ex. : acides gras, vitamines) : Reflètent l'apport nutritionnel maternel.

Biomarqueurs de fonction (47 biomarqueurs, ex. : IgG, cortisol) : Liés aux impacts physiologiques (immunité, inflammation).

Biomarqueurs de statut (45 biomarqueurs, ex. : protéines, lactose) : Indicateurs de l'état métabolique ou nutritionnel.

Cette classification, absente dans **90 % des études analysées**, offre un cadre structuré pour relier les biomarqueurs aux objectifs des supplémentations, une approche reprise dans les essais contrôlés randomisés (ECR) de la thèse.

Rôle du colostrum et du lait transitionnel comme matrices d'exposition

Le colostrum et le lait transitionnel se sont révélés des matrices pratiques et informatives pour évaluer :

L'exposition maternelle : Les biomarqueurs lipidiques (ex. : acides gras oméga-3) et vitaminiques (ex. : vitamine A) dans le colostrum reflètent fidèlement la supplémentation maternelle en lipides et vitamines.

La santé de la vache : Les biomarqueurs métaboliques (ex. : BHB, lactose) dans le lait transitionnel corrèlent avec la balance énergétique post-vêlage.

La santé du veau : Les IgG colostraux (>50 g/L) sont critiques pour l'immunité néonatale.

Cependant, ces **matrices ne suffisent pas isolémen**t en épidémiologie nutritionnelle. Par exemple, les biomarqueurs sanguins (ex. : NEFA) ou placentaires complètent l'évaluation de l'exposition in utero. Cette limitation a motivé l'intégration de mesures complémentaires dans les ECR de la thèse (ex. : paramètres sanguins du veau/vache).

Variation significative des biomarqueurs selon le type de supplémentation

Parmi les 42 études rapportant des variations significatives :

30 % des biomarqueurs variaient en réponse à la supplémentation, principalement les IgG (+8,7 g/L en méta-analyse), les protéines (+12 %), et les vitamines (ex. : vitamine E +23 %).

Les supplémentations en vitamines et lipides induisaient les variations les plus marquées (ex. : IgG +14 g/L avec vitamines), tandis que les minéraux avaient un effet modéré (ex. : sélénium +9 %).

Application dans la thèse et recommandations issues de la revue

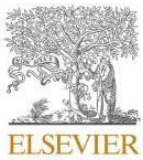
Ces résultats ont orienté le choix des supplémentations en oméga-3 (graines de lin extrudées) dans les ECR de la thèse, en ciblant des biomarqueurs d'exposition (AG n-3) et de fonction (ex : IgG, BHB).

Justifier systématiquement le choix des biomarqueurs → Les études ultérieures de la thèse (Chapitres 3 et 4) explicitent le lien entre les biomarqueurs sélectionnés (ex. : AG n-3, IgG) et les mécanismes physiologiques attendus (ex. : transfert placentaire, immunité).

Combiner matrices et biomarqueurs complémentaires → Si le colostrum/lait transitionnel reste la matrice centrale pour l'épidémiologie nutritionnelle (coût, accessibilité), les ECR de la thèse intègrent également des mesures sanguines (vaches et veaux) pour une évaluation holistique.

En synthèse, cette étape a permis de passer d'une approche exploratoire à une méthodologie rigoureuse, alignant les biomarqueurs avec les mécanismes biologiques et les objectifs de santé animale, une avancée critique pour initier des études épidémiologiques robustes.

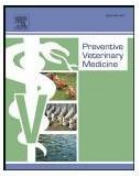
Preventive Veterinary Medicine 243 (2025) 106604



Contents lists available at ScienceDirect

Preventive Veterinary Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/prevetmed



Systematic review and meta-analysis of biomarkers measured in colostrum and transition milk of beef and dairy cows following maternal dietary supplementation during the dry period

Laudy Serhal *, Juan Manuel Ariza, Nathalie Bareille

Oniris, INRAE, BIOEPAR, 44300 Nantes, France

ARTICLE INFO

Keywords:
Biomarkers
Exposure
Health
Dietary supplementation
Cattle
Colostrum
IgG

ABSTRACT

Maternal nutrition during the dry period impacts colostrum quality, as well as cow and calf health. Despite the potential of biomarkers, in evaluating preventive interventions, their systematic identification remains limited. The objective of this study is to synthesize and identify biomarkers in colostrum and transition milk and, quantify the variation in response to dietary supplementation during the dry period. A comprehensive literature search was conducted across animal sciences interfaces, including studies from 1949 to 2024. Eligible studies focused on cows receiving dietary supplementation during late pregnancy measuring biomarkers in colostrum and transition milk. Study quality was assessed using a risk of bias tool. We identified 70 studies, all on experimental farms. The overall quality of the evidence was considered good, with 41 % of the studies had a low risk of bias. However, almost all studies lacked a plausible rationale for biomarkers selection. A total of 47 distinct biomarkers were identified, and categorized into biomarkers of dietary exposure (n = 38; e.g., lipids), health (n = 47; e.g., SCC), and status (e.g., protein). To explore the variation of colostrum IgG concentration in response to dry period supplementation, a random-effects meta-analysis was performed on 22 studies, including 19 in dairy cattle and 3 in beef cattle. Despite non-explicit pathways, we found a significant mean difference of 8.7 g/L of IgG between the treatment and control groups. In conclusion, in order to improve the selection of biomarkers in the longitudinal studies, we recommend to reflect on the supposed causal pathway. The link between exposure and health can be documented with appropriate biomarkers available in colostrum and milk matrices.

1. Introduction

In beef and dairy cattle production systems, cows go through physiological phases that affect their health and productivity, including pregnancy, the dry period, calving and early lactation (Britt et al., 2018; De Vries and Marcondes, 2020; Mansell et al., 2006). The dry period, which lasts at least six to eight weeks before calving, is particularly important for the cow's physiological recovery and preparation for the next lactation, for maintaining optimal health and reducing disease risk (Dado-Senn et al., 2019). It supports the regeneration of mammary tissue, the replenishment of maternal energy reserves, and the process of colostrogenesis, which begins three to seven weeks before calving (Barrington et al., 2001; Fischer-Tlustos et al., 2021). Colostrum, secreted primarily within the first 24 h postpartum, is followed by transition milk, defined as milking 2–6 days postpartum (Fischer-Tlustos et al., 2019); both are crucial for neonatal health preventive, providing immunoglobulin, energy, growth factors, vitamins, and minerals (McCarthy et al., 2020). Their quality and composition directly influence calf survival and immune development, as neonatal calves lack passive immunity at birth (Yang et al., 2015).

Maternal nutrition during the dry period is a cornerstone of preventive herd health management, cow's health, colostrum quality and ultimately calf health. During the dry period and peripartum phase, substantial adaptations of dietary regimen are made to align with the varying metabolic requirements of the cow (Wankhade et al., 2017). A number of research experiments have demonstrated that, during the dry period, specific nutrients, including vitamins, minerals, high-energy foods, and fish oil, can impact the immune and metabolic responses of dairy cows, which can subsequently influence colostrum quality and the health of calves (Diddeniya et al., 2024). The proper nutrient supply management has also significant implications for maternal health, including factors such as metabolic stability, immune function, and

* Corresponding author.
E-mail addresses: laudyserhal@hotmail.com (L. Serhal), juan-manuel.ariza-chacon@oniris-nantes.fr (J.M. Ariza), nathalie.bareille@oniris-nantes.fr (N. Bareille).

https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2025.106604
Received 17 April 2025; Received in revised form 16 June 2025; Accepted 19 June 2025
Available online 20 June 2025
0167-5877/© 2025 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

uterine recovery postpartum (Sammad et al., 2022). Moreover, maternal nutrition can enhance fetal development and support postnatal growth (Gao et al., 2012; Micke et al., 2010), despite the limited immunity transfer through the placenta in cattle (Fischer-Tlustos et al., 2021; Vonnahme et al., 2013).

Several approaches are commonly used to evaluate the effects of such nutritional preventive strategies. These include monitoring indicators such as body condition score (**BCS**), body weight morbidity and mortality of both calves and cows (Gilmore et al., 2011; Ndlovu et al., 2007). While these metrics provide operational insights for the overall outcomes impacting dietary interventions, their utility is often limited by insufficient statistical power to capture health events (Li et al., 2021). Moreover, their inability to elucidate the complex biological mechanisms underlying the observed effects ultimately obscures causal pathways (Shimonovich et al., 2021). To address these limitations, nutritional biomarkers have emerged as indispensable tools for epidemiological monitoring and evaluation of preventive dietary interventions. These biomarkers, which are widely used in human nutritional epidemiology (Jenab et al., 2009; Dragsted et al., 2017), may have significant potential for application in veterinary epidemiology contexts to assess population-level responses to interventions. By definition, *Biomarkers of Nutrition and Development* (**BOND**), are biological characteristics that are measured to assess responses to nutritional interventions or to indicate normal or pathogenic processes (Raiten and Combs, 2015; Raiten et al., 2011). These biomarkers range from measurements in biological tissues and fluids to physiological, metabolic, or genetic indicators that influence health and disease risk. They serve as proxies for health status and are critical in understanding the interplay between maternal nutrition and neonatal outcomes. They can be found in colostrum, milk, blood, urine or other fluids and tissues. Among these matrices, in an epidemiological context, colostrum and milk offer advantages as they are non-invasive, and easy to collect, allowing a practical applicability in real-world setting (Shilnikova et al., 2025) for large-scale herd health programs. While several studies have explored the effects of dry period dietary supplementation on cow-calf pair's health and colostrum quality, a systematic identification of the biomarkers used in these studies is lacking. Therefore, the objective of this study was to synthesize and identify biomarkers in colostrum and transition milk and, to quantify their variation in response to maternal dietary supplementation during the dry period.

2. Materials and methods

2.1. Identification of literature search strategy

To meet our objective, we conducted a systematic review and meta-analysis. For this process, scientific articles were collected online. PubMed, Web of Science, and CAB Direct were used as interfaces for this review (Table 1). Conference proceedings and theses were not included in the systematic review.

Our review was conducted according to the PRISMA guidelines *(Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis)* (Moher et al., 2009), from literature search to study selection. Additionally, we considered methodological recommendations from Sargeant and O'Connor (2020). The literature search was done until July 2024.

Using the PIT strategy (Participants: Cows and calves receiving a dietary supplementation, Index: Biomarkers in milk or/and colostrum, Target Condition: Health status) (Table 1), we formulated our research question as follows: Which biomarkers are measured in colostrum and transition milk of cows receiving a dietary supplementation during late pregnancy?

2.2. Inclusion and exclusion criteria

Studies were included if they focused on beef or dairy cows, had an oral dietary supplementation during the dry period, and evaluated biomarkers in colostrum or transition milk. Only studies with full-text availability in French or English were considered. Studies were excluded from the metanalysis if there was no measure of error reported.

Table 1
Search equations used according to three databases.

Databases	Interfaces	Search Equations
Medline	PubMed	(cattle[MeSH Terms] OR calf[Title/Abstract]) AND (dietary supplements[MeSH Terms] AND nutrition [MeSH Terms] OR diet[MeSH Terms]) AND (biomarkers[MeSH Terms]) AND (milk[MeSH Terms] OR colostrum[MeSH Terms]) NOT (child[MeSH Terms] OR infant[MeSH Terms] OR human[MeSH Terms])
Biosis	Web of Science	(TS=cattle OR TS=calf) AND (TS=dietary supplements AND TS=nutrition OR TS=diet) AND (TS=biomarkers) AND (TS=milk OR TS=colostrum) NOT (TS=child OR TS=infant OR TS=human)
CAB Abstract	CAB Direct	(cattle OR calf) AND (dietary supplements AND nutrition OR diet) AND (biomarkers) AND (milk OR colostrum) NOT (child OR infant OR human)

The search strategy utilized Boolean operators (AND/OR/NOT) and was structured around the PIT framework: Participants (cows/calves receiving dietary supplementation), Index (biomarkers in milk/colostrum), and Target Condition (health status). MeSH Terms (Medical Subject Headings, PubMed's vocabulary), TS (Topic Search in Web of Science, covering titles, abstracts, and keywords). Searches were conducted up to July 2024, adhering to methodological recommendations from Sargeant and O'Connor (2020).

2.3. Description of studies selection process

The literature search in three interfaces identified 832 studies. After the elimination of 201 duplicates, 631 studies were assessed for title and abstract screening. At this stage, 557 studies were excluded for various reasons, especially when no milk and/or colostrum biomarkers (n = 222) or no dietary supplementation (n = 170) were found. Finally, the full texts of 70 studies was carefully read and evaluated for qualitative assessment. The 70 studies included in the final analysis were conducted between 1949 and 2024, and were primarily based on controlled experimental farm settings. Fig. 1 shows the flowchart of the selection process.

2.4. Articles screening

Titles and abstracts were screened at baseline according to the inclusion criteria to ensure the selection of relevant studies addressing the research question. A study was considered eligible if it (i) included beef or dairy cattle, (ii) randomized controlled trial (**RCT**), (iii) investigated dietary supplementation during late pregnancy, (iv) measured biomarkers in colostrum and/or transition milk, and (v) included a negative control group.

Screening was performed using the Rayyan website (Ouzzani et al., 2016). The first author performed an initial screening of titles, abstracts and full texts, followed by independent screening by co-authors. A total of 70 studies (138 treatment means) were included in the dataset, covering publications from 1947 onwards. A summary of the selected studies is provided in Supplemental Table S1.

2.5. Data extraction

A full protocol was established prior to data extraction to ensure consistency across studies. Initially, the first author extracted the data, which was then reviewed by at least one co-author. The extraction process focused on six key domains: (i) study characteristics (authors, year of publication), (ii) population characteristics (country, region, production system), (iii) study design (intervention and control groups,

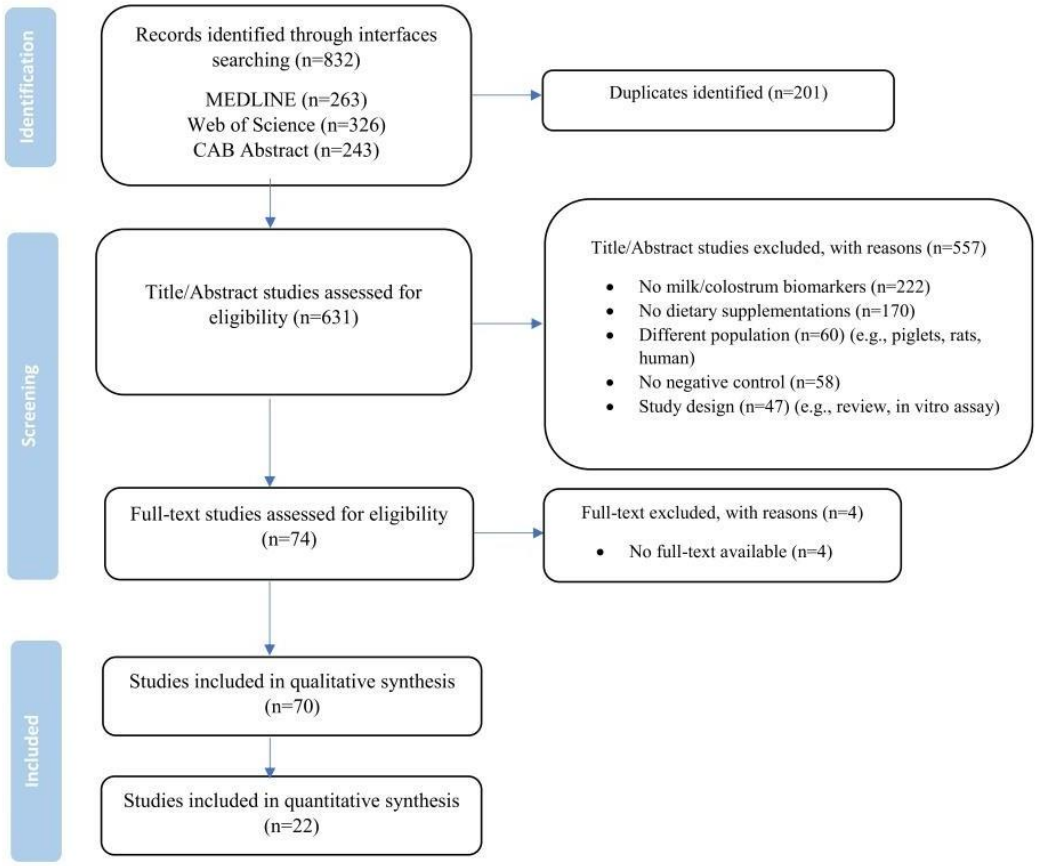


Fig. 1. The PRISMA Flowchart (Moher et al., 2009) of the systematic review from initial search and screening to final selection of studies to be included. The search was done until June 2024 and covered studies published between 1949 and 2024.

sample size, statistical analyses), iv) dietary supplementation details (composition, type, duration, dose), (v) colostrum sampling and IgG quantification (time postpartum, IgG concentration in g/L or % Brix, analytical methods, the measure of error), (vi) measured biomarkers, and (vii) a "statistical variation (yes/no)" variable was added, coded "yes" if at least one treatment group varied significantly compared to the control group.

For consistency, all IgG concentrations expressed in units other than g/L were converted using the formula derived from Hue et al. (2021): IgG (g/L) = -103.1 + 10.9 ×Brix %. This conversion was done in 3 studies (7 treatment means).

Subsequently, following this comprehensive data extraction process, we proceeded to organize the data into structured categories. Dietary supplementation types were then classified into 8 supplementation classes [e.g., vitamins (e.g., vitamin A, E, B8), minerals (e.g., selenium, cobalt, calcium), lipids (e.g., fat, fatty acids (FA)] based on their primary functional components used within each study (Supplemental Table S1). And, we classified the biomarkers based on an adaptation of the classification developed by Gibson (Gibson, 2024), initially developed for human nutritional biomarkers (Supplemental Table S2). We retained three categories: biomarkers of "Exposure", which indicate dietary intake, including specific feed ingredients, nutrients, dietary patterns, or supplementation; biomarkers of "Function" or "health", which evaluate the physiological or biochemical impacts of nutrient deficiencies, offering early indicators of metabolic imbalances. This category is divided into two categories: functional biochemical biomarkers and functional physiological or behavioral biomarkers, include the detection of metabolic disorders, inflammatory, and immune responses. This category of biomarkers is often relevant to clinical outcomes and overall health; biomarkers of "Status", which reflect the levels of nutrients or compounds in the body, measured in bodily fluids (e.g., serum, colostrum, milk) or tissues (e.g., hair).

2.6. Qualitative assessment tool

To address the variability in study designs and methodologies within livestock research, it was essential to evaluate the quality of the included studies in order to account for potential biases and strengthen the reliability of the results. Bias in systematic reviews can arise from several sources, including selection bias (differences in study inclusion criteria), performance bias (variability in study conduct), attrition bias (loss of data over time), and detection bias (inconsistent outcome measures) (Higgins et al., 2011). Recognizing these risks, we created an adapted scoring system based on the *REFLECT statement (Reporting Guidelines for Randomized Control Trials for Livestock and Food Safety)*, Sargeant et al. (2010) and the Cochrane Collaboration risk of bias (RoB) tool for *RCT* (Higgins et al., 2008). Four quality domains (D_i) were defined and rated (R_i) with a range of 0 (high RoB) to 1 (low RoB). For each domain (i), 3 items (j) were assessed and scored (S_{ij}); with S_{ij} varying from 0 to 0.5. Each R_i was then calculated as follows: $R_i = \sum_{j=1}^{3} S_{ij}$. A detailed description of this qualitative assessment is available in Table 2.

In order to synthesize reliable evidence and minimize the influence of bias, an overall quality rating was then done by combining the rates (R_i) for each study. Priority was given to domains of study design (D_1)

Table 2
A detailed description of the qualitative assessment tool.

Domains (D_i)	Items (j)	Scores (S_{ij})
D_1: Choice of intervention, conduction and comparability to control group	($_1$) a detailed definition of the intervention, which assessed the type of supplement, the amount given, the timing, and the details of administration	0.25
	($_2$) comparability, which assessed whether the nutritional inputs between the control and experimental groups were comparable to achieve the targeted supplementation	0.5
	($_3$) results, which assessed whether the results were consistent with the main objective addressed in the first paragraph of the discussion and the beginning of the conclusion	0.25
D_2: choice and measurement of biomarkers	($_1$) a description of the biomarkers, including whether the chosen biomarkers were fully described and whether the analyses were consistent with the primary objective of the study, considering repeated analyses or measurement techniques described in the literature	0.33
	($_2$) a justification of the measurement methods, which included an assessment of the quality of the methods, standard references, validity supported by the literature, and alignment with the study objectives	0.33
	($_3$) a justification of the sampling times, which included an assessment of the rationale behind the sampling times to ensure appropriate timing of sample collection	0.33
D_3: procedure and implementation of randomization	($_1$) coherence, which assessed the relevance of the criteria used to ensure comparability between groups, such as parity, BCS, weight, calving date, etc.	0.33
	($_2$) procedure, which assessed the effectiveness of the procedure by using methods such as random drawing or independent allocation to ensure unbiased subject allocation	0.33
	($_3$) physiological comparability at conception, which assessed whether the groups were physiologically comparable at baseline and whether the conception was uniform across all the study groups	0.33
D_4: Relevance of data analysis	($_1$) adaptation to characteristics of the data, checking whether the analysis methods were adapted to distribution, repeated measures, and herd effects	0.40
	($_2$) statistical strength, checking whether a power analysis was performed before or after the study to ensure that it could detect significant differences	0.40
	($_3$) management of missing data, assessing the approach to handling missing data and maintaining the precision of the study results, such as handling lost-to-follow-up cases	0.20

Each item ($_j$) within a domain (D_i) was assigned a weight (S_{ij}), and domain scores (R_i) were calculated as $R_i = \sum_{j=1}^{3} S_{ij}$ (range: 0 [high RoB] to 1 [low RoB]). Overall risk classification: Low risk: Both D_1 and D_3 scored as low risk ($R_i \geq 0.99$), with D2/D4 low/unclear. High risk: D_1 or D_3 scored as high risk ($R_i \leq 0.33$). Unclear risk: applies to any other situation.

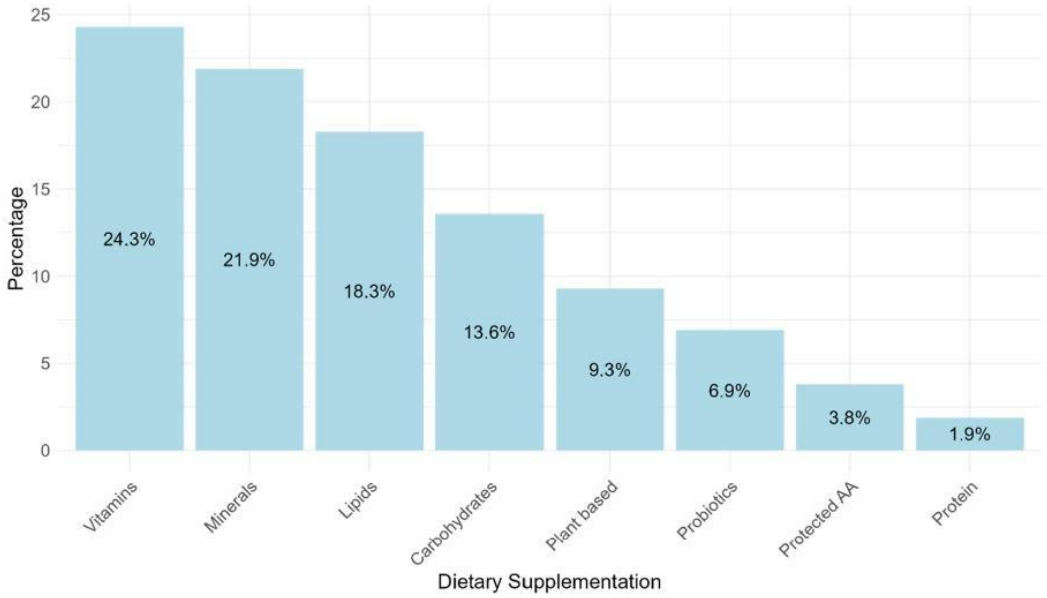


Fig. 2. Distribution of dietary supplementation types in the 70 studies included in the dataset. Vitamins (e.g., vitamin A, E), minerals (e.g., selenium, cobalt), lipids (e.g., fatty acids, linseed oil), carbohydrates (e.g., glucose, propylene glycol), plant based (e.g., seaweed, grape pomace), probiotics (e.g., yeast), protected AA (e.g., methionine), protein (e.g., spirulina).

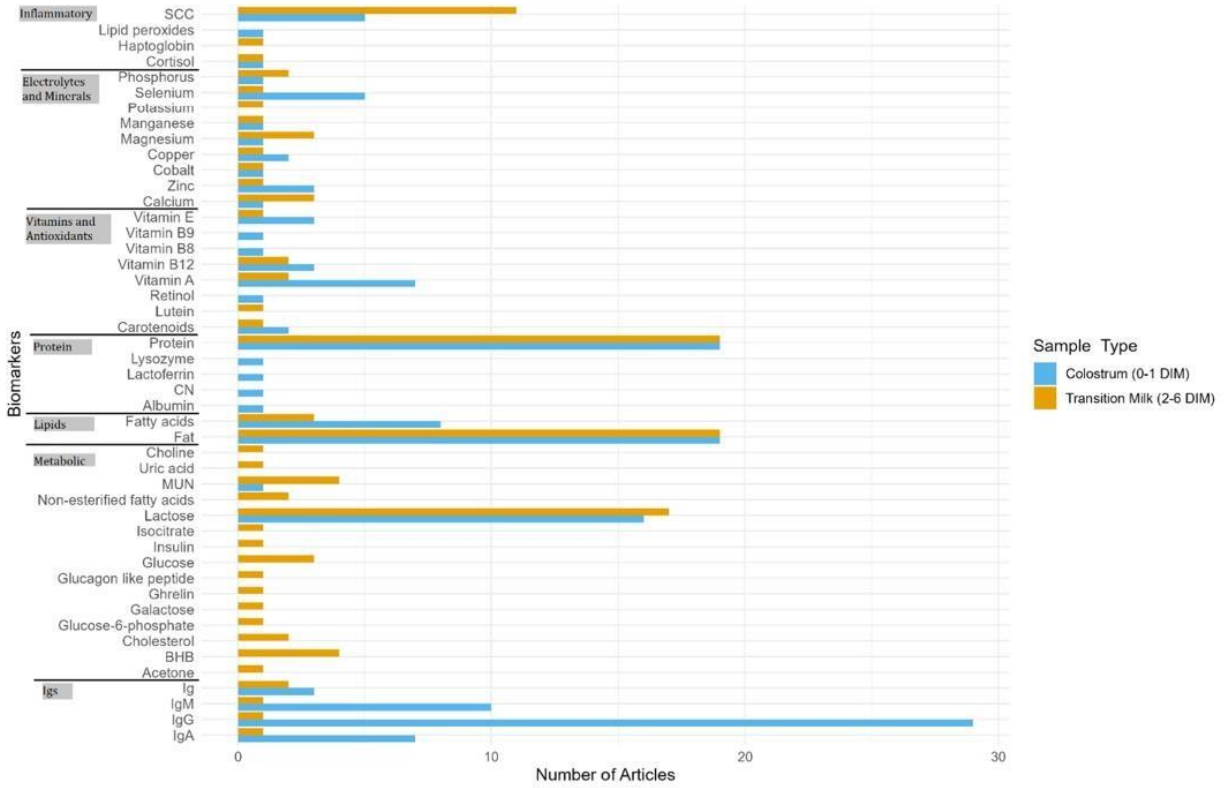


Fig. 3. Biomarkers measured in colostrum (0–1 DIM) and transition milk (2–6 DIM) that were retrieved from all the studies included in the dataset.

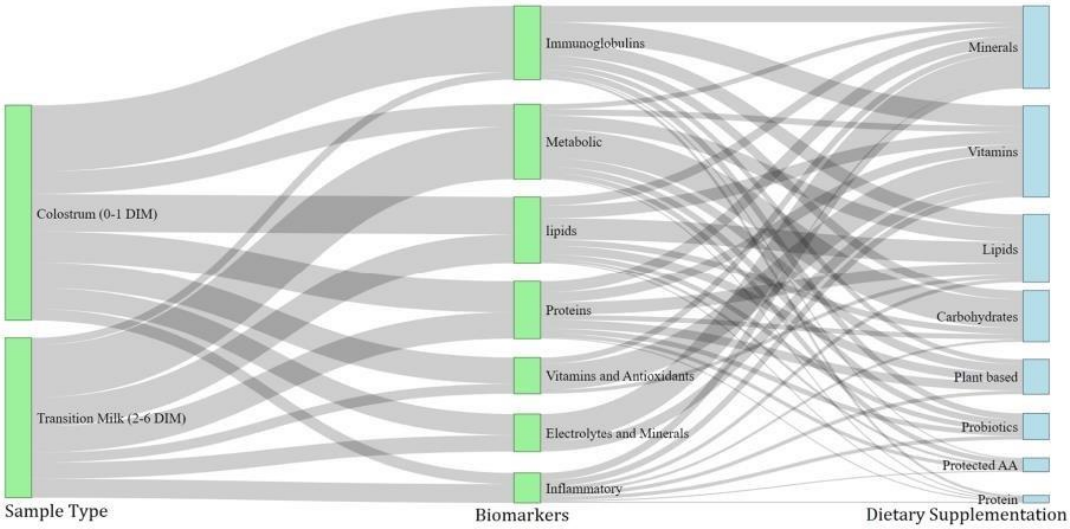


Fig. 4. Sankey diagram illustrating relationships between sample type (colostrum (0–1 DIM), transition milk (2–6 DIM)), biomarkers categories, and dietary supplementation classes in the studies included in the dataset. Flows width reflects the connection and frequency between the three variables.

and implementation (D_3). Without a well-defined intervention (D_1) and proper randomization to ensure comparable groups (D_3), all results of biomarker accuracy (D_2) or data analysis (D_4), are at risk of being biased by pre-existing differences rather than the intervention itself: (i) low RoB = high quality, this applies if both D_1 and D_3 were rated low, and the other two domains were unclear or low; (ii) high RoB = low quality, this applies if either D_1 or D_3 was rated high; (iii) unclear RoB = moderate quality, this applies to other situations. For instance, if either D_1 or D_3 was rated as unclear, and the remaining domains ranged from low to unclear or high.

Then, an illustrates of the summary plot of the RoB 2.0 tool was done. (Higgins et al., 2011).

2.7. Quantitative assessment

We aimed to estimate the variation of certain biomarkers for health, particularly those measured in colostrum (e.g., SCC, IgG, IgM), in response to dietary supplementation of the cow during the dry period, in more than five studies chosen arbitrary that showed low or unclear RoB.

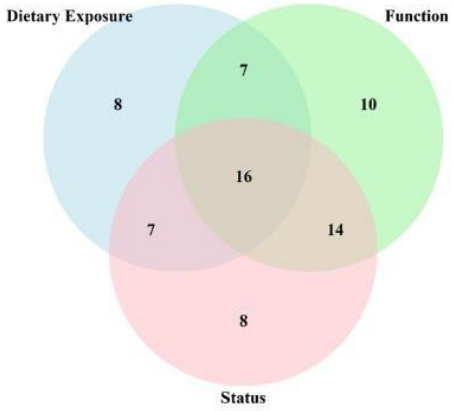


Fig. 5. The number of studies included in the dataset measuring biomarkers. According to the adapted classification of Gibson (2024), biomarkers were categorized as follows: (i) biomarkers of dietary exposure (e.g., fatty acids, selenium), (ii) biomarkers of health function (e.g., IgG, SCC, BHB), and (iii) biomarkers of status (e.g., protein, lactose).

This analysis was conducted by calculating the mean difference (MD) between the control and the supplemented group and identifying factors that could explain the observed heterogeneity. This was done using the "meta" package of the R statistical software (version 3.6.0). To avoid over-representation of trials with multiple arms, treatment groups were combined into a single pairwise comparison, following the recommendations of the Cochrane Handbook Chapter 23.3.4 (Higgins et al., 2011). Our methodological approach aligns with the recommendations of Lean et al. (2009) for meta-analyses in animal and veterinary sciences.

The MD was used to estimate the pooled effect size for the biomarker. Random-effects meta-analyses were measured and the weighting in the MD was performed using the inverse of the variance following the methods and procedures described by the DerSimonian and Laird method (DerSimonian and Laird, 1986). When SD of the mean was not reported, it was derived from other measures of dispersion such as SEM $\times \sqrt{n}$. The presence of heterogeneity due to different factors was assessed using Cochran's Q statistic (X^2) and then quantified using Higgins' I^2 statistic to measure the percentage of variation attributable to heterogeneity. The degree of heterogeneity obtained with the I^2 statistic can be classified as follows: no heterogeneity ($0 < I^2 \leq 25$ %), low ($25\ \% < I^2 \leq 50$ %), moderate ($50\ \% < I^2 \leq 75$ %), and high heterogeneity ($I^2 > 75$ %) (Higgins and Thompson, 2002). A subgroup analyses (e.g., type of dietary supplementation, the biomarker's method of analysis, breed, date of study) were performed to examine possible sources of heterogeneity for potential cofounding variables. Publication bias was assessed visually from funnel plots of MD against SE using "funnel" function in R. A symmetrical distribution of points (studies) in the shape of an inverted funnel is expected in the absence of publication bias. The studies with the least variable effect sizes can be found at the top of the plot, while smaller or publications with large SE are located at the bottom of the funnel (Palmer et al., 2008). Asymmetry was further assessed using Egger's linear regression analysis, with $P < 0.05$ set as the level of significance (Egger et al., 1997).

3. Results

3.1. Dry period dietary supplementation identified in the studies

An overview of the types of dietary supplementation evaluated in the 70 included studies revealed a diverse range of supplementations (Fig. 2). Among these, 24 % (n = 17) of the studies supplemented cows

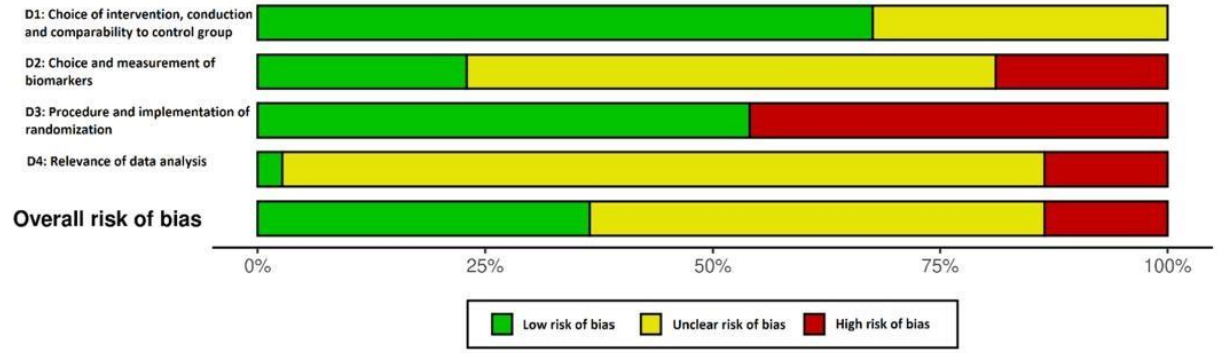


Fig. 6. RoB summary plot of the 70 studies included in the dataset. The RoB was assessed using a scoring system based on the REFLECT statement (Sargeant et al., 2010) and the Cochrane RoB 2.0 tool (Higgins et al., 2011). Overall risk classification: Low risk (both D1 and D3 scored as low risk, with D2/D4 low/unclear. High risk (D1 or D3 scored as high risk). Unclear risk (applies to any other situations).

with vitamins during the dry period. Most studies focused on vitamin A or vitamin E, while a subset, supplemented a combinations of vitamins A, E, B8, B9 and B12. This was followed by 22 % (n = 15) with minerals namely selenium, zinc, cobalt and combinations such as manganese, zinc and copper; 18 % (n = 12) with lipids including various fat sources including coconut, linseed, sunflower oils and other specific FA. The remaining 26 studies examined supplementation with carbohydrates (n = 10; e.g., glucose, propylene glycol), plant based (n = 6; e.g., *seaweed*, *grape pomace*), probiotics (n = 4; e.g., yeast), protected AA (n = 4; e.g., Methionine) and protein (n = 2; e.g., formaldehyde-treated soybean meal).

3.2. Identification of biomarkers measured in colostrum and transition milk across included studies

Of the 70 studies, 37 focused on biomarkers in colostrum, 15 on transition milk, and 18 on both. The analysis of biomarkers across the 70 included studies (138 treatment means) revealed 47 distinct biomarkers measured in colostrum and transition milk as presented in Fig. 3. Many studies measured multiple biomarkers in different samples within a single article, resulting in a total of 301 entries in our biomarker dataset.

Among the 301 entries, 58 % and 42 % were measurements of biomarkers in colostrum samples and in transition milk, respectively (Fig. 4). Measurements of electrolyte and mineral biomarkers were less

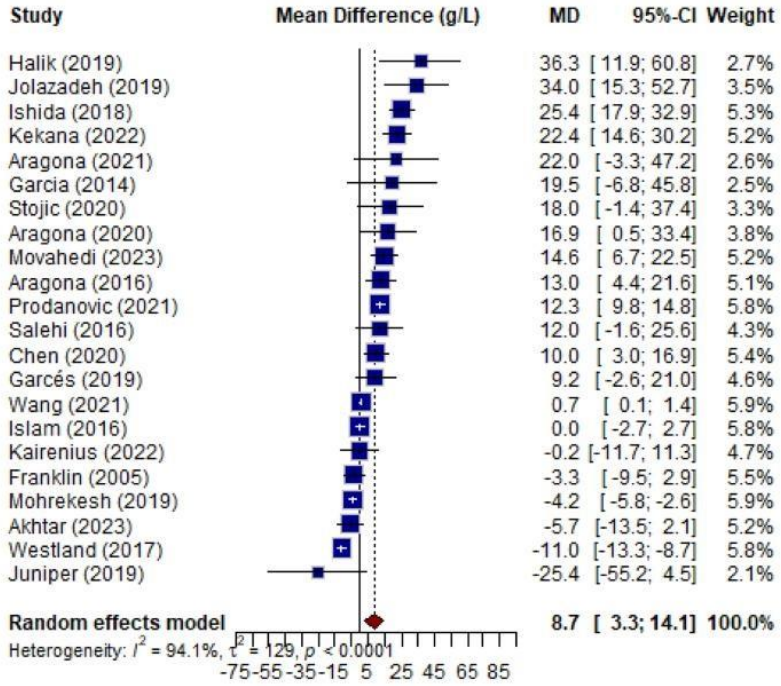


Fig. 7. Forest plot for the metanalysis of the effect of dietary supplementation on IgG concentration (g/L) in colostrum sample. The vertical line represents the control group. The size of each square corresponds to the effect size of each individual trial, with the overall effect size indicated by the diamond shape under the horizontal line. The bars represent the confidence intervals for each trial. Bars crossing the vertical axis indicate no significant difference from the control group ($P < 0.05$). The 3 beef studies included are: Halik (2019), Ishida (2018), and Islam (2016). Akhtar et al., 2023; Aragona et al., 2016; Chen et al., 2020; Costa et al., 2019; Franklin et al., 2005; Garcés et al., 2019; Hare et al., 2019; Jolazadeh et al., 2019; Juniper et al., 2019; Kairenius et al., 2022; McCarthy et al., 2020; Mohrekesh et al., 2019; Movahedi et al., 2023; Salehi et al., 2016; Stojić et al., 2020; Wang et al., 2021; Westland et al., 2017.

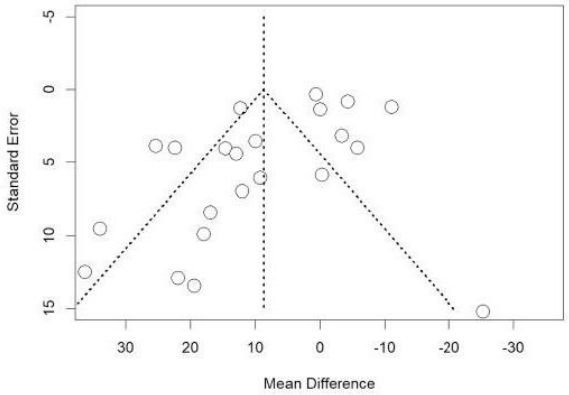


Fig. 8. Funnel plot for assessing publication bias in the meta-analysis of dietary supplementation effects on colostrum IgG concentration. The dashed diagonal lines represent the CI region given by ± 1.96 × SE. Egger's linear regression test $P > 0.05$.

frequent than other classes of biomarkers. Selenium was the most studied mineral biomarker in colostrum (7.1 % of all measurements), followed by zinc (4.2 %). However, the measurements of electrolyte and mineral biomarkers revealed specific findings. They were closely linked to the types of supplementation used, the studies that measured these biomarkers primarily investigated mineral-based supplementations (Fig. 4). Immunoglobulins, which serve as critical biomarkers of passive immunity, were predominantly analyzed in colostrum whatever the type of dietary supplementation. Of the biomarkers measured, IgG was the most frequently observed, present in 41.4 % of studies. This was followed by IgM (14.2 %) and IgA (10 %). Milk fat and protein concentrations were among the most frequently analyzed biomarkers, with each appearing in 27.1 % of studies for both sample types. In contrast, FA were more frequently analyzed in colostrum (11.4 %) than in transition milk (4.2 %). These biomarkers are key indicators of energy metabolism, as milk fat synthesis depends on the uptake of circulating lipids and de novo synthesis in the mammary gland, reflecting both dietary lipid transfer and metabolic adaptations to lactation (McFadden, 2020). Metabolic biomarkers, such as lactose, were extensively analyzed in both colostrum (22.8 %) and transition milk (24.2 %). The synthesis of lactose in the mammary gland is closely linked to glucose metabolism, with approximately 20 % of circulating blood glucose being converted into lactose during lactation, and it serves as a primary osmotic regulator of milk yield (Costa et al., 2020). Other metabolic biomarkers, BHB and milk urea (MUN) concentrations (5.7 % each), were commonly measured in transition milk. Vitamin and antioxidant biomarkers showed particular results. For instance, vitamin A was extensively explored in colostrum (10 %), with less attention paid to transition milk (2.8 %). These biomarkers were typically linked to dietary supplementation with vitamins, minerals, or lipid-based supplementations.

Overall, of the 70 studies included in the dataset, 42 studies reported significant statistical variation, indicating that a biomarker varied significantly in at least one treatment group compared to the control group (Supplemental Figure S1). Among these 42 studies, the most commonly measured biomarker category was immunoglobulins, which varied significantly in 26 % of the studies. Immunoglobulins was most often associated with vitamin (9.5 %) and carbohydrate (7.1 %) supplementation. Protein biomarkers varied significantly in 26.2 % of the studies and were commonly associated with vitamin, lipid, and plant-based supplementation (4.8 % each). Vitamins and antioxidants varied significantly in 19 % of the studies, most commonly associated with vitamin supplementation (9.5 %), followed by mineral and lipid supplementation (2.4 % each). Electrolyte and mineral biomarkers varied significantly in 14.3 % of the studies, primarily associated with mineral supplementation (9.5 %), and also noted with vitamin supplementation (2.4 %). Lipid biomarkers varied significantly in 9.5 % of studies, most commonly associated with lipid supplementation (7.1 %), with a minor association with protected AA supplementation (2.4 %). Inflammatory biomarkers varied significantly in 7.1 % of studies and were equally associated with vitamin, mineral, and probiotic supplementation (2.4 % each). Metabolic biomarkers also varied significantly in 7.1 % of studies, with equal associations with lipid, carbohydrate, and plant-based supplementation (2.4 % each). In addition, of the 42 studies, 29 showed a significant variation in colostrum matrix, 9 studies in transition milk, and 4 studies in both matrices (Supplemental Figure S2). For instance, the immunoglobulins biomarker class showed significant variation in 21 studies, with 17 studies reporting variation in colostrum, 3 in both matrices, and 1 in transitional milk. The protein biomarker class showed significant variation in 11 studies, with 7 studies in the colostrum matrix and 4 studies in transition milk.

According to the adapted classification of Gibson, (2024), we categorized the number of studies evaluating nutritional biomarkers as follows (Fig. 5): (i) biomarkers of dietary exposure (n = 38) which were used to verify indirect dietary exposure for cows through colostrum and transition milk, (ii) biomarkers of health function (n = 47), and (iii) biomarkers of status (n = 45). Of note, 16 studies examined biomarkers in all three categories.

3.3. Qualitative Assessment of RoB of the Included Studies

The potential for bias in the included studies was evaluated across four domains (Supplemental Table S3). Fig. 6 shows that nearly 41 % of the studies were assessed as having a low RoB, while approximately 47 % had an unclear RoB and 12 % were assessed as having a high RoB.

In D_1, 70 % of studies have a low RoB, reflecting a high standard of detail regarding the interventions. The studies provided comprehensive details regarding the type, amount, timing, and method of supplement administration, ensuring a level playing field between the control and intervention groups. In D_2, 24 % of studies were rated as having a low RoB, while 22 % were categorized as high risk. Studies lacked explanations for the choice and selection of biomarkers or did not report it by aligning their objectives.

It is evident that there are high risks associated with D_3, with 52 % rated as low RoB and 48 % as high RoB. This underscores the importance of appropriate randomization to minimize selection bias and enhance the internal validity of the study. This methodological strength is essential to ensure that observed effects are truly attributable to the nutritional intervention and not to cow characteristics (Sil et al., 2019).

D_4 demonstrated the least favorable performance, with only 2 % of studies rated as low RoB and 22 % as high RoB. While most studies used mixed-effects models to account for repeated measures and herd-level effects, many failed to justify sample sizes with power analyses or did not report the handling of missing data, leading to potential biases in data interpretation.

3.4. Quantitative assessment of IgG concentration in colostrum

Our aim was to quantify the variation of the most commonly studied health biomarker in colostrum, if any, in response to dietary supplementation of the cow during the dry period. It turned out that IgG concentration in colostrum was the most frequently assessed biomarker in the studies. Out of the 70 studies included in the dataset, 28 measured IgG in colostrum. Six studies were excluded due to a high RoB (e.g., lack of SE). The meta-analysis included 22 studies judged to have a low or unclear RoB, comprising 19 on dairy cows and 3 on beef cows (Supplemental Table S4). They were conducted between 2005 and 2023 and evaluated the effect of dietary supplementation during the dry period on IgG concentration (g/L) in colostrum, with a total of 955 observations (37 treatment means). The results are represented by the MD between each experimental and control group as shown in a forest

plot (Fig. 7).

The random-effects model yielded a MD of 8.7 g/L (95 % CI: 3–14, $P < 0.01$), indicating a statistically significant effect of the dietary supplementation on IgG concentration in colostrum. There was a considerable degree of heterogeneity across the studies (I^2=94 %, τ^2=129, $P < 0.01$), reflecting notable differences between them. We performed a subgroup analysis based on the methods used for IgG analysis (i.e., immunodiffusion technique, ELISA and Brix refractometer), on different dietary supplementation class, breed (dairy and beef). The overall effect was not statistically significant between subgroups (data not shown).

A funnel plot was generated to assess potential publication bias (Fig. 8). The plot displays the relationship between the SE and the MD across the included studies. Visual inspection of the funnel plot revealed slight asymmetry, and Egger's linear regression test ($P > 0.05$) confirmed that there's no publication bias. This suggests a potential representation of studies with small sample size and reporting non-significant or negative effects.

4. Discussion

The objective of this systematic review was to synthesize and identify biomarkers measured in colostrum and transition milk, and to quantify the variation in response to dietary supplementation of the cow during the dry period.

Through this systematic review, we identified 70 studies conducted on experimental farms that met our inclusion criteria. While 41 % had a low RoB, most lacked a plausible justification for selecting biomarkers. A total of 47 different biomarkers were reported, with each biomarker measured on average between 1 and 23 times. Overall, of the 70 studies included in the dataset, 42 studies reported significant statistical variation, indicating that a biomarker varied significantly in at least one treatment group compared to the control group, and few were linked to specific dietary supplementation. The results indicate that the variation in biomarkers is heavily influenced by the type of dietary supplementation provided. This highlights the critical role of dietary supplementation in modulating biomarkers, particularly in colostrum, where the highest frequency of significant biomarker variation was observed. Our findings reinforce the need to align biomarker choice with known metabolic pathways, the expected physiological effects of the dietary supplementation used and predefined epidemiological objectives. We quantified the variation in IgG concentration, the most frequently measured health biomarker in colostrum, as IgG's positions as a critical biomarker for preventive veterinary medicine, bridging maternal nutrition and neonatal immunity. Based on our own interpretation and according to the adapted classification of Gibson (2024), we categorized the nutritional biomarkers identified in the studies into three categories: biomarkers of dietary exposure, biomarkers of health function and biomarkers of status. This categorization facilitated the establishment of causal relationships between maternal nutrition and health outcomes within an epidemiological framework, incorporating criteria such as temporality and biological plausibility (Shimonovich et al., 2021). In this causal pathway, dietary exposure precedes and potentially initiates subsequent biological responses, captured by health biomarkers. Biomarkers of dietary exposure (n = 38) serve as direct proxies for dietary supplementation, establishing temporality by confirming that the intervention precedes downstream effects. Biomarkers of health function (n = 47) reflect these subsequent biological responses, demonstrating plausibility through known metabolic pathways.

We focused on the colostrum and transition milk as the primary matrices for measuring biomarkers of exposure in cows, as these matrices are practical, non-invasive, abundant in biomarkers and can be easily implemented in nutritional epidemiology. However, we recognize that other studies have explored alternative matrices or methods to assess exposure, such as assessment of diet composition (e.g., Alhussien et al., 2021; Aragona et al., 2021) or serum metabolite measurements (e.g., Eger et al., 2017; Gaafar et al., 2017), or a combination of both (e.g., Aragona et al., 2020; Hiltz et al., 2023). Consequently, our review offers a partial representation of the broader spectrum of exposure biomarkers, focusing on those available from colostrum and milk analysis.

4.1. Biomarkers of dietary exposure

Biomarkers of dietary exposure, by definition, reflect nutrient intake and intend to assess what was consumed (Gibson, 2024), often equal to the type of dietary supplementation. Based on our results, we found that 54 % of the studies evaluated biomarkers of dietary exposure in colostrum or transition milk matrices. Dietary supplementation has been shown to significantly influence the composition of colostrum (Hare et al., 2023), making it a reliable matrix for assessing biomarkers of exposure indirectly for cows. This was particularly evident in studies focusing on vitamins, minerals and lipids, where biomarkers such as selenium, vitamin E and FA were measured to verify the bioavailability and absorption of the administered nutrients. Nevertheless, certain types of dietary supplementation, particularly those involving nutrients that undergo extensive transformation in the rumen, are more challenging to evaluate through colostrum or transition milk matrices, as these may not fully reflect the cow's dietary intake for such dietary supplements.

While these biomarkers are informative of cow's nutrition and confirm exposure, they also provide indirect exposure information of the expected calf intake. According to our interpretation, in all the studies reviewed, colostrum served as an intermediary and indirect biomarker of calf's nutritional exposure. By improving the nutritional quality of colostrum, dietary interventions effectively altered calf exposure to key nutrients and immune factors (Godden et al., 2019). However, some studies have assessed exposure by measuring biomarkers in the blood that illustrate the nutritional transfer from the cow's diet to the calf, either in utero through the placenta (e.g., Sun et al., 2022) or postnatally through colostrum (e.g., Garcia et al., 2014; Kekana et al., 2022).

4.2. Biomarkers of health function

The second category of biomarkers identified are biomarkers of health function, measured in 67 % of the included studies, although not consistently in both colostrum and transition milk matrices. Approximately 12.8 % of the studies determined specifically metabolic biomarkers [BHB, non-esterified fatty acids (NEFA), MUN]. They were exclusively used in transition milk to investigate metabolic health, providing valuable insights into the energy balance and liver function of the dam during early lactation (Prodanović et al., 2021). These biomarkers, particularly BHB and NEFA, are widely used to assess metabolic health in early lactating dairy cows, as they help detect subclinical and clinical ketosis (Heirbaut et al., 2023). Therefore, for the studies included in this review, it seems reasonable to implement these biomarkers during this period. Their measurement in transition milk highlights their potential to indirectly monitor maternal metabolic health.

In the other 54 % of the studies, the measured biomarkers were specifically associated with inflammation (haptoglobin, cortisol, SCC) and immunity (IgG, IgM, IgA) providing insights into both cow health and colostrum quality. Haptoglobin serves as an indicator of inflammation, cortisol reflects stress and metabolic imbalance, plays a critical physiological role in mammary gland development and lactogenesis during the peripartum period (Ma et al., 2023). Elevated SCC in colostrum and transition milk are primarily associated with epithelial cell turnover (Alhussien et al., 2018). Immunoglobulins are critical for neonatal immunity: IgG supports passive immune transfer, IgM mostly defends against bacterial infections, and IgA protects mucosal surfaces (Fischer-Tlustos et al., 2021). Notably, only 10 % of these studies explicitly justified their choice of biomarkers by linking them to the type of supplementation or physiological mechanisms. For instance, one study measured haptoglobin as a health biomarker in transition milk

based on its role as an indicator of postpartum inflammation in dairy cows, linking this to supplementation with *Scutellaria baicalensis*, known for its anti-inflammatory properties (Olagaray et al., 2019). In contrast, 44 % of the studies lacked a plausible rationale for health biomarker selection, particularly for IgG, which may be measured due to its importance in ensuring calf health and productivity.

4.3. Biomarkers of status

Biomarkers of status, by definition reflect total body levels of a nutrient. In this category, we have included biomarkers that could not be classified in the previous categories. These biomarkers of status, were identified in 64 % of the studies. Specifically, milk fat and protein concentrations may be measured due to their practical quantification, common use and nutritional importance. However, they might not be integral components of the causal pathways (e.g., temporality, plausibility), as they reflect general physiological states.

4.4. Effect of dietary supplementation on IgG concentration

Studies that measured IgG concentration provided a valuable opportunity to summarize findings across multiple datasets. In our meta-analysis, we aimed to quantify the variation of this biomarker, in response to dietary supplementation (e.g., vitamins, lipids, and minerals) of the cow during the dry period. The measurement of IgG, despite the lack of explication of pathways in the studies, emerged as a pivotal biomarker with established translational relevance, its measurement is already entrenched in veterinary practice as a proxy for calf health and passive immunity success. Data from 22 studies, judged to have a low or unclear RoB, were analyzed. The overall MD was 8.7 g/L (95 % CI: 3–14) suggests a significant increase in colostrum IgG concentration following dietary supplementation (Fig. 7). This increase may be biologically relevant to acquire transfer of passive immunity in calves, as higher colostrum IgG levels are associated with improved serum IgG absorption and reduced failure of passive transfer (Lombard et al., 2020). Studies indicate that calves require at least 10 g/L of serum IgG to achieve adequate passive transfer (Buczinski et al., 2018), and colostrum with IgG levels above 50 g/L is recommended to ensure this threshold is met (Fischer-Tlustos et al., 2021). Although beef cattle colostrum contains approximately 1.5-fold greater concentrations of IgG than dairy cattle, there is also a tremendous variation in quality (approximately 50–200 g/L) and quantity (<1 to about 6 L/d) (McGee and Earley, 2019). However, the substantial heterogeneity observed indicates a significant variability in the study results, which limits the generalizability of these results, and this variability was not explained by any cofounders (e.g., type of dietary supplementation, breed (beef or dairy), methods of IgG analysis). However, one of the main cofounders that we couldn't explore was colostrum yield, nor its associated predictor the dry period length due to lack of reporting in the included studies (Stahl et al., 2024). Based on the current knowledge, we recommend the importance to collect routinely and report the data concerning these important individual cofounders. The funnel plot analysis revealed a degree of asymmetry, although Egger's test ($P > 0.05$) indicates the absence of publication bias.

Overall, using three major interfaces to identify studies, we highlight the need for a systematic methodology to clarify the rationale for biomarker selection, explicitly linking it to the type of supplementation and health outcomes in accordance with the scientific objectives. Such an approach becomes even more necessary when considering the growing evidence that colostrum variability stems from a combination of nutritional, environmental, and physiological factors (Erickson et al., 2024). There is diversity in the biomarkers used in the reviewed experiments, yet it is notable that the terms "nutritional biomarkers" or even "biomarkers" were rarely explicitly used. The classification framework, we proposed in this review which was adapted to include exposure, health, and status biomarkers, provides a structured approach but is likely not exhaustive. Establishing a causal pathway involves first identifying and verifying the exposure through appropriate biomarkers, and then linking it to health outcomes via health biomarkers. To assess exposure, the first consideration is whether the biomarkers should be measured in colostrum, blood, or diet. Once exposure biomarkers are identified, it is important to evaluate whether there is existing evidence or validated mechanisms (e.g., metabolic pathways, dose-response relationships) described in other studies, that are linked to health function biomarkers and the type of dietary supplementation. If such biomarkers are not readily available, careful consideration must be given to the risks of pursuing innovative but unvalidated biomarkers, which could be risky in terms of effort and time. For example, while dietary biomarkers have the potential to enhance nutrition research by providing objective measures of dietary intake, more research is needed to develop cost-effective, non-invasive methods for assessing nutritional status (Hedrick et al., 2012).

Colostrum and transition milk are invaluable matrices for understanding maternal and neonatal health, offering unique insights into both nutritional and immunological profiles, and their accessibility and non-invasive collection further enhance their utility in nutritional epidemiology. Nonetheless, the interpretation of biomarkers in these matrices requires careful consideration, as their composition can be influenced by physiological stages, such as the timing of colostrum collection, or by external factors, including feeding strategies and environmental conditions. By exploiting the unique properties of colostrum and transition milk while addressing these challenges, researchers can improve the specificity of biomarker profiles and better elucidate the causal relationships between nutritional interventions and health outcomes in cows and their calves. This approach facilitates the development of robust epidemiological study designs and practical field applications, ultimately improving herd health management strategies.

5. Conclusions

This systematic review synthesized and explored biomarkers measured in colostrum and transition milk following maternal supplementation during the dry period. While the overall quality of evidence was good, most studies lacked a plausible rationale for biomarkers selection. Thus, to improve the interpretation of dietary supplementation effects, we highlighted the importance of a structured framework for biomarker measurement. Establishing a causal pathway involves first identifying and verifying the exposure through appropriate biomarkers, and then linking it to health outcomes via health biomarkers (i.e., metabolic, immunity, inflammation). Biomarkers of exposure and function provide robust evidence for designing preventive nutritional strategies. The health biomarker, IgG, remains a pivotal biomarker, serving as a proxy for calf health and passive immunity. Despite non-explicit pathways, its concentration varied significantly with dietary supplementation. Colostrum and transition milk are valuable matrices for understanding maternal and neonatal health in epidemiological settings, but careful interpretation is required. Future research should prioritize biomarkers that advance along the causal pathway, from verification of exposure, the existence of validated mechanisms linking them to the type of dietary supplementation, and their clinical utility for preventive animal medicine, to strengthen evidence-based guidelines for cattle producers.

Funding Information

This study was co-funded by Region Pays de la Loire (PDL) and the Laboratoire d'Innovation Territorial (LIT) OUESTEREL.

Ethical Statement

Not applicable. This study is a systematic review and meta-analysis and did not involve the use of live animals.

CRediT authorship contribution statement

Ariza Juan Manuel: Writing – original draft, Methodology, Conceptualization. **Nathalie Bareille:** Writing – original draft, Methodology, Conceptualization. **Laudy Serhal:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Conceptualization.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This study was part of the first author's PhD thesis, which was co-funded by Region Pays de la Loire (PDL), and the Laboratoire d'Innovation Territorial (LIT) OUESTEREL. The authors would like to thank François Beaudeau for his valuable review of this manuscript. The authors have not stated any conflicts of interest. The authors acknowledge the use of AI-assisted tools, including ChatGPT for improving readability and DeepL for reformulation and correct grammar.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.prevetmed.2025.106604.

References

Akhtar, M.U., Hifzulrahman, T.N., Pasha, M., Avais, N., Khan, G.A., Chishti, M., Ali, M., Imran, M.N., Tahir, Naveed-ul-Haque, M., 2023. Effects of peripartal glucose precursor supplementation on lactation performance and metabolic health of primiparous and multiparous dairy cows. Anim. Biosci. 36 (6), 869–878. https://doi.org/10.5713/ab.22.0218.

Alhussien, M., Tiwari, S., Panda, B., Pandey, Y., Lathwal, S., Dang, A., 2021. Supplementation of antioxidant micronutrients reduces stress and improves immune function/response in periparturient dairy cows and their calves. J. Trace Elem. Med. Biol. 65, 126718. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126718.

Aragona, K.M., Chapman, C.E., Pereira, A.B.D., Isenberg, B.J., Standish, R.B., Maugeri, C. J., Cabral, R.G., Erickson, P.S., 2016. Prepartum supplementation of nicotinic acid: Effects on health of the dam, colostrum quality, and acquisition of immunity in the calf. J. Dairy Sci. 99 (5), 3529–3538. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10598.

Aragona, K.M., Rice, E.M., Engstrom, M., Erickson, P.S., 2020. Supplementation of nicotinic acid to prepartum Holstein cows increases colostral immunoglobulin G, excretion of urinary purine derivatives, and feed efficiency in calves. J. Dairy Sci. 103 (3), 2287–2302. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17058.

Aragona, K.M., Rice, E.M., Engstrom, M., Erickson, P.S., 2021. Effect of β-carotene supplementation to prepartum Holstein cows on colostrum quality and calf performance. J. Dairy Sci. 104 (8), 8814–8825. https://doi.org/10.3168/jds.2020-19553.

Barrington, G.M., McFadden, T.B., Huyler, M.T., Besser, T.E., 2001. Regulation of colostrogenesis in cattle. Livest. Prod. Sci. 70 (1), 95–104. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00201-9.

Britt, J.H., Cushman, R.A., Dechow, C.D., Dobson, H., Humblot, P., Hutjens, M.F., Jones, G.A., Ruegg, P.S., Sheldon, I.M., Stevenson, J.S., 2018. Invited review: Learning from the future—A vision for dairy farms and cows in 2067. J. Dairy Sci. 101 (5), 3722–3741. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14025.

Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., Vandeweerd, J.M., 2018. Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum refractometry and Brix refractometry for the diagnosis of inadequate transfer of passive immunity in calves. J. Vet. Intern. Med. 32 (1), 474–483. https://doi.org/10.1111/jvim.14893.

Chen, F., Li, Y., Shen, Y., Guo, Y., Zhao, X., Li, Q., Cao, Y., Zhang, X., Li, Y., Wang, Z., Gao, Y., Li, J., 2020. Effects of prepartum zinc-methionine supplementation on feed digestibility, rumen fermentation patterns, immunity status, and passive transfer of immunity in dairy cows. J. Dairy Sci. 103 (10), 8976–8985. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17991.

Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Sneddon, N.W., Shalloo, L., Franzoi, M., De Marchi, M., Penasa, M., 2019. Invited review: Milk lactose-Current status and future challenges in dairy cattle. J. Dairy Sci. 102 (7), 5883–5898. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15955.

Dado-Senn, B., Skibiel, A.L., Fabris, T.F., Dahl, G.E., Laporta, J., 2019. Dry period heat stress induces microstructural changes in the lactating mammary gland. PloS One 14 (9), e0222120. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222120.

De Vries, A., Marcondes, M.I., 2020. Review: Overview of factors affecting productive lifespan of dairy cows. Anim 14, s155–s164. https://doi.org/10.1017/S1751731119003264.

DerSimonian, R., Laird, N., 1986. Meta-analysis in clinical trials. Control. Clin. Trials 7 (3), 177–188. https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2.

Diddeniya, G., Hosseini Ghaffari, M., Hernandez-Sanabria, E., Guan, L.L., Malmuthuge, N., 2024. Invited review: Impact of maternal health and nutrition on the microbiome and immune development of neonatal calves. J. Dairy Sci. 107 (10), 7504–7519. https://doi.org/10.3168/jds.2024-24835.

Dragsted, L.O., Gao, Q., Praticò, G., Manach, C., Wishart, D.S., Scalbert, A., Feskens, E.J. M., 2017. Dietary and health biomarkers—Time for an update. Genes Nutr. 12 (1), 24. https://doi.org/10.1186/s12263-017-0578-y.

Eger, M., Horn, J., Hussen, J., Schuberth, H.J., Scharf, M., Meyer, U., Dänicke, S., Bostedt, H., Breves, G., 2017. Effects of dietary CLA supplementation, parity, and different concentrate levels before calving on immunoglobulin G1, G2, and M concentrations in dairy cows. Res. Vet. Sci. 114, 287–293. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.05.026.

Egger, M., Smith, G.Davey, Schneider, M., Minder, C., 1997. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. Brit. Med. J. 315 (7109), 629–634. https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629.

Erickson, P.S., Stahl, T.C., Allen, S.C., 2024. Factors influencing colostrum production of multiparous Holstein and Jersey cows. Appl. Anim. Sci. 40 (6), 791–801. https://doi.org/10.15232/aas.2024-02621.

Fischer-Tlustos, A.J., Lopez, A., Hare, K.S., Wood, K.M., Steele, M.A., 2021. Effects of colostrum management on transfer of passive immunity and the potential role of colostral bioactive components on neonatal calf development and metabolism, 405-246 Can. J. Anim. Sci. 101. https://doi.org/10.1139/cjas-2020-0149.

Franklin, S.T., Newman, M.C., Newman, K.E., Meek, K.I., 2005. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. J. Dairy Sci. 88 (2), 766–775. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72740-5.

Gaafar, H.M.A., Riad, W.A., Elsadany, A.Y., El-Reidy, K.F.A., El-Hamd, M.A.A., 2017. Effect of spirulina (Arthrospira platensis) on productive and reproductive performance of Friesian cows. Egypt. J. Agric. Res. 20 (1), 19–36. https://doi.org/10.21608/ejar.2017.148904.

Gao, F., Liu, Y.-C., Zhang, Z.-H., Zhang, C.-Z., Su, H.-W., Li, S.-L., 2012. Effect of prepartum maternal energy density on the growth performance, immunity, and antioxidation capability of neonatal calves. J. Dairy Sci. 95 (8), 4510–4518. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5087.

Garcés, C.N., Vela, D., Mullo, A., Cabezas, V., Alvear, A., Ponce, C.H., 2019. Spirulina supplementation during the transition period by grazing dairy cattle at tropical highland conditions. Trop. Anim. Health Prod. 51 (2), 477–480. https://doi.org/10.1007/s11250-018-1691-7.

Garcia, M., Greco, L.F., Favoreto, M.G., Marsola, R.S., Martins, L.T., Bisinotto, R.S., Shin, J.H., Lock, A.L., Block, E., Thatcher, W.W., Santos, J.E., Staples, C.R., 2014. Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. J. Dairy Sci. 97 (1), 392–405. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7086.

Gibson, R. 2024. Biomarkers. Principles of Nutritional Assessment. 3rd Edition. J. Nutr. ⟨https://nutritionalassessment.org/biomarkers/⟩.

Gilmore, H.S., Young, F.J., Patterson, D.C., Wylie, A.R.G., Law, R.A., Kilpatrick, D.J., Elliott, C.T., Mayne, C.S., 2011. An evaluation of the effect of altering nutrition and nutritional strategies in early lactation on reproductive performance and estrous behavior of high-yielding Holstein-Friesian dairy cows. J. Dairy Sci. 94 (7), 3510–3526. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3547.

Godden, S.M., Lombard, J.E., Woolums, A.R., 2019. Colostrum management for dairy calves. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pr. 35 (3), 535–556. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005.

Halik, G., Łozicki, A., Koziorzębska, A., Arkuszewska, E., Puppel, K., 2019. Effect of the diets with pumpkin silage and synthetic β-carotene on the carotenoid, immunoglobulin and bioactive protein content and fatty acid composition of colostrum. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 103 (1), 1–7. https://doi.org/10.1111/jpn.13002.

Hare, K.S., Wood, K.M., Fitzsimmons, C., Penner, G.B., 2019. Oversupplying metabolizable protein in late gestation for beef cattle: Effects on postpartum ruminal fermentation, blood metabolites, skeletal muscle catabolism, colostrum composition, milk yield and composition, and calf growth performance. J. Anim. Sci. 97 (1), 437–455. https://doi.org/10.1093/jas/sky413.

Hare, K.S., Fischer-Tlustos, A.J., Wood, K.M., Cant, J.P., Steele, M.A., 2023. Prepartum nutrient intake and colostrum yield and composition in ruminants. Anim. Front 13 (3), 24–36. https://doi.org/10.1093/af/vfad031.

Hedrick, V.E., Dietrich, A.M., Estabrooks, P.A., Savla, J., Serrano, E., Davy, B.M., 2012. Dietary biomarkers: Advances, limitations and future directions. Nutr. J. 11 (1), 109. https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-109.

Heirbaut, S., Jing, X.P., Stefańska, B., Pruszyńska-Oszmałek, E., Buysse, L., Lutakome, P., Zhang, M.Q., Thys, M., Vandaele, L., Fievez, V., 2023. Diagnostic milk biomarkers for predicting the metabolic health status of dairy cattle during early lactation. J. Dairy Sci. 106 (1), 690–702. https://doi.org/10.3168/jds.2022-22217.

Higgins, J.P.T., Altman, D.G., 2008. Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins, J.P.T., Green, S. (Eds.), Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions. Wiley, pp. 187–241.

Higgins, J.P.T., Thompson, S.G., 2002. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. Stat. Med. 21 (11), 1539–1558. https://doi.org/10.1002/sim.1186.

Higgins, J.P.T., Altman, D.G., Gøtzsche, P.C., Jüni, P., Moher, D., Oxman, A.D., Savovic, J., Schulz, K.F., Weeks, L., Sterne, J.A.C., Cochrane Bias Methods Group, Cochrane Statistical Methods Group, 2011. The Cochrane Collaboration's tool for

assessing risk of bias in randomised trials. Brit. Med. J. 343, d5928. https://doi.org/10.1136/bmj.d5928.
Hiltz, R., Steelreath, M., Degenshein-Woods, M., Hung, H., Aguilar, A., Nielsen, H., Rezamand, P., Laarman, A., 2023. Effects of Saccharomyces cerevisiae boulardii (CNCM I-1079) on feed intake, blood parameters, and production during early lactation. J. Dairy Sci. 106 (1), 187–201. https://doi.org/10.3168/jds.2021-21740.
Hue, D.T., Williams, J.L., Petrovski, K., Bottema, C.D.K., 2021. Predicting colostrum and calf blood components based on refractometry. J. Dairy Res. 88 (2), 194–200. https://doi.org/10.1017/S0022029921000340.
Ishida, M., Nishijima, Y., Ikeda, S., Yoshitani, K., Obata, A., Sugie, Y., Aoki, Y., Yamaji, T., Fujita, M., Nakatsuji, Y., Kume, S., 2018. Effects of supplemental β-carotene on colostral immunoglobulin and plasma β-carotene and immunoglobulin in Japanese Black cows. Anim. Sci. J. 89 (8), 1102–1106. https://doi.org/10.1111/asj.13032.
Islam, M., Ahmed, S., Mun, H., Kim, Y., Yang, C., Islam, Md.M., Ahmed, S.T., Mun, H.-S., Kim, Y.-B., Yang, C.-J., 2016. Effect of fermented seaweed by-product supplementation on reproduction of Hanwoo cows and growth and immunity of their calves. Anim. Prod. Sci. 56 (11), 1828–1833. https://doi.org/10.1071/AN14972.
Jenab, M., Slimani, N., Bictash, M., Ferrari, P., Bingham, S.A., 2009. Biomarkers in nutritional epidemiology: Applications, needs and new horizons. Hum. Genet 125 (5–6), 507–525. https://doi.org/10.1007/s00439-009-0662-5.
Jolazadeh, A., Mohammadabadi, T., Dehghan-banadaky, M., Chaji, M., Garcia, M., 2019. Effect of supplementing calcium salts of n-3 and n-6 fatty acid to pregnant nonlactating cows on colostrum composition, milk yield, and reproductive performance of dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol. 247, 127–140. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.11.010.
Juniper, D.T., Rymer, C., Briens, M., 2019. Bioefficacy of hydroxy-selenomethionine as a selenium supplement in pregnant dairy heifers and on the selenium status of their calves. J. Dairy Sci. 102 (8), 7000–7010. https://doi.org/10.3168/jds.2018-16065.
Kairenius, P., Qin, N., Tapio, I., Mäntysaari, P., Franco, M., Lidauer, P., Stefanski, T., Lidauer, M.H., Junnikkala, S., Niku, M., Kettunen, H., Rinne, M., 2022. The effects of dietary resin acid inclusion on productive, physiological and rumen microbiome responses of dairy cows during early lactation. Livest. Sci. 255. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104798.
Kekana, T.W., Marume, U., Nherera-Chokuda, F.V., 2022. Prepartum supplementation of Moringa oleifera leaf meal: Effects on health of the dam, colostrum quality, and acquisition of immunity in the calf. J. Dairy Sci. 105 (7), 5813–5821. https://doi.org/10.3168/jds.2021-21535.
Lean, I.J., Rabiee, A.R., Duffield, T.F., Dohoo, I.R., 2009. Use of meta-analysis in animal health and reproduction: methods and applications. J. Dairy Sci. 92 (8), 3545–3565. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2140.
Li, S., Wei, X., Song, J., Zhang, C., Zhang, Y., Sun, Y., 2021. Evaluation of statistical process control techniques in monitoring weekly body condition scores as an early warning system for predicting subclinical ketosis in dry cows. Article 11. Anim 11 (11). https://doi.org/10.3390/ani11113224.
Lombard, J., Urie, N., Garry, F., Godden, S., Quigley, J., Earleywine, T., McGuirk, S., Moore, D., Branan, M., Chamorro, M., Smith, G., Shivley, C., Catherman, D., Haines, D., Heinrichs, A.J., James, R., Maas, J., Sterner, K., 2020. Consensus recommendations on calf- and herd-level passive immunity in dairy calves in the United States. J. Dairy Sci. 103 (8), 7611–7624. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17955.
Ma, X., Liu, H., Jia, Q., Zheng, Y., Li, W., Chang, M., Fu, H., Zhu, H., 2023. Diverse roles of glucocorticoids in the ruminant mammary gland: Modulation of mammary growth, milk production, and mastitis. Stress 26 (1), 2252938. https://doi.org/10.1080/10253890.2023.2252938.
Mansell, P., Cameron, A., Taylor, D., Malmo, J., 2006. Induction of parturition in dairy cattle and its effects on health and subsequent lactation and reproductive performance. Aust. Vet. J. 84 (9), 312–316. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2006.00031.x.
McCarthy, C.S., Dooley, B.C., Branstad, E.H., Kramer, A.J., Horst, E.A., Mayorga, E.J., Al-Qaisi, M., Abeyta, M.A., Perez-Hernandez, G., Goetz, B.M., Castillo, A.R., Knobbe, M. R., MacGregor, C.A., Russi, J.P., Appuhamy, J.N., Ramirez-Ramirez, H.A., Baumgard, L.H., 2020. Energetic metabolism, milk production, and inflammatory response of transition dairy cows fed rumen-protected glucose. J. Dairy Sci. 103 (8), 7451–7461. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18151.
McCarthy, C.S., Dooley, B.C., Branstad, E.H., Kramer, A.J., Horst, E.A., Mayorga, E.J., Al-Qaisi, M., Abeyta, M.A., Perez-Hernandez, G., Goetz, B.M., Castillo, A.R., Knobbe, M. R., MacGregor, C.A., Russi, J.P., Appuhamy, J.N., Ramirez-Ramirez, H.A., Baumgard, L.H., 2020. Energetic metabolism, milk production, and inflammatory response of transition dairy cows fed rumen-protected glucose. J. Dairy Sci. 103 (8), 7451–7461. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18151.
McFadden, J.W., 2020. Review: Lipid biology in the periparturient dairy cow: contemporary perspectives. Anim 14, s165–s175. https://doi.org/10.1017/S1751731119003185.
McGee, M., Earley, B., 2019. Review: Passive immunity in beef-suckler calves. Anim 13 (4), 810–825. https://doi.org/10.1017/S1751731118003026.
Micke, G.C., Sullivan, T.M., Soares Magalhaes, R.J., Rolls, P.J., Norman, S.T., Perry, V.E. A., 2010. Heifer nutrition during early- and mid-pregnancy alters fetal growth trajectory and birth weight. Anim. Reprod. Sci. 117 (1–2), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.03.010.
Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., 2009. The PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. PLoS Med 6, e1000097.
Mohrekesh, M., Shahraki, A.D.F., Ghalamkari, G.R., Guyot, H., 2019. Effects of three methods of oral selenium-enriched yeast supplementation on blood components and growth in Holstein dairy calves. Anim. Prod. Sci. 59 (2), 260–265. https://doi.org/10.1071/AN16417.
Movahedi, N.S., Foroudi, F., Karimi, N., Abedini, M.R., Karimi, K., 2023. Zeolite-supplemented diets in the prenatal period affected postpartum reproductive parameters, colostrum production, and body condition score of dairy cows. J. Adv. Vet. Anim. Res. 10 (3), 410–420. https://doi.org/10.5455/javar.2023.j694.
Ndlovu, T., Chimonyo, M., Okoh, A., Muchenje, V., Dzama, K., Raats, J.G., 2007. Assessing the nutritional status of beef cattle: Current practices and future prospects. Afr. J. Biotechnol. 6 (24), 6. https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2436.
Olagaray, K.E., Brouk, M.J., Mamedova, L.K., Sivinski, S.E., Liu, H., Robert, F., Dupuis, E., Zachut, M., Bradford, B.J., 2019. Dietary supplementation of Scutellaria baicalensis extract during early lactation decreases milk somatic cells and increases whole lactation milk yield in dairy cattle. PLoS One 14 (1), e0210744. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210744.
Ouzzani, M., Hammady, A., Fedorowicz, Z., Elmagarmid, A., 2016. Rayyan — a web and mobile app for systematic reviews. Syst. Rev. 5, 210. https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4.
Palmer, T.M., Sutton, A.J., Peters, J.L., Moreno, S.G., 2008. Contour-enhanced funnel plots for meta-analysis. Stata J. 8 (2), 242–254. https://doi.org/10.1177/1536867X0800800206.
Prodanović, R., Nedić, S., Simeunović, P., Borozan, S., Nedić, S., Bojkovski, J., Kirovski, D., Vujanac, I., 2021. Effects of chestnut tannins supplementation of prepartum moderate-yielding dairy cows on metabolic health, antioxidant, and colostrum indices. Ann. Anim. Sci. 21 (2), 609–621. https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0077.
Raiten, D., Combs, G., 2015. Directions in nutritional assessment. Biomarkers and bioindicators: Providing clarity in the face of complexity. Sight. Life Mag. 29, 39–44.
Raiten, D.J., Namasté, S., Brabin, B., Combs, G., L'Abbe, M.R., Wasantwisut, E., Darnton-Hill, I., 2011. Executive summary—Biomarkers of nutrition for development: Building a consensus. Am. J. Clin. Nutr. 94 (2), 633S–650S. https://doi.org/10.3945/ajcn.110.008227.
Salehi, R., Ambrose, D.J., Oba, M., 2016. Short communication: Effects of prepartum diets supplemented with rolled oilseeds on Brix values and fatty acid profile of colostrum. J. Dairy Sci. 99 (5), 3598–3601. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10189.
Sammad, A., Khan, M.Z., Abbas, Z., Hu, L., Ullah, Q., Wang, Y., Zhu, H., Wang, Y., 2022. Major nutritional metabolic alterations influencing the reproductive system of postpartum dairy cows. Metabolites 12 (1), 60. https://doi.org/10.3390/metabo12010060.
Sargeant, J.M., O'Connor, A.M., 2020. Scoping reviews, systematic reviews, and meta-analysis: Applications in veterinary medicine. Front. Vet. Sci. 7, 11. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00011.
Sargeant, J.M., O'Connor, A.M., Gardner, I.A., Dickson, J.S., Torrence, M.E., Participants, C.M., Dohoo, I.R., Lefebvre, S.L., Morley, P.S., Ramirez, A., Snedeker, K., 2010. The REFLECT statement: Reporting guidelines for randomized controlled trials in livestock and food safety: Explanation and elaboration. Zoonoses Public Health 57 (2), 105–136. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01312.x.
Shilnikova, N., Momoli, F., Karyakina, N., Krewski, D., 2025. Review of non-invasive biomarkers as a tool for exposure characterization in human health risk assessments. J. Toxicol. Environ. Health 28 (2), 122–150. https://doi.org/10.1080/10937404.2024.2428206.
Shimonovich, M., Pearce, A., Thomson, H., Keyes, K., Katikireddi, S.V., 2021. Assessing causality in epidemiology: revisiting Bradford Hill to incorporate developments in causal thinking. Eur. J. Epidemiol. 36 (9), 873–887. https://doi.org/10.1007/s10654-020-00703-7.
Sil, A., Kumar, P., Kumar, R., Das, N.K., 2019. Selection of control, randomization, blinding, and allocation concealment. Indian Dermatol. Online J. 10 (5), 601–605. https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ_149_19.
Stahl, T.C., Mullin, E.M., Piñeiro, J.M., Lunak, M., Chahine, M., Erickson, P.S., 2024. Creating models for the prediction of colostrum quantity, quality, and immunoglobulin G yield in multiparous Jersey cows from performance in the previous lactation and environmental changes. J. Dairy Sci. 107 (7), 4855–4870. https://doi.org/10.3168/jds.2023-24209.
Stojić, M., Ilić, V., Kovačić, M., Gvozdić, D., Stajković, S., Vejnović, B., Savić, O., Fratrić, N., 2020. Effects of oral supplementation with organically modified clinoptilolite during the prepartum period on colostrum quality in primiparous dairy cows. J. Dairy Res. 87 (4), 429–435. https://doi.org/10.1017/S0022029920001077.
Sun, X., Hou, Y., Wang, Y., Guo, C., Wang, Q., Zhang, Y., Yang, Z., Wang, Z., Cao, Z., Wang, W., Li, S., 2022. The blood immune cell count, immunoglobulin, inflammatory factor, and milk trace element in transition cows and calves were altered by increasing the dietary n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acid levels. Front. Immunol. 13, 897660. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.897660.
Vonnahme, K.A., Tanner, A.R., Hildago, M.A.V., 2013. Effect of maternal diet on placental development, uteroplacental blood flow, and offspring development in beef cattle. Anim. Reprod. 15 (.1), 912–922. https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0050.
Wang, H., Elsaadawy, S., Wu, Z., Bu, D., 2021. Maternal supply of ruminally-protected lysine and methionine during close-up period enhances immunity and growth rate of neonatal calves. Front. Vet. Sci. 8, 780731. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.780731.
Wankhade, P.R., Manimaran, A., Kumaresan, A., Jeyakumar, S., Ramesha, K.P., Sejian, V., Rajendran, D., Varghese, M.R., 2017. Metabolic and immunological

changes in transition dairy cows: A review. Vet. World 10 (11), 1367–1377. https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1367-1377.
Westland, A., Martin, R., White, R., Martin, J.H., 2017. Mannan oligosaccharide prepartum supplementation: Effects on dairy cow colostrum quality and quantity. Anim 11 (10), 1779–1782. https://doi.org/10.1017/S1751731117000672.
Yang, M., Zou, Y., Wu, Z.H., Li, S.L., Cao, Z.J., 2015. Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. J. Dairy Sci. 98 (10), 7153–7163. https://doi.org/10.3168/jds.2014-9238.

Chapitre III. Une étude interventionnelle randomisée contrôlée

The impact of extruded linseed diets rich in omega-3 fatty acids during the dry period on colostrum quality and the health of the dairy cow-calf pair around calving

INTRODUCTION

The dry period in dairy cows, which spans approximately six to eight weeks before calving, is a critical transitional phase that lays the groundwork for a successful lactation cycle. This period is characterized by profound physiological, metabolic, and immunological adjustments that increase the cow's susceptibility to various disorders, including infectious and metabolic diseases (Drackley, 1999). Among the key processes occurring during this phase is colostrogenesis, during which the mammary gland undergoes structural and functional changes to initiate the synthesis and secretion of colostrum (Dado-Senn et al., 2019). Colostrum is known to play an important role in neonatal health by providing passive immunity, bioactive compounds, and nutrients that support early development and disease resistance in calves (Fischer-Tlustos et al., 2021; Uken et al., 2021). Furthermore, maternal nutrition during this phase has been linked to the cow's ability to cope with the metabolic demands of calving and the onset of lactation (Westhoff et al., 2024). Thus, nutritional strategies implemented during this window are crucial not only for supporting the calf but also for safeguarding the cow's health as she transitions into lactation.

Given the pivotal role of colostrum in calf health, attention has increasingly turned to maternal nutrition during the dry period as a means to improve neonatal outcomes. However, improving the nutritional management of dairy cows during this phase is not only relevant for enhancing colostrum quality and passive transfer of immunity, but also for supporting maternal metabolic adaptation, immune competence, and overall health around calving. Recent studies have highlighted that targeted nutritional interventions could benefit both colostrum composition and the dam's ability to cope with the physiological demands of the transition period (Gulliksen et al., 2008; Mann et al., 2016; J. Mee, 2023).

A recent systematic review and metanalysis indicates considerable heterogeneity in the types of nutritional supplementation tested, ranging from fatty acids (FA) to mineral or vitamin complexes, with no single intervention consistently improving colostral immunoglobulin G (IgG) concentrations (Serhal et al., 2025). Nevertheless, certain FA, particularly omega-3 PUFAs, have attracted growing interest for their multifactorial properties. Omega-3 FA, including alpha-linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA), and docosahexaenoic acid (DHA), are known to modulate immune function, reduce inflammation, and improve lipid metabolism in dairy cows (Fabjanowska et al., 2023; Saini et al., 2021). These effects are particularly relevant during the peripartum period, a time characterized by oxidative stress

and inflammatory responses that can compromise both metabolic balance and colostrogenesis. In this context, the inclusion of dietary fats, and more specifically, the balance between omega-3 and omega-6 FA, may influence not only the dam's physiological adaptation, but also the quality of colostrum through immunological and metabolic pathways.

Among the sources of omega-3 FA, linseed emerges as a particularly promising option. Linseed is a rich source of ALA, a precursor to EPA and DHA. However, unprotected omega-3 FA are subject to extensive biohydrogenation in the rumen, reducing their bioavailability for absorption and utilization (Sterk et al., 2012). Extrusion, a process that combines heat and pressure, protects the omega-3 FA content of linseed, preserving its bioavailability and ensuring efficient absorption and utilization due to its protection against ruminal degradation, enabling these bioactive compounds to be effectively transferred from maternal tissues to colostrum and milk (Sterk et al., 2012). Extruded linseed supplementation has been shown to increase the omega-3 FA content in milk and tissues, suggesting its potential to support maternal and neonatal health when included in dry period diets (Gonthier et al., 2005; Meignan et al., 2017). While much is known about the effects of omega-3 FA during lactation, their potential during the dry period has been relatively understudied. In lactating cows, omega-3 FA supplementation has been linked to improved milk production, and enhanced reproductive performance (Ariza et al., 2019; Meignan et al., 2019b). However, research exploring the use of omega-3 FA during the dry period is limited.

The supplementation of omega-3 FA seems particularly relevant during the transitional period around calving, where cows experience negative energy balance (NEB) and mobilize body fat reserves, resulting in elevated non-esterified fatty acids (NEFA) and beta-hydroxybutyrate (BHB). These biomarkers are critical biomarkers of lipid mobilization and energy metabolism, with excessive levels often leading to metabolic disorders such as ketosis (Esposito et al., 2014). Omega-3 FA could then modulate these processes by reducing NEFA mobilization and optimizing hepatic lipid oxidation, thereby stabilizing energy balance and lowering BHB levels (Fabjanowska et al., 2023; Moallem et al., 2013). Beyond their impact on energy metabolism, omega-3 FA have been implicated in several other physiological functions relevant to the transition period. Their anti-inflammatory properties have been shown to attenuate the immune activation and systemic inflammation typically observed around calving (Mavangira and Sordillo, 2018). In addition, omega-3 FA contribute to oxidative balance by reducing biomarkers of oxidative stress in both dams and calves (Opgenorth et al., 2020a), a key aspect of metabolic stability during this high-risk period. Moreover, several studies also suggest that maternal omega-3 FA supplementation may influence the transfer of passive immunity to the calf, potentially by modulating colostrum composition or enhancing immunoglobulin absorption at the intestinal level (Danicke et al., 2012; Garcia et al., 2014), although the underlying mechanisms remain poorly defined. These findings support the hypothesis of a nutritional transfer from dam to calf, through which omega-3 FA are passed from maternal reserves and diets to colostrum and transition milk, and ultimately to the calf. However, the extent and physiological relevance of this transfer remain insufficiently documented. If documented, such a process of nutritional transfer not only meets the dam's postpartum energy demands but also provides the calf with essential nutrients for energy metabolism, immune development, and growth. By targeting multiple levers — energy metabolism,

protein dynamics, mineral regulation, and oxidative balance — omega-3 FA could offer a comprehensive strategy to improve maternal and neonatal health, highlighting their potential as a critical nutritional intervention during the dry period.

This study aimed to address this gap by evaluating the effects of omega-3 FA supplementation via extruded linseed during the dry period, focusing on the dynamics of nutritional transfer. Our primary objective is to determine whether omega-3 FA from extruded linseed effectively accumulate in maternal tissues during late gestation and are subsequently transferred postpartum to the calf through colostrum and transitional milk, as well as to the dam herself to support her energy requirements. Our secondary objective is to assess, using nutritional biomarkers, the impact of omega-3 fatty acids supplementation on the energy metabolism of dairy cows and their calves during early life, as well as on the composition and quality of colostrum and transitional milk.

MATERIALS AND METHODS

Oniris Veterinary Ethics and Research Committee (CERVO) in Nantes, France, has approved all procedures and guidelines involving animals. The reference number for this approval is CERVO-2023-13-V.

Experimental design

The study was originally designed (randomized controlled trial) based on a dual rationale, combining principles from pilot studies in human nutrition and epidemiological clustering frameworks. Because individuals are clustered within a farm, we considered each farm as a cluster in our study design. Pilot studies in human nutrition typically include about 15 individuals per group (Lancaster et al., 2004). Since our design involved two groups (control and treatment) per farm, we planned to include 30 cows per farm. Although some epidemiological studies recommend including at least 30 clusters of 30 individuals to estimate nutritional deficiency prevalence (Binkin et al., 1992), our objective was not to estimate prevalence precisely.

Therefore, we planned to conduct our study on five farms (n=150). To ensure homogeneity on the dietary exposure to omega-3 FA of the study sample, the recruitment of the farms was based on the following criteria: located on in the Grand-Ouest region of France, have limited access to pasture during the dry period, no use of extruded linseed supplementation in the four weeks prior to dry-off, accepts to use the maternal colostrum and milk for calf feeding during the first 7 days of life, infrastructure allowing physical separation of treatment groups or individual feeding systems, and enrollment in milk recording programs or use of robotic milking systems. Within these farms, pregnant cows were eligible if they were purebred Holstein and expected to calve between May and October 2023. Cows were excluded if they were heifers or had a dry period shorter than 8 weeks.

Due to logistical and recruitment delays encountered during field implementation, the calving window was extended to December 2023, and we were ultimately able to enroll three

commercial farms instead of the originally planned five, as detailed in Figure 1. In total, we included 36 pregnant dairy cows, with 17 (47%) from the first farm, 15 (42%) from the second farm, and 4 (11%) from the third farm. All animals were pregnant purebred Prim'Holstein, multiparous (47% in their second pregnancy and 53% in their third or higher ones).

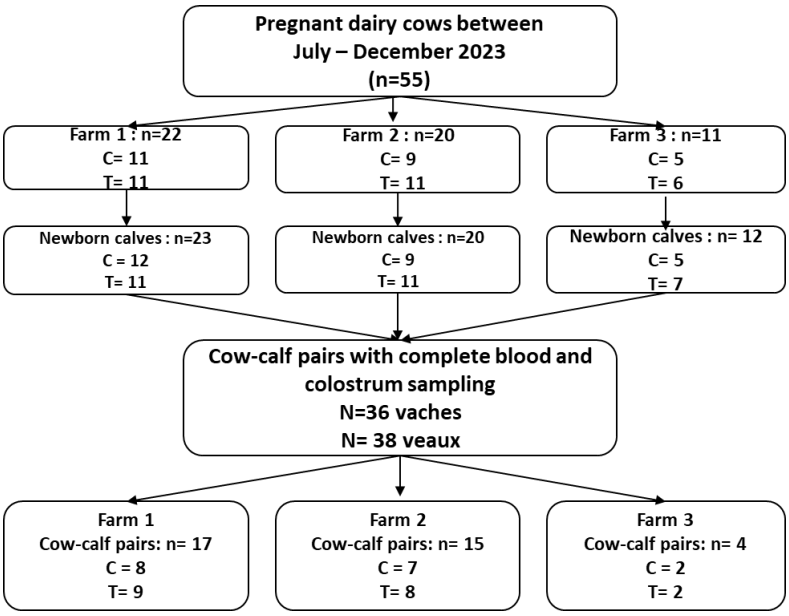


Figure 2. Flowchart of cow-calf pairs selection

Nutritional Supplementation Strategy

Prior to the dry off period, cows were randomly assigned to either of two groups, based on their expected calving date. The study took place in a straw-bedding barn on each farm, with both groups sharing the same environmental conditions during their 60-day dry period. For each farm, the "Control" group (n=17) received a diet corresponding to the diet typically fed during the drying off and pre-calving period. The "Treatment" group (n=19) received a diet analogous to that of the Control group, but supplemented with a commercial feed, extruded linseed, TradiLin® (manufactured using a patented process, n°EP1155626). The primary FA present in extruded linseed (TradiLin®) are alpha-linolenic acid (ALA, C18:3n-3), linoleic acid (C18:2n-6), oleic acid (C18:1n-9), palmitic acid (C16:0), and stearic acid (C18:0). Together, these five FA accounts for approximately 95% of the total FA content in the feed, making them the most relevant markers to assess dietary exposure and biological transfer. For each farm, diets were balanced to ensure comparability between the Control and Treatment groups in terms of energy content (<3% difference) and protein content (<6% difference) (Table 1). The quantity of product to be distributed for each diet was determined based on achieving a total daily intake of 45 IT3 (Omega-3 Technical Index). The IT3 index, developed by Valorex, is a formulation that estimates the quantity and availability of Omega-3 FA (Valorex, 2022).

Table 1. Diet ingredients and composition during the experimental period in both groups across all three farms

Diet ingredients (Kg DM/ cow/day)	Farm 1		Farm 2		Farm 3	
	Control	Treatment	Control	Treatment	Control	Treatment
Chopped straw	3.5	3.5	-	-	5.5	5.5
Maize silage	6.2	5.9	8.8	8.8	5.7	5.7
Grass silage	-	-	2.2	2.2	-	-
Rapeseed meal	1.8	1.8	-	-	-	-
Soybean meal	-		0.5	0.5	2.4	2.4
Barley grain	-	0.6	1.5	1.1	-	-
Tradilin® (extruded linseed, wheat bran, sunflower meal)	-	0.5	-	0.5	-	0.5
Mineral supplement	0.2	0.2	0.2	0.2	-	0.25
Acidifying agent	0.06	0.06	0.02	0.02	-	0.21

As colostrogenesis begins approximately seven weeks before calving, for each cow, diet distribution began at this stage and continued until parturition (independent of the allocation group). During this period, the cows of each group were housed together, with bedding provided on a straw bedded area in each farm. Following calving, the diet was standardized between the two groups and did not include Tradilin® supplementation. Following this period, the cows were returned to a cubicle barn with scraped concrete flooring.

To confirm and ensure the consistency of energy, protein, and fatty acid intake throughout the study period, despite potential variations in some dietary components, control measures were implemented. Specifically, chemical analysis of each mixed diet distributed on the farms were conducted at an unanticipated time during the trial. The analysis assessed the levels of nutritional inputs in the diets. Additionally, to address any changes in forage within the farms, an analysis of the raw material was performed.

Calves management

A total of 38 calves were born from dams included in this study, with two sets of twins. Among these calves, 17 were born from dams of the control group and 21 were born from dams of the treatment group, with an equal distribution of males and females, 19 calves of each sex (Figure 1). The study protocol stipulated that each calf received colostrum and transitional milk exclusively from its own mother. After the first week, all calves were transitioned to a common diet. However, among the recruited farms, it was not possible to standardize a uniform practice for the first colostrum intake.

Blood, colostrum and transition milk sampling timeline strategy

To investigate the nutritional transfer and effects of omega-3 FA supplementation during the dry period on both maternal and neonatal health, a structured blood and colostrum sampling protocol was implemented based on our study's objectives and key physiological windows relevant to FA omega-3 FA metabolism and transfer. In cows, blood samples were collected at Day -15 relative to calving to evaluate the accumulation of omega-3 FA during late gestation, and again at Day 0 (±2 days) to assess the maternal metabolic status at calving. Postpartum sampling was carried out on Day +7 and +15 to explore the maternal restitution of omega-3 FA, particularly their potential contribution to meeting the increased energy demands during the early lactation phase. In calves, blood samples were collected at Day 0 (±2 days), Day +7, and Day +15 to assess the passive transfer of omega-3 FA and other bioactive compounds via colostrum and transitional milk. These specific time points were chosen to correspond with colostrum ingestion (Day 0), transition milk feeding (Day +7), and the early metabolic adaptation period. Colostrum and transition milk were sampled at Day 0 and Day +4, respectively, during the first milking following calving. These time points were selected to capture the nutrient and immunoglobulin-rich composition of the colostrum and to evaluate its evolution during the transitional phase of lactation. Samples were collected directly by the farmer into sterile 50 mL tubes and stored at -20°C until analysis.

Biological analysis

Blood samples were drawn from the coccygeal vein of cows and the jugular vein of calves using three types of tubes: one containing lithium heparin for plasma, one with K_3-EDTA for hematological evaluation, and one with a coagulation activator for serum. Within 2 hours, samples were centrifuged at 1800 g for 5 minutes at 4 °C, and the separated plasma or serum was stored at −20 °C until further analysis.

An extensive biomarker panel was implemented to confirm exposure status and explore the influence of supplementation on multiple metabolic and health indicators. To provide a structured interpretation, biomarkers were classified according to an adaptation of a framework originally developed and designed for human nutrition (Gibson, 2024). To evaluate the impact of omega-3 FA supplementation, three categories were retained (Serhal et al., 2025): biomarkers of exposure, biomarkers of health function and status biomarkers. Table 2 outlines the biomarkers selected for this study, along with the rationale supporting their inclusion. In cases where no well-established biological link existed between omega-3 exposure and the selected outcomes, their inclusion was primarily driven by the exploratory nature of the study. A key objective within the broader framework of this thesis was to evaluate the field feasibility of collecting, processing, and analyzing a wide range of biological biomarkers under real-world farm conditions. This included not only the technical and logistical aspects—such as sample timing, handling of biological materials, and farmer collaboration—but also the inter and intra-individual variability in order to explore their analytical reliability and biological interpretability of these biomarkers in the context of perinatal cow-calf health and nutrition.

Table 2. Biomarkers measured during the study, the type of sample in which they were analyzed, the analytical method used, and their relevance to maternal or neonatal health

Biomarkers Category	Biomarkers	Sample Type	Analytical Method	Biological role	Linked with exposure*
Exposure	FA profile	Plasma, Colostrum, Milk	Lipidomics (gas chromatography)	Gold standard for FA intake and transfer	Yes, direct (Garcia M et al., 2014; Leduc et al., 2017; Santschi et al., 2009; Uken et al., 2021)
Health function	BHB, Glucose	Plasma	Optium neo strips	Ketosis risk, fat mobilization, energy indicator	Yes, indirect, mixed results (Ferlay et al., 2010; Zachut et al., 2010)
Health function	NEFA	Plasma	Enzymatic colorimetry	Lipid mobilization, energy balance	Yes, indirect (Zachut et al., 2010)
Health function	Haptoglobin	Serum	Immunodiffusion radial (IDR)	Inflammatory status	Yes, direct (Didara et al., 2015)
Health function	d-ROM, OXY	Serum	Colorimetric (Diaglobal)	Oxidant-antioxidant balance	Yes (Mavangira and Sordillo, 2018)
Health function	Immunoglobulins (IgG, IgM, IgA)	Plasma, Colostrum, Milk	ELISA, Spectrophotometry	Immunity, neonatal health	Not proven (plausible but unconfirmed hypothesis)
Health function	Ca	Plasma	Photometer 700DP	Milk fever risk	Not proven
Status	Oligosaccharides	Colostrum, Milk	Liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detection (LC-fluo-MS)	Prebiotic, immune development	Never evaluated
Status	Mg	Plasma	Photometer 700DP	Electrolyte balance	Not proven
Status	Vitamins A, E	Colostrum, Milk	Fluorometry (iCheck)	Antioxidant and immune roles; important for stability of omega-3 FA	Yes, indirect (Grodkowska et al., 2023; Santos et al., 2016)
Status	Total protein	Serum, Colostrum, Milk	Refractometry	Nutritional quality of milk	Not proven

**Linked with exposure = the exposure (FA) is proven in the literature to modulate the biomarker profile*

Statistical analysis

All statistical analyses were conducted using R Studio (version 2023.12.1+402). Normality assumptions were assessed using the Shapiro-Wilk test. If normality was confirmed, Student's t-tests were performed. However, if normality assumptions were not met, Mann-Whitney tests were conducted. Then, to evaluate the impact of treatment and days relative to calving on the variability of biomarkers in both plasma and colostrum samples, a mixed linear model with a repeated measures procedure was used.

We aimed to evaluate the effect of dietary supplementation with extruded linseed (rich in omega-3 FA) during the dry period on the lipid profiles of dairy cows and their calves, and on colostrum and milk FA composition. To integrate and visualize both quantitative FA concentrations and qualitative factors describing treatment and time, we applied Multiple Factor Analysis (MFA) using the FactoMineR and factoextra packages (Lê et al., 2008). MFA is an extension of principal component analysis (PCA) adapted for datasets containing both quantitative and qualitative variables. Data from four biological matrices (cow serum, calf serum, colostrum, and transition milk) were analyzed independently. Each dataset included concentrations (µg/mL) of individual FA (e.g., C18:3n-3, DHA, DPA, LA, AA) as quantitative variables. These were regrouped into biologically meaningful families: saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), omega-6 polyunsaturated fatty acids (n-6 PUFA), omega-3 PUFA (n-3 PUFA), short-chain and medium-chain SFA, and long-chain omega-3 PUFA (LCn-3: DPA + DHA) (Table 3). Derived variables such as omega-6/omega-3 ratio, ALA/LA ratio, LA/AA, and total PUFA concentration were also included. Qualitative variables were “Group” (Control vs. Treatment), “Time” (e.g., T1, T2, calving, and T4), “Group×Time”, and “Farm”.

Dimensions with the highest explained variance and significant biological meaning (e.g., time-dependent effects, treatment impact) were selected for further interpretation. For each dimension, the contribution of variables was assessed using squared correlations (cos^2), coordinates, correlation coefficients, and *v.test* values. Significance was set at $p<0.05$ based on permutation tests.

To identify patterns or subgroups among individuals (cows or calves), we applied Hierarchical Clustering on Principal Components (HCPC) on MFA dimensions. The optimal number of clusters was selected by inspecting inertia gain. Individual assignments were visualized in dendrograms and projected onto the MFA map to illustrate cluster separation and consistency with treatment or physiological stages.

Table 3. List of FA profiling and their classification

Common Name	**Symbol Formula**	**Category**
Saturated fatty acid (SFA)		
Butyric acid	C4:0	Short-chain fatty acid (SCFA)
Caproic acid	C6:0	Medium-chain fatty acid (MCFA)
Caprylic acid	C8:0	
Capric acid	C10:0	
Lauric acid	C12:0	
Myristic acid	C14:0	
Pentadecanoic acid	C15:0	Long-chain fatty acid (LCFA)
Palmitic acid	C16:0	
Margaric acid	C17:0	
Stearic acid	C18:0	
Behenic acid	C22:0	
Lignoceric acid	C24:0	
Mono-unsaturated fatty acid (MUFA)		
Omega-7 fatty acid		
Palmitoleic acid	C16:1ω7	MCFA
Vaccenic acid	C18:1ω7	
Omega-9 fatty acid		
Myristoleic acid	C14:1ω9	MCFA
Pentadecanoic acid	C15:1ω9	
Oleic acid	C18:1ω9	LCFA
Eicosenoic acid	C20:1ω9	
Erucic acid	C22:1ω9	
Nervonic acid	C24:1ω9	
Poly-unsaturated fatty acid (PUFA)		
Omega-3 fatty acid		
Alpha-linolenic acid (ALA)	C18:3ω3	LCFA

Stearidonic acid	C18:4ω3	
Eicosatrienoic acid (ETA)	C20:3ω3	
Eicosapentaenoic acid (EPA)	C20:5ω3	
Docosapentaenoic acid (DPA)	C22:5ω3	
Docosahexaenoic acid (DHA)	C22:6ω3	
Omega-6 fatty acid		
Linoleic acid (LA)	C18:2ω6	LCFA
Gamma-linolenic acid (GLA)	C18:3ω6	
Eicosadienoic acid	C20:2ω6	
Arachidonic acid (AA)	C20:4ω6	
Adrenic acid	C22:4ω6	
Docosapentaenoic acid (DPA ω6)	C22:5ω6	

FA are grouped according to their saturation level—saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA), and polyunsaturated fatty acids (PUFA)—and further subclassified by chain length: short-chain (SCFA, ≤C6), medium-chain (MCFA, C8–C12), and long-chain (LCFA, C14–C22). PUFA are additionally distinguished by their omega-3 (ω3) and omega-6 (ω6) series based on the position of the first double bond from the methyl end.

RESULTS

1. Nutrients and fatty acids analysis by diets

The three farms had an average daily milk yield ranging between 35-38 kg/cow/day, resulting in a stable average of 11.130 kg/lactation (305 days) across the three farms. Chemical analysis of the final diet was conducted just before the experiment begins. Nutrients composition and fatty acid profile of each of the diets from the three farms is presented in Table 4. For each farm, UFL/kg of DM, % of fat, and % of starch had relatively higher value in the treatment diet. In addition, there was a higher C18:3 n-3 intake in the treatment diet compared to the control diet by approximately +4.9 g/kg of DM.

Table 4. Analysis of nutrient composition and FA profile over different diets

	Farm 1		**Farm 2**		**Farm 3**	
	Control	**Treatment**	**Control**	**Treatment**	**Control**	**Treatment**
Nutrients (/DM)						
% DM (Kg crude)	50.6	52	41.4	41.2	38	39
UFL/kg DM	0.8	0.82	0.97	1	0.72	0.74
% CP	11.4	12.1	11	11.3	12.6	13
% Fat	2.3	3.3	2.5	3.2	0.9	1.7
% Starch	20.8	19.7	23.1	21.7	10.9	10.8
% CF	25.2	24.7	19.7	19.8	27.4	26.9
% NDF	48.9	48.2	40.6	40.7	51.9	51.1
Fatty Acids profile						
C16:0 (g/kg DM)	2	2.6	2.8	3.2	1.8	2.3
C18:2 n-6 (g/kg DM)	6.9	8.7	7.2	8.4	5.3	6.7
C18:3 n-3 (g/kg/DM)	0.8	7.2	3	7	0.6	5.1
Total FA (g/kg DM)	16	27	17	24	14	22

Dry matter percentage (% DM), metabolizable energy content (UFL/kg DM), crude protein content of the DM (% CP), fat content of the DM (% Fat), starch content of the DM (% Starch), crude fiber content of the DM (% CF), neutral detergent fiber content of the DM (% NDF).

2. Exposure Biomarkers

In line with our primary objective, this section presents the stepwise analysis of omega-3 FA nutritional transfer from the maternal diet to the cow, the colostrum and milk, and ultimately to the calf.

Nutritional transfer from maternal diet to cow blood

The multiple factor analysis (MFA) was conducted over four time points: T1 (start of supplementation, day -50 before calving), T2 (day -15), T3 (calving), and T4 (7 days post-calving). The analysis included two main blocks: quantitative variables related to fatty acid concentrations and qualitative metadata including group (control vs. treatment), sampling time, and cow ID.

The individual factor map (Figure 3.a) revealed a clear temporal progression in the treatment group, with distinct clusters forming from T1 to T4. In contrast, the control group showed overlapping ellipses, indicating relative metabolic stability in the absence of supplementation. Dimension 1, explaining 24.1% of the total variance, was primarily associated with physiological evolution over time, while Dimension 4 (8.9%) differentiated cows based on dietary intervention. The group variable was significantly correlated with Dimension 4 (cos^2 = 0.84), supporting a specific metabolic signature in response to linseed supplementation (Appendix Figure 1.a).

The correlation circle (Figure 2.b) highlighted that long-chain omega-3 FA, particularly DPA (C22:5n-3) and DHA (C22:6n-3), were strongly associated with the treatment group along Dim 4. This suggests effective incorporation of dietary omega-3 FA into maternal circulation. Hierarchical clustering on principal components (HCPC, Appendix Figure 1A) identified four main clusters reflecting specific group-time combinations. Notably, cows from the treatment group at T2, T3, and T4 were grouped together, distinct from the control group, indicating a persistent metabolic shift induced by supplementation.

Together, these findings demonstrate that omega-3 intake during the dry period leads to significant changes in the maternal serum lipid profile, supporting the occurrence of a first step in nutritional transfer.

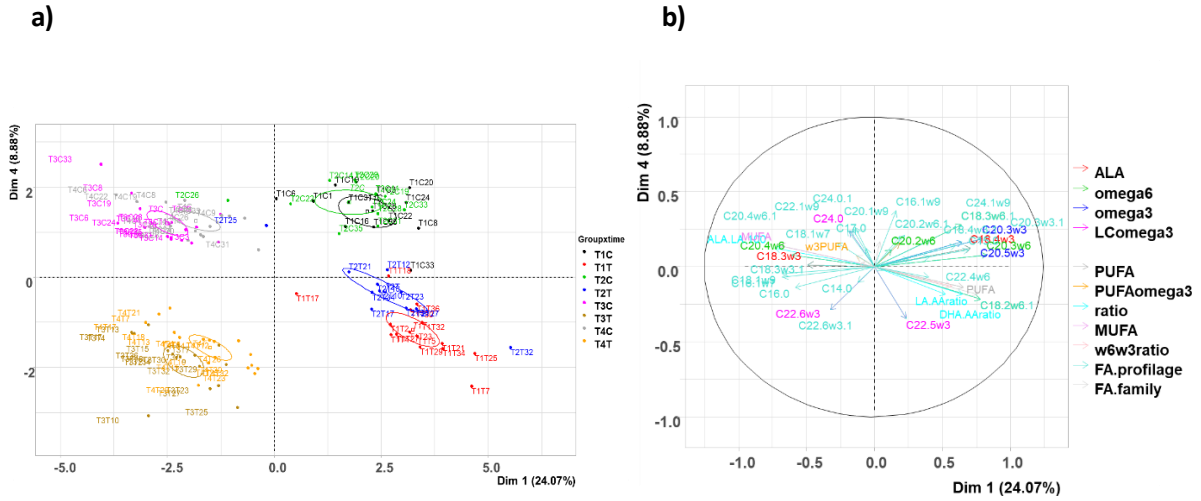


Figure 3. Multiple factor analysis (MFA) of serum lipid profiles of dairy cows (n=36) across four timepoints and groups (control vs. treatment).

(**a**) **Individual factor map** (dimensions 1 and 4) showing the trajectories of cows across four timepoints (T1: day -50, T2: day -15, T3: calving, T4: day +7). Ellipses represent the 95% confidence regions around each group. In treated cows (T), ellipses are clearly separated by timepoint, particularly between T1 and T2, and remain distinct through T4, suggesting a persistent effect of linseed supplementation. In contrast, ellipses for control cows (C) overlap significantly, indicating minimal temporal change. Dimension 1 (24.1% of variance) corresponds to physiological transitions, especially between gestation and lactation. Dimension 4 (8.9% of variance) captures the supplementation effect, with a statistically significant difference between groups (v.test = ±9.63, p < 1e-43). (**b**) **Correlation circle** of the quantitative variables contributing to MFA. Fatty acids such as DPA (C22:5w3), DHA (C22:6w3),

C22:5w6 and C20:3w3 were significantly associated with Dim 4, supporting the hypothesis that linseed intake enriched serum omega-3 FA content. These variables showed p-values < 0.01 and high correlation coefficients (e.g., r = 0.37 for C16:1w9, p = 3.7e-5). FA profiles: all individual FA identified in serum. FA Families: Short SFA + Medium SFA + Total SFA + MUFA + omega-6 PUFA + omega-3 PUFA; ALA: Alpha-linolenic acid (C18:3 n-3); Omega-6: LA (18:2n-6) + 18:3n-6 + C20:2n-6 + C20:3n-6 + AA (C20:4n-6); Omega-3: ALA + 18:4n-3; LC omega-3: DPA + DHA; PUFA: Polyunsaturated FA; MUFA: Monounsaturated FA; w6-w3 ratio; concentration: total FA concentration (µg/mL); ratio: LA/AA + DHA/AA + ALA/LA

To illustrate lipid profile changes associated with both supplementation and physiological transition across the studied time points, we calculated percentage differences in all measured FAs between treatment and control groups (Figure 3). Focusing on the relative abundance of the principal fatty acids provided by extruded linseed (C18:3n-3, C18:1n-9, C18:2n-6, C16:0, and C18:0), at T1 (baseline, before supplementation), ALA (C18:3n-3) was **2.9% lower** in treated cows compared to controls. However, this relative deficiency increased markedly by T2 (–16.6%), before narrowing again at T3 (–2.8%) and T4 (–1.6%). This progressive reduction, represented by red bars, may reflect rapid metabolic utilization of dietary ALA after supplementation began. Conversely, LA (C18:2n-6), was **consistently elevated** in the treated group up to calving (T1: +7.3%, T2: +4.8%, T3: +4.5%), before declining post-partum (T4: –5.9%). Oleic acid (C18:1n-9), a major MUFA, showed **dynamic fluctuations**, with a **strong increase at T2 (+11%)**, contrasting with **reductions at T1 (–9.3%), T3 (–5.7%)**, and especially at T4 (–17.9%). Notably, the omega-3 derivative **SDA (C18:4n-3)** was consistently **higher** in treated cows (T1: +10.5%, T2: +6.8%), suggesting active Δ6-desaturation of ALA. This pattern was followed by increases in **DHA (C22:6n-3)** at calving (+18.4%) and at day +7 (+10%), indicating successful elongation and desaturation processes. On the other hand, **EPA (C20:5n-3)** showed a paradoxical pattern: it was similar or slightly increased early on (T2: +0.3%), but markedly **lower** at calving (–31.5%) and at day +7 (–7.4%) in treated cows. Statistically non-significant.

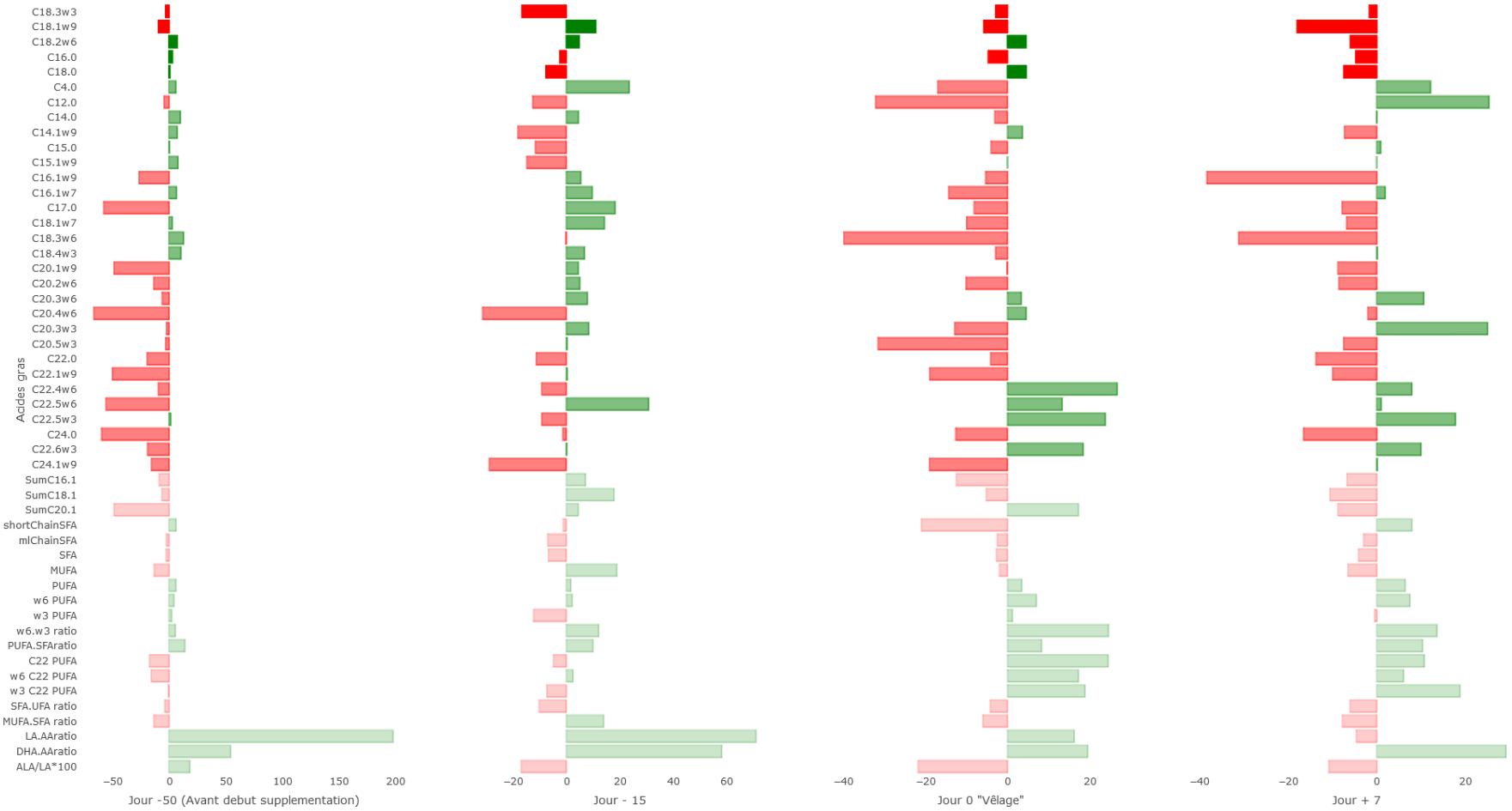


Figure 4. Variation in the maternal serum lipid profile (%) between treated and control cows across the peripartum period

Bar chart representing the % difference in serum FA concentrations between the treatment and the control group at 4 time points. Each bar reflects the Δ% = ((Treatment – Control) / Control) × 100 for individual FA (the first n = 5 most abundant FAs and selected derived lipid classes). Red bars indicate lower concentrations in the treatment group compared to controls, while green bars indicate higher concentrations.

Nutritional transfer from cow to colostrum and transition milk

To evaluate the second step of nutritional transfer — from maternal circulation to secreted mammary products, we compared the FA profiles of colostrum (Day 0) and transition milk (Day +4) between control and treatment groups. The projection of individuals on dimensions 3 and 4 (explaining 15.67% and 9.19% of the variance, respectively) revealed a spatial separation between the treatment (T) and control (C) groups, with treated cows clustering in the positive range of Dim 3 (Figure 4.a). This pattern suggests a **moderate structuring effect** of omega-3 FA supplementation on the colostral fatty acid profile.

The category map of qualitative variables (Appendix Figure 2A) showed that categories such as **ALA**, and specific **FA profiles** were positively associated with Dim 3, similarly to the treatment group. Conversely, variables like **MUFA**, and the **w6/w3 ratio** were located closer to the origin or on the negative axis, suggesting weaker or inverse associations with supplementation. The correlation circle (Figure 4.b) confirmed that Dim 3 was positively correlated with C18:4n-3 (stearidonic acid, a metabolic intermediate formed from ALA via Δ6-desaturase activity), short-chain SFA C12:0 and C15:0, and the DHA/AA ratio, while being negatively correlated with several omega-6 PUFAs (**C18:2n-6**, **C20:4n-6**, **C22:1n-9**, and the **w6/w3 ratio**). This axis reflects an **omega-3-enriched** lipid signature in supplemented cows. These results indicate that dietary omega-3 FA were not only absorbed systemically but also **effectively transferred to the mammary gland**, influencing colostrum and transition milk composition.

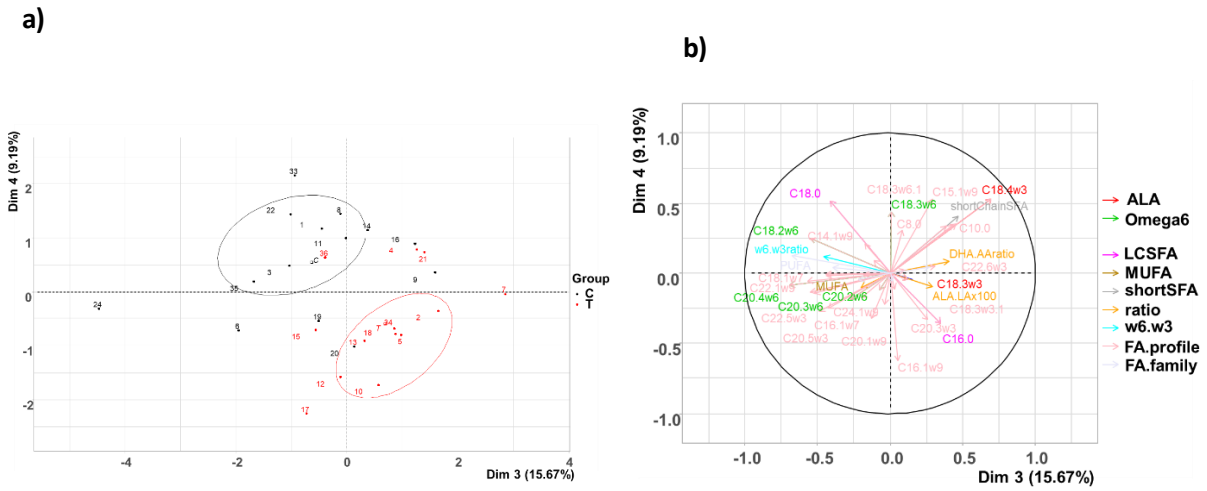


Figure 5. Multiple Factor Analysis (MFA) of colostrum lipid profiles of dairy cows (n = 27) across groups (control vs. treatment).

(**a**) **Individual factor map**, Projection of individual cows on Dim.3 and Dim.4 with 95% confidence ellipses around each group (C = control; T = treated). Treated cows (red) are mostly located in the lower right quadrant, and control cows (black) in the upper left. Dim.3 and Dim.4 account for 15.67% and 9.19% of the variance, respectively. (**b**) **Correlation circle** of quantitative variables on Dim.3 and Dim.4. Positive correlations with Dim.3 include C18:4n-3, SCFA, and DHA/AA ratio. Negative correlations include omega-6 PUFAs and w6/w3 ratio.

The MFA conducted on transition milk FA profiles revealed that the first and third dimensions accounted for 24.49% and 12.24% of the total variance, respectively. Dim 3 effectively separated between the treatment and control groups (T vs C), as shown in the individual map in Figure 5.a.

Dim 1 was primarily driven by LC-PUFAs, including C22:0, and C20:3n-6, as well as by saturated FA. On Dim 3, treated cows were characterized by higher levels of short- and medium-chain saturated FA (e.g., C10:0, C12:0 to C15:0) and omega-3 PUFA (notably ALA, r = 0.47), while control cows showed higher concentrations of omega-6 PUFA (e.g., C18:2n-6, r = –0.51; total n-6 PUFA, r = –0.53). Although not directly visualized in the MFA plots, the farm effect was significant ($R^2 = 0.52$, $p < 0.001$), with Farm 1 displaying higher levels of MUFA and omega-3 PUFA, including ALA.

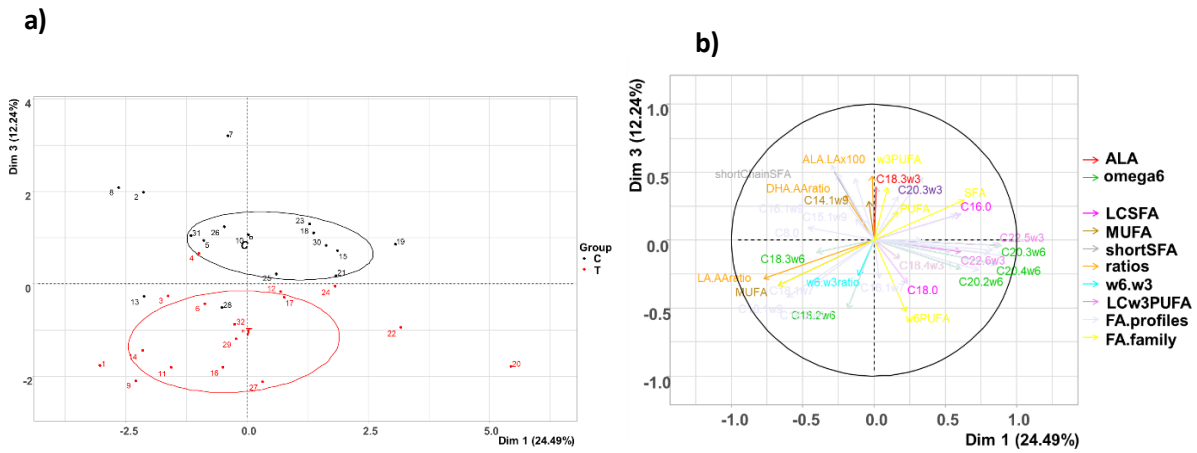


Figure 6. Multiple Factor Analysis (MFA) of transition milk lipid profiles of dairy cows (n = 27) across groups (control vs. treatment)

(**a**) **Individual factor map**, transition milk of cows from the treated group (T), which received extruded linseed supplementation during the dry period, are clearly separated from control group (C) on Dimension 3 (12.2% of variance). This axis captures the metabolic signature of omega-3 FA intake, as reflected by an increased concentration of short-chain saturated fatty acids (C10:0, C12:0), ALA (C18:3n-3), and w3PUFA. Dimension 1 (24.5% of variance) mainly reflects farm-related effects, with a strong separation between cows from Farm 1 and Farm 2, and is driven by long-chain omega-6 PUFA (e.g., C22:0, C20:4w6) and total FA concentration. (**b**) **Correlation circle** of quantitative variables contributing to the MFA. Dimension 3 was positively correlated with ALA (C18:3n-3), short-chain SFA (C10:0 to C15:0), and w3PUFA, while negatively correlated with omega-6 PUFA (e.g., C18:2n-6, C22:4n-6) and the w6PUFA family. Dimension 1 was strongly associated with long-chain n-6 PUFA (e.g., C22:0, C20:4n-6, C22:5n-6) and negatively with MUFA and total FA concentration, suggesting divergent lipid metabolism between farms.

The evolution of the lipid profile in colostrum and transition milk between treated and control groups is presented as percentage differences (Δ%) FA concentrations in Figure 6. In **colostrum**, several key FA showed marked differences. Notably, levels of **oleic acid (C18:1n-9)** were significantly elevated in the treatment group (+12.9%), along with a moderate increase in **palmitoleic acid (C16:1n-7; +10.4%)**. Similarly, **MUFA as a group** were enriched by +13.2%, while **PUFA** showed a global reduction (–13.5%), especially **omega-3 PUFA** like **ALA (C18:3n-3; –7.2%)**, **EPA (C20:5n-3; –27.2%)**, and **DHA (C22:6n-3; –29.9%)**. Interestingly, the

DHA/AA ratio, an anti-inflammatory marker, was reduced (–6.5%), while **ALA/LA ×100** increased (+15.1%). Regarding omega-6 PUFAs, **linoleic acid (C18:2n-6)** and **arachidonic acid (C20:4n-6)** were both decreased (–9.4% and –29.1%, respectively). Short- and medium-chain saturated FAs were also depleted, particularly **butyric acid (C4:0; –33.2%)**, **lauric acid (C12:0; –12.5%)**, and **myristic acid (C14:0; –10.3%)**.

In contrast, the **transition milk** profile displayed a reversed trend for many of these FA. **ALA** (+3.6%), **DHA** (+22.3%), **oleic acid (C18:1n-9; +7.4%)**, and **stearic acid (C18:0; +10.5%)** were significantly increased in the treatment group. Moreover, the **DHA/AA ratio** showed a substantial rise (+35.2%), accompanied by increased **LA/AA ratio (+28.9%)**, **PUFA/SFA ratio (+13.5%)**, and total **PUFA (+12.4%)**. This reflects a delayed but clear enrichment of omega-3 long-chain FA in milk lipid content. Some omega-6 PUFA like **gamma-linolenic acid (C18:3n-6; +39.1%)** also increased, although others like **AA (–11.4%)** and **adrenic acid (C22:4n-6; –18.4%)** decreased. Notably, several **short-chain and medium-chain SFA** (e.g., **C10:0, –41.7%**; **C12:0, –17.8%**) remained lower in the treated group (Appendix 3A).

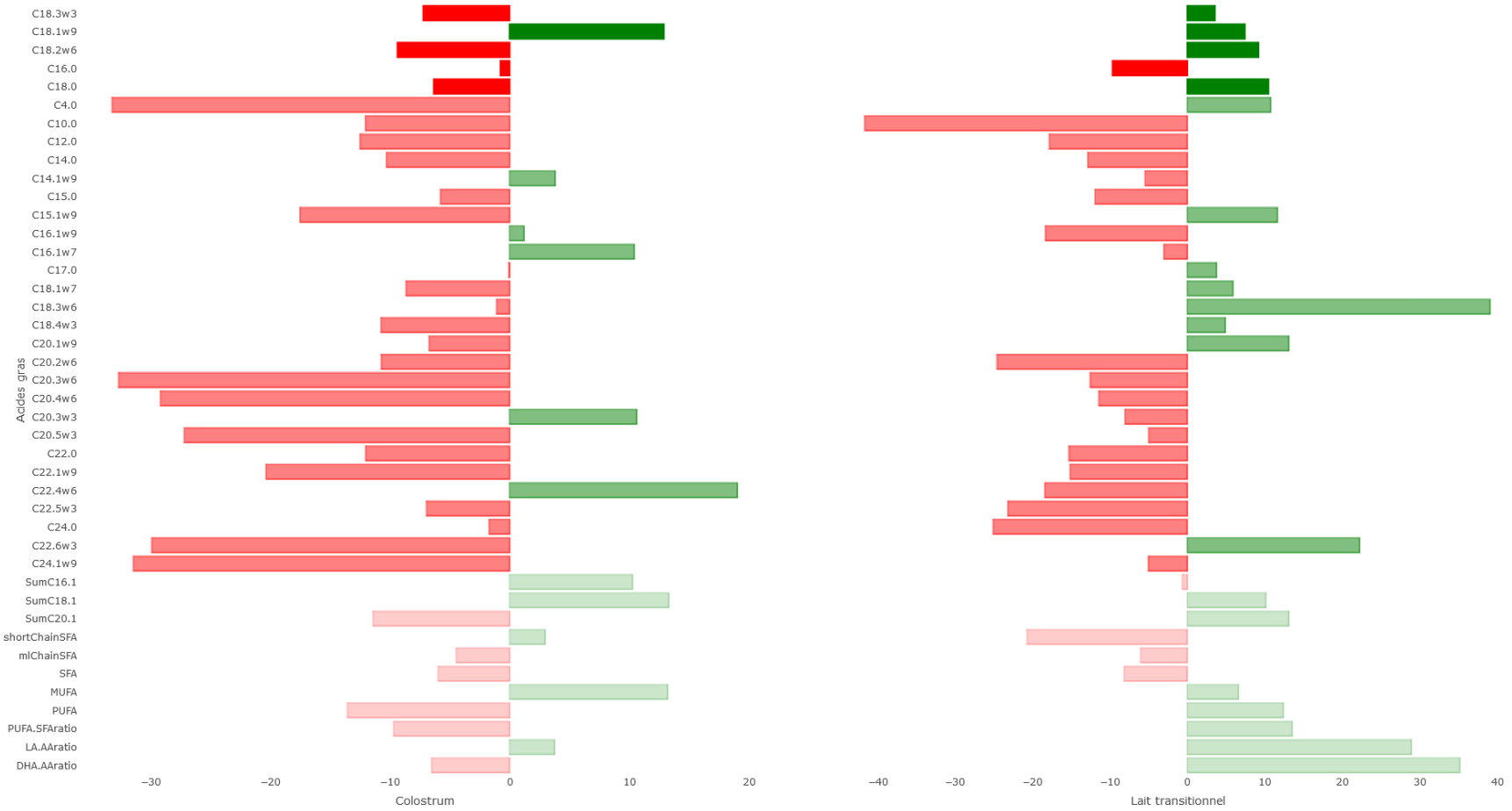


Figure 7. Variation in colostrum (d0) and transition milk (d+4) lipid profile (%) between treated and control cows

Bar chart representing the % difference in FA concentrations between the treatment and the control group. Each bar reflects the Δ% = ((Treatment – Control) / Control) × 100 for individual FA (the first n = 5 most abundant FAs and selected derived lipid classes). Red bars indicate lower concentrations in the treatment group compared to controls, while green bars indicate higher concentrations.

Nutritional transfer from colostrum and transition milk to the calf

Finally, we evaluated the presence of these FA in calf serum, providing evidence of passive transfer through maternal feeding. Dim 1 explained 22.46% of the total variance and Dim 3 captured 10.86% at birth, while at day 7, Dim 3 and Dim 4 explained 15.36% and 7.95% of the variance, respectively. The individual factor maps (Figure 7.a) revealed a clearer group separation at day 7 than at birth. At birth, the individual map showed partial clustering of the four experimental groups (CF, CM, TF, TM), with a tendency for treated groups (TF, TM) to shift toward the positive side of Dim 1. The variable "Group" appeared to be associated with both Dim 1 and Dim 3, reflecting early differences in serum FA composition. The correlation circle (Figure 7.b) indicated that Dim 1 was largely influenced by omega-6 and omega-3 FA such as C18:2w6, C18:3w3, and C22:6w3, as well as by total MUFA and PUFA contributions, suggesting a gradient in FA saturation and essential FA intake. By day 7 (T2), a clearer separation between groups was observed, especially along Dim 3 (15.36%), where treated male (TM) and female (TF) calves clustered on the positive side, while control (CF, CM) were positioned toward the negative side. This suggests a nutritional imprint of maternal supplementation on calf serum FA profile. The correlation circle revealed that Dim 3 was mainly driven by long-chain FA such as C20:5w3 (EPA), C22:5w3 (DPA), and C22:6w3 (DHA), along with lower contributions from omega-6 counterparts. These FAs are known markers of dietary intake and transfer through colostrum and milk. The positive shift of treated calves along Dim 3 at day 7 therefore supports the hypothesis of a successful transfer of omega-3 fatty acids from the supplemented dams to their offspring (Appendix 4A).

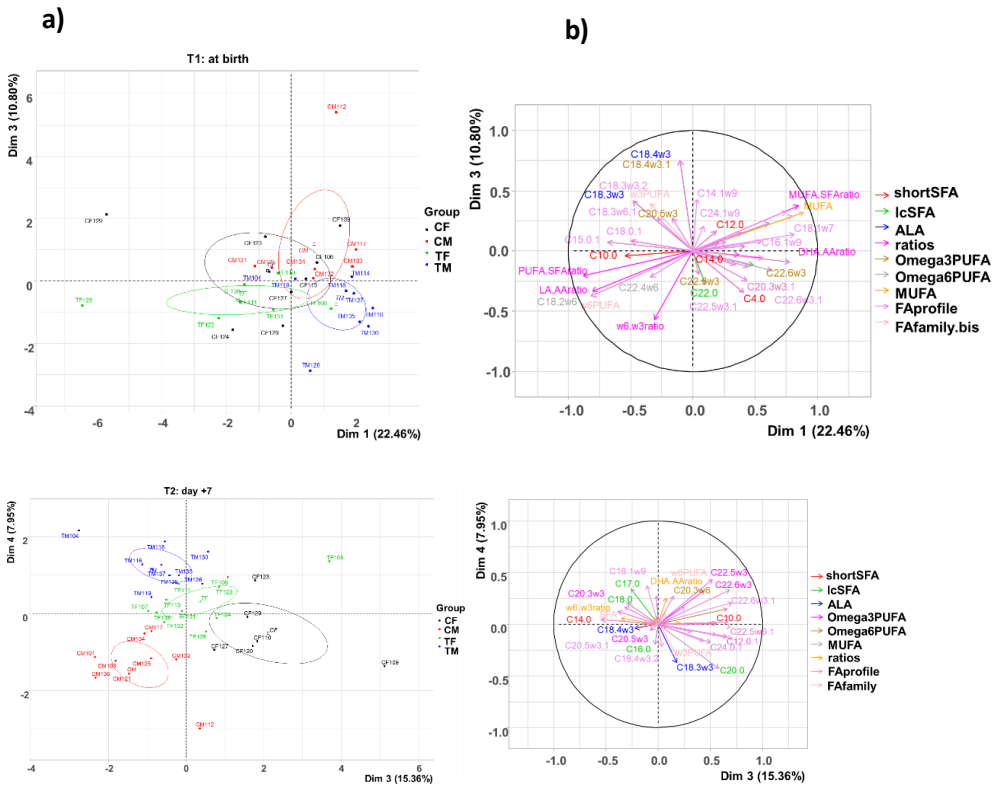


Figure 8. Multiple Factor Analysis (MFA) of serum lipid profiles of calves (n = 32) across groups (control vs. treatment) at birth and 7 days of life

(a) Individual factor map, showing the distribution of calves across four groups: CF (Control-Female), CM (Control-Male), TF (Treated-Female), and TM (Treated-Male). Ellipses represent 95% confidence regions around each group. Treated calves tend to cluster by sex, particularly along Dim.3, suggesting a combined influence of maternal supplementation and calf sex on neonatal serum lipid profiles. (b) Correlation circle of quantitative variables contributing to the dimensions. Long-chain omega-3 fatty acids (DHA, DPA, EPA) and functional ratios (DHA/AA, w6/w3, PUFA/SFA) are major contributors to the variance. Abbreviations: CF: control-female; CM: control-male; TF: treated-female; TM: treated-male. FA profiles: all individual fatty acids identified in calf serum. FA families: saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), omega-6 (Omega6PUFA), omega-3 (Omega3PUFA), alpha-linolenic acid (ALA, C18:3n-3). Ratios : DHA/AA, LA/AA, ALA/LA, w6/w3, PUFA/SFA, MUFA/SFA.

At **birth**, **male calves** born to supplemented dams exhibited substantial increases in several SFA, particularly short- and medium-chain FA such as **C4:0 (+46.0%)**, **C10:0 (+36.5%)**, **C14:0 (+50.4%)**, and **C15:0 (+47.6%)**. Some MUFA such as **C16:1w9 (–13%)** and **C18:1w7 (–7.4%)** were reduced. Notably, the omega-3 PUFA **ALA (C18:3w3)** and **DHA (C22:6w3)** were reduced (–25.2% and –19.7% respectively), while **EPA (C20:5w3)** showed a moderate increase (+22.1%), and **DPA (C22:5w3)** remained close to baseline (–1.6%). The **total w3 PUFA** rose by +10.4%, and the **PUFA:SFA ratio** improved slightly (+7.1%). In contrast, **female calves at birth** showed a **very strong increase in linoleic acid (C18:2w6, +88.7%)**, while **DHA** was decreased (–26.1%). The omega-6/omega-3 ratio in females was highly elevated (+93.2%), indicating an imbalance in PUFA profile.

At **day 7 of life**, **male calves** demonstrated improved incorporation of long-chain omega-3 FA: **DHA (+24.2%)**, **DPA (+26.4%)**, and **EPA (–38.2%)**, though EPA declined, suggesting possible metabolic utilization. The **PUFA/SFA ratio increased** by +26.9%, and the **DHA/AA ratio** improved slightly (–5.3%). However, **ALA (–11.6%)** and **C20:3w3 (–24.1%)** were reduced, indicating a shift toward elongation and desaturation products. Total MUFA decreased (–10.9%), driven by a major drop in **oleic acid (–32.6%)**, while total PUFA rose (+18.0%). **Female calves at day 7 of life,** exhibited the most striking increase in **C18:4w3 (+254.7%)**, confirming a sustained transfer of stearidonic acid from the dam. **EPA also rose sharply (+79.6%)**, while **DHA and DPA were reduced** (–12.1% and –25.9%, respectively). The **DHA/AA ratio** rose by +25.1%, suggesting improved anti-inflammatory capacity. However, the overall PUFA profile remained mixed, with a slight decrease in total PUFA (–4.5%) and a marked reduction in the **w6/w3 ratio (–43.0%)**, indicating a shift in the balance of FA classes.

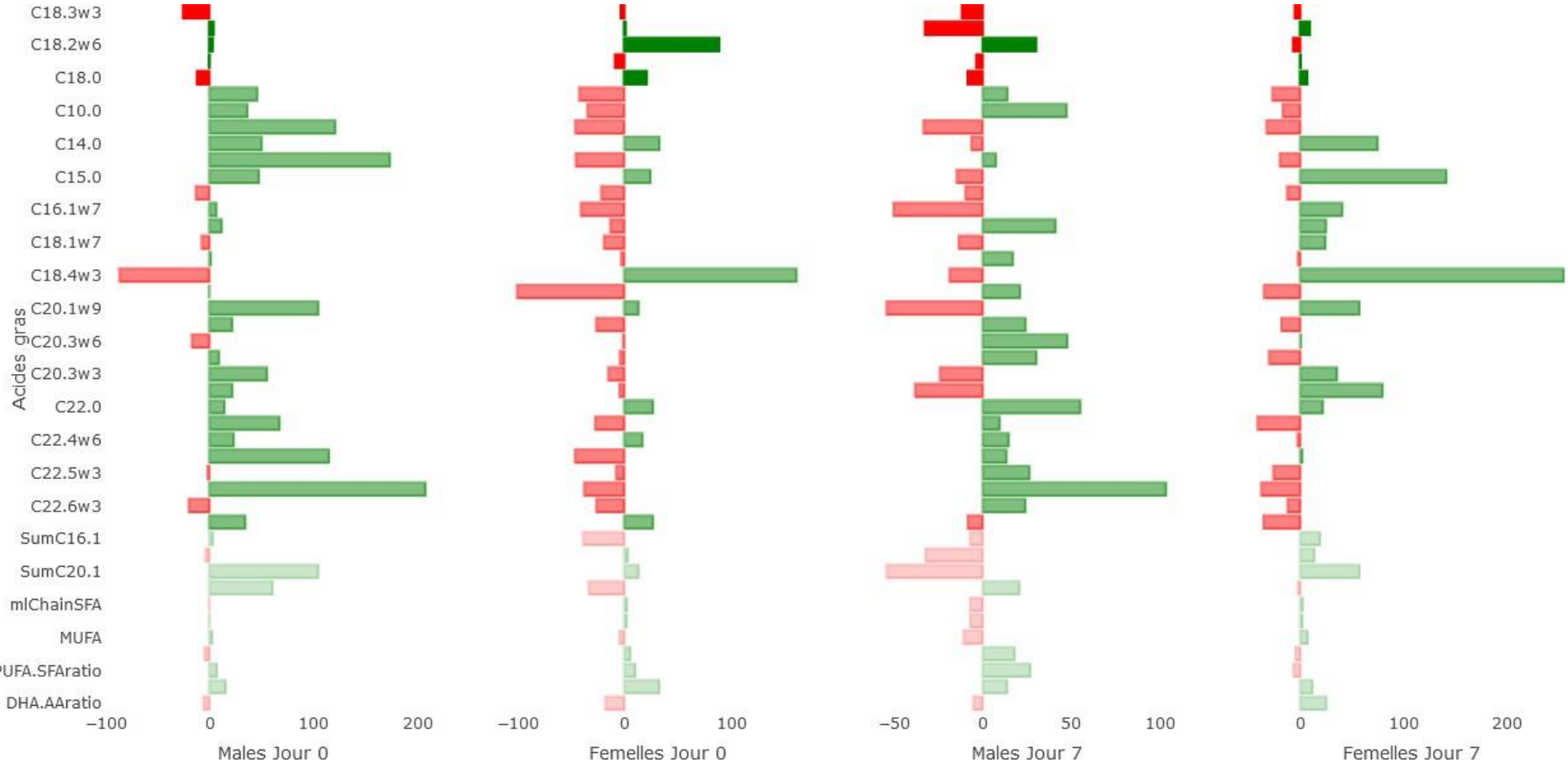


Figure 9. Variation in calves' (male and female) serum lipid profile (%) between treated and control groups

Bar chart representing the % difference in FA concentrations between the treatment and the control group. Each bar reflects the Δ% = ((Treatment – Control) / Control) × 100 for individual FA (the first n = 5 most abundant FAs and selected derived lipid classes). Red bars indicate lower concentrations in the treatment group compared to controls, while green bars indicate higher concentrations.

3. Health Function Biomarkers

To address our secondary objective, we next explored the functional effects of omega-3 FA supplementation on diverse health function biomarkers in the dam and offspring, and the quality of colostrum and transition milk.

Health function biomarkers in cow blood

To assess the contribution to omega-3 FA supplementation, we examined key functional biomarkers. Across the experimental period, **BHB** and **glucose** concentrations showed no significant differences between the treatment and control groups (Table 5). However, glucose levels tended to be higher in the treatment group at calving and on day +7 post-calving. A notable effect was observed for **NEFA**, which was significantly lower in the treatment group at calving ($p = 0.003$). Neither **Ca** nor **haptoglobin** nor **OSI** nor **IgM** differed significantly between group (Table 5). Statistically non-significative.

.Table 5. Mean blood Health biomarkers levels of cows in control and treatment groups at each sampling time point

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
d-50 pre-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.87	0.32	0.85	0.21	0.046	0.827
Glucose (g/l)	55.52	12.57	56.16	10.18	1.900	0.869
d-15 pre-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.58	0.17	0.61	0.26	0.037	0.710
Glucose (g/L)	62.11	36.93	66.31	51.06	7.396	0.777
NEFA (mmol/L)	0.32	0.19	0.29	0.18	0.030	0.703
Oxidative stress						
OSI (CARR U/µmol HClO /mL)	0.135	0.072	0.100	0.051	0.011	0.134
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	2.35	0.81	2.57	1.00	0.153	0.484
d0 calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.72	0.41	0.68	0.33	0.061	0.976
Glucose (g/L)	56.76	25.60	66.78	42.75	5.929	0.546
NEFA (mmol/L)	0.63	0.30	0.38	0.30	0.053	0.003
Proteins and Immunoglobulins						
IgM (g/L)	2.04	0.944	2.26	0.907	0.157	0.487
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	2.66	1.14	2.42	0.37	0.137	0.518
d+7 post-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.86	0.55	0.85	0.52	0.088	0.905
Glucose (g/L)	51.00	39.55	66.63	59.43	8.489	0.267
NEFA (mmol/L)	0.57	0.25	0.59	0.31	0.047	0.861
Proteins and Immunoglobulins						
IgM (g/L)	1.92	0.755	1.76	0.757	0.130	0.559

Inflammation and Oxidative Stress						
Haptoglobin (mg/L)	221.0	72.95	282.19	218.19	59.64	0.904
OSI (CARR U/µmol HClO/ml)	0.152	0.079	0.161	0.073	0.012	0.739
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	2.65	0.90	2.70	0.94	0.156	0.848
d+15 post-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.86	0.55	0.95	0.52	0.168	0.447
Glucose (g/L)	49.18	33.61	51.86	44.42	6.927	0.852

BHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: Non-esterified fatty acids; IgM: Immunoglobulin M; Ca: Calcium; OSI: Oxidative stress index; SEM: standard error of mean.

Health function biomarkers in colostrum and transition milk

We further analyzed health-related compounds in colostrum and transition milk to explore potential functional benefits. In colostrum samples collected on the day of calving (d0), colostrum TP content was 14.68 g/dL in the treatment group and 14.0 g/dL in the control group (p = 0.651). IgA concentrations were also similar (0.62 vs. 0.65 g/L), while IgM concentrations were significantly higher in the treatment group (1.33 vs. 0.46 g/L, p = 0.038). Oxidative potential, assessed through Oxy levels, showed no statistical difference between groups.

In transition milk sampled at day +4, protein and immunoglobulin levels declined by day +4 in both groups. Total protein levels were 10.47 g/dL in the treatment group and 11.11 g/dL in the control group, while IgA and IgM levels showed no significant group differences. Statistically non-significative. The mean IgG concentration was higher in the treatment group (34.4 ± 7.0 g/L) compared to the control group (29.6 ± 4.4 g/L), indicating an enhanced passive transfer of immunity in calves receiving the omega-3-enriched colostrum, although this difference did not reach statistical significance. Oxidative status (Oxy) remained stable (Table 6).

Table 6. Mean health biomarkers levels of colostrum and transitional milk samples in control and treatment groups

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
Colostrum (d+0)						
Proteins and Immunoglobulins						
Colostrum TP (g/dl)	14.0	5.20	14.68	3.51	0.723	0.651
IgA (g/L)	0.65	0.16	0.62	0.19	0.032	0.612
IgM (g/L)	0.46	0.55	1.33	1.31	0.189	0.038
IgG (g/L)	29.6	4.4	34.4	7.0	2.756	0.610
Oxidative stress						
Oxy (µmol HClO/ml)	528.43	197.04	506.26	154.86	28.968	0.712
Transition Milk (d+4)						
Proteins and Immunoglobulins						
Milk TP (g/dL)	11.11	3.51	10.47	1.92	0.461	0.508
IgA (g/L)	0.51	0.24	0.58	0.19	0.037	0.374
IgM (g/L)	0.17	0.15	0.20	0.25	0.041	0.749
Oxidative stress						
Oxy (µmol HClO/ml)	460.78	84.16	500.14	155.45	21.124	0.346

TP: total protein; SEM: standard error of mean.

Health function biomarkers in calf blood

Lastly, we examined the calves' blood to determine whether maternal supplementation influenced early physiological responses in the offspring. Although no statistically significant differences were observed for BHB and glucose levels between groups at any time point, a trend toward lower NEFA concentrations was evident in the calves born to supplemented dams, especially at day +7 postpartum (p = 0.008). Haptoglobin and OSI did not differ significantly between groups, although a trend toward higher oxidative stress was noted in the treatment group on day +7 (Table 7).

Table 7. Mean blood Health biomarkers levels of calves born to dams in control and treatment groups

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
d0 calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.44	1.44	0.06	0.05	0.161	0.297
Glucose (mg/dL)	115.76	48.67	105.45	41.66	7.345	0.532
NEFA (mmol/L)	0.71	0.51	0.43	0.40	0.076	0.079
d+7 post-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.04	0.07	0.05	0.05	0.010	0.777
Glucose (mg/dL)	142.75	135.96	205.61	279.01	38.164	0.403
NEFA (mmol/L)	0.79	0.52	0.38	0.25	0.073	0.008
Inflammation and Oxydative stress						
Haptoglobin (mg/L)	286.6	158.34	308.0	216.37	59.313	0.998
OSI (CARR U/µmol HClO/ml)	0.185	0.072	0.250	0.114	0.017	0.064
d+15 post-calving						
Energy Metabolism						
BHB (mmol/L)	0.03	0.04	0.04	0.05	0.008	0.816
Glucose (mg/dL)	166.33	192.66	182.37	195.73	34.33	0.819

BHB: β-hydroxybutyrate; NEFA: Non-esterified fatty acids; OSI: Oxidative stress index; SEM: standard error of mean.

At birth (day 0), IgG levels were comparable between groups (~15 g/L). By day +7, calves from the treatment group showed higher IgG concentrations (≈22 g/L) than controls (≈18 g/L). While IgM concentrations at birth were slightly higher in the treatment group (≈1.3 g/L) than in the control group (≈0.9 g/L), and at day +7, values converged (~0.9 g/L in both groups). For IgA concentrations, no significant difference was observed at birth (~0.6 g/L in both groups). At day +7, concentrations decreased in both groups, with slightly lower values in the treatment group (~0.25 g/L vs. 0.35 g/L in controls) (Figure 10).

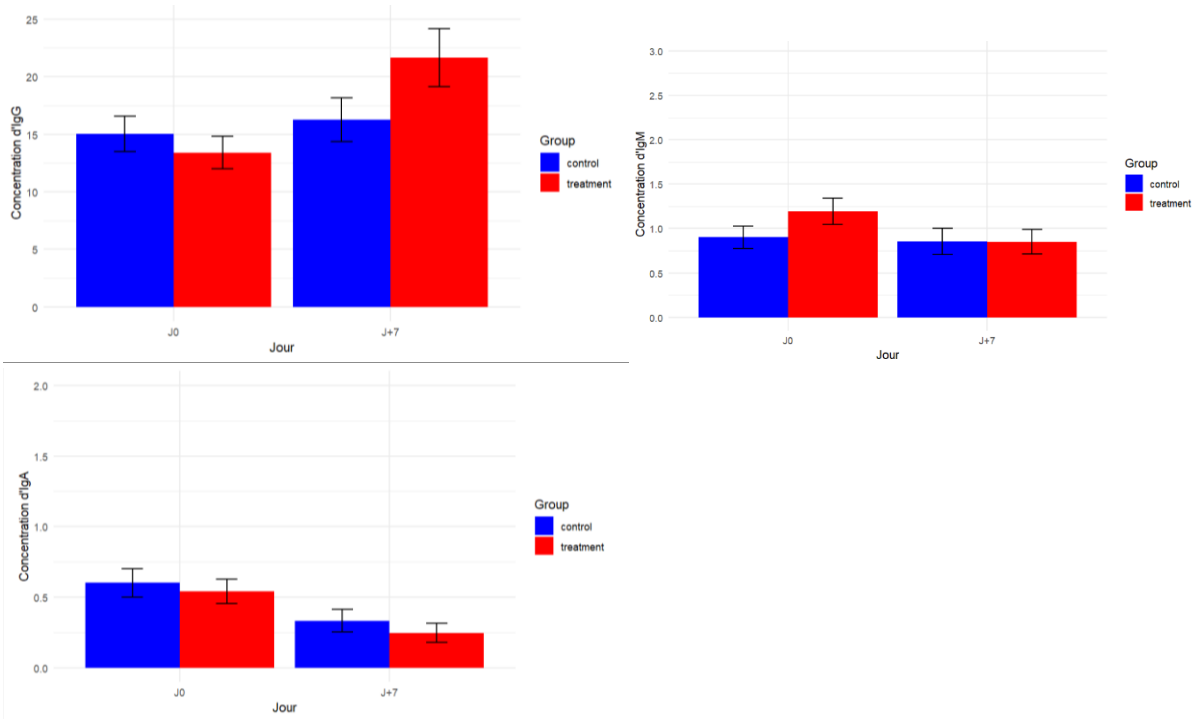


Figure 10. Concentrations of IgG, IgM, IgA respectively measured in calves' blood at birth (day 0) and 7 days of life (day +7)

4. Status Biomarkers

This section presents the status biomarkers measured in cows, colostrum and transition milk, and calves. These additional indicators provide context to assess the overall nutritional environment and the potential functional implications of maternal supplementation.

Nutritional status of the cow

We described the cow's micronutrient profile at key time points around calving. Regarding electrolyte balance, Mg levels were significantly higher in the treatment group at calving ($p = 0.006$) and day +7 ($p = 0.032$), while blood TP concentrations showed no significant differences but tended to be lower ($0.05 < p < 0.10$) in the treatment group during the postpartum period (Table 8).

Table 8. Mean blood status biomarkers levels of cows in control and treatment groups at each sampling time point

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
d-15 pre-calving						
Electrolytes and Minerals						
Mg (mmol/L)	0.49	0.20	0.49	0.17	0.031	0.989
Proteins						
TP (g/l)	12.64	2.33	12.26	1.53	0.322	0.275
d0 calving						
Electrolytes and Minerals						
Mg (mmol/L)	0.48	0.22	0.73	0.26	0.048	0.006
Proteins						
TP (g/L)	9.82	1.58	9.08	1.00	0.223	0.112
d+7 post-calving						
Electrolytes and Minerals						
Mg (mmol/L)	0.41	0.22	0.64	0.24	0.043	0.032
Proteins						
TP (g/L)	9.76	1.55	9.33	1.28	0.235	0.372

Mg: Magnesium; TP: Total protein; SEM: standard error of mean

Nutritional status of colostrum and transition milk

We then characterized the nutritional profile of colostrum and transition milk, focusing on vitamins, and other status indicators. In colostrum samples collected on the day of calving (d0), the mean calcium concentration was 38.47 mmol/L in the treatment group and 34.65 mmol/L in the control group, with no significant difference ($p = 0.226$). The concentrations of fat-soluble vitamins were comparable between groups, with mean vitamin E levels around 3.0 mg/L and vitamin A levels near 34 mg/L (Table 9).

In transition milk sampled at day +4, calcium levels were slightly higher in the treatment group (37.95 vs. 33.29 mmol/L; NS, $p = 0.161$). Vitamin E concentrations declined in both groups compared with colostrum (NS, $p = 0.958$), while vitamin A levels remained stable across groups and time points (NS).

Weekly milk production across the first three weeks post-partum did not differ significantly between groups, though a slight numerical reduction was observed in the treatment group during the first week (28.6 vs. 30.9 kg/day, $p = 0.079$).

Table 9. Mean status biomarkers levels of colostrum and transitional milk samples in control and treatment groups

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
Colostrum (d+0)						
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	34.65	9.99	38.47	8.43	1.546	0.226
Vitamins and antioxidants						
Vitamin E (mg/L)	2.90	1.37	3.02	1.82	0.296	0.851
Vitamin A (mg/L)	34.33	1.68	34.10	1.91	0.435	0.792
Transition Milk (d+4)						
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	33.29	8.80	37.95	10.72	1.667	0.161
Vitamins and antioxidants						
Vitamin E (mg/L)	1.77	0.95	2.64	2.74	0.391	0.958
Vitamin A (mg/L)	34.33	1.68	34.10	1.91	0.435	0.795
Average milk yield						
(kg/milk/cow/day)						
1st week	30.94	5.33	28.64	7.43	1.143	0.079
2nd week	42.39	6.40	41.59	6.17	1.113	0.724
3rd week	46.63	10.10	44.26	7.20	1.555	0.429

Ca: calcium; SEM: standard error of mean

Fat content was significantly ($p<0.05$) higher in colostrum and transitional milk for the Treatment group (56.57±2.03 and 43±1.63 g/Kg, respectively) than for the Control group (29.04±2.47 and 23.29±1.56 g/Kg, respectively) (Figure 10).

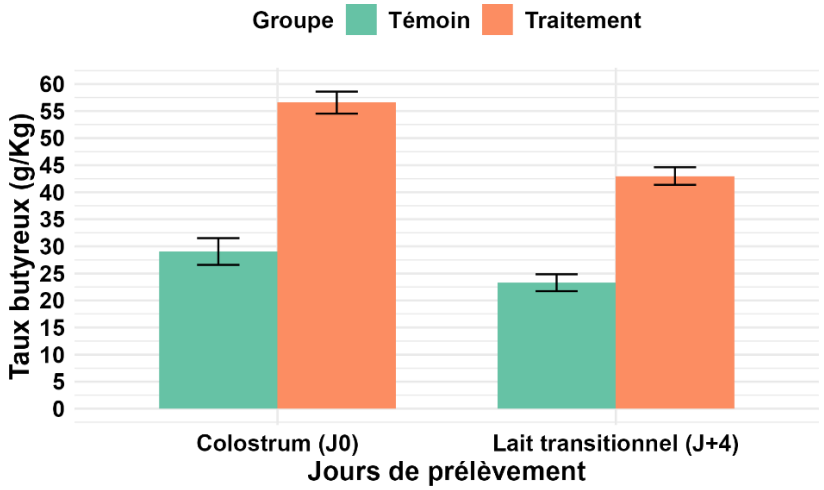


Figure 11. Fat content of colostrum (d0) and transition milk (d+4). p < 0.05.

Several acidic, neutral, and fucosylated bovine milk oligosaccharides (BMOs) were quantified in both colostrum (Day 0) and transition milk (Day +4) samples from cows in the control and treatment groups (Table 10). In colostrum, the most abundant acidic BMOs were 3'-sialyllactose (3'SL), 6'-sialyllactose (6'SL), and disialyllacto-N-tetraose (DSL), with mean concentrations of 654.1 ± 696.5 mg/L, 78.9 ± 57.7 mg/L, and 60.5 ± 56.6 mg/L, respectively, in

the control group. These concentrations were ower in the treatment group (e.g., 3'SL: 375.3 ± 256.7 mg/L), but the differences were not statistically significant.

Neutral core BMOs in colostrum such as N7 and N6 were also more abundant in the control group (e.g., N7: 285.8 ± 546.2 mg/L vs. 38.8 ± 12.2 mg/L in the treatment group), with no significant group differences. Fucosylated BMOs such as 3'FL were detected at moderate levels (e.g., 38.1 ± 20.2 mg/L in the control group), while 2'FL was detected only in the treatment group at very low concentrations (0.9 ± 2.0 mg/L).

In transition milk, the total BMO concentrations declined markedly in both groups compared to colostrum, particularly for acidic oligosaccharides (e.g., 3'SL: 159.9 ± 21.7 mg/L in control vs. 151.4 ± 47.6 mg/L in treatment; DSL: 9.7 ± 2.7 vs. 10.1 ± 4.1 mg/L). Meanwhile, neutral BMOs remained relatively stable or slightly increased for some molecules (e.g., N6: ~48 mg/L in both groups). LNnT was consistently low across all samples and time points. No significant group differences were found for any of the individual BMOs or their total categories.

Table 10. Oligosaccharides concentrations measured in colostrum (d0) and transition milk (d+4)

	Colostrum (n=10)			**Transition milk (n=10)**		
	Control	**Treatment**	**p-value**	**Control**	**Treatment**	**p-value**
Acidic (mg/L)						
3'SL	654.1 ± 696.5	375.3 ± 256.7	0.425	159.9 ± 21.7	151.4 ± 47.6	0.725
6'SL	78.9 ± 57.7	76.4 ± 48.1	0.532	9.6 ± 12.6	20.2 ± 13.3	0.924
6'SLN	78.8 ± 73.3	97.1 ± 61.2	0.956	47.6 ± 9	62.5 ± 15.3	0.216
DSL	60.5 ± 56.6	30.8 ± 21.7	0.305	9.7 ± 2.7	10.1 ± 4.1	0.856
3'GL	16.3 ± 17.3	10.3 ± 11.1	0.604	1.6 ± 1.5	1.7 ± 2.1	0.105
Neutral core (mg/L)						
N7	285.8 ± 546.2	38.8 ± 12.2	0.342	99.4 ± 140.3	59.3 ± 41	0.556
N6	102.6 ± 84.3	87.1 ± 44.8	0.725	48.2 ± 15.8	48.3 ± 14.7	0.991
GNL	28.7 ± 6.6	34.2 ± 24.1	0.636	25.1 ± 9.7	28.5 ± 17.3	0.707
N5	20.3 ± 13.5	23.9 ± 12.5	0.668	18.2 ± 3.4	19.5 ± 8.9	0.766
N9	39.4 ± 66	9.8 ± 4.8	0.345	13.3 ± 13.2	10.6 ± 6.1	0.686
LNnP I	3.8 ± 5.8	3.1 ± 4.4	0.843	NA	NA	NA
LNnT	2.9 ± 2.5	2.3 ± 2.2	0.707	0.3 ± 0.7	0.6 ± 1.3	0.681
Fucosylated (mg/L)						
2'FL	NA	0.9 ± 2	0.347	NA	NA	NA
3'FL / 3'FLN	38.1 ± 20.2	28 ± 6.1	0.315	18.8 ± 7.4	24.3 ± 8	0.294
Total (mg/L)						
Acidic	888.7 ± 901.4	590 ± 398.8	0.510	228.3 ± 47.5	246 ± 82.4	0.650
Neutral core	483.6 ± 724.8	199.2 ± 105.2	0.314	204.6 ± 183.1	166.9 ± 89.3	0.665
Fucosylated	38.1 ± 20.2	28.9 ± 8.2	0.363	18.8 ± 7.4	24.3 ± 8	0.294
Total BMOs	1410.4 ± 1646.4	818.1 ± 512.2	0.290	451.8 ± 238.1	437.1 ± 179.7	0.839

Nutritional status of the calf

Finally, we evaluated the calves' nutritional status at birth and during early life. Magnesium levels were significantly higher in the treatment group at both day 0 and day +7. Interestingly, blood TP was significantly lower in calves from the treatment group at birth (p = 0.03), although levels normalized by day +7 (Table 11).

Table 11. Mean blood status biomarkers levels of calves born to dams in control and treatment groups

Groups / Biomarkers	Control		Treatment		SEM	p-value
	Mean	SD	Mean	SD		
d0 calving						
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	2.50	0.37	2.57	0.21	0.048	0.848
Mg (mmol/L)	0.29	0.16	0.70	0.70	0.047	<0.05
Proteins						
TP (g/l)	10.29	0.98	9.54	1.08	0.177	0.03
d+7 post-calving						
Electrolytes and Minerals						
Ca (mmol/L)	2.68	0.30	2.54	0.38	0.059	0.355
Mg (mmol/L)	0.40	0.16	0.68	0.37	0.054	0.005
Proteins						
TP (g/l)	10.61	0.44	10.85	0.99	0.130	0.203

Ca: Calcium; Mg: Magnesium; TP: Total protein; SEM: standard error of mean.

DISCUSSION

This randomized controlled trial, conducted across three commercial dairy farms in the Grand-Ouest region of France, investigated the effects of omega-3 FA supplementation via extruded linseed during the dry period in dairy cows. The study enrolled 36 pregnant cows from June to December 2023. Our primary objective was to determine whether omega-3 FA from extruded linseed effectively accumulate in maternal tissues during late gestation and are subsequently transferred postpartum to the calf via colostrum and transitional milk, as well as to the dam herself to support her metabolic demands during this physiologically challenging period. The secondary objective was to assess the impact of this supplementation—through nutritional biomarkers—on energy metabolism in both the dam and the calf during the early postnatal phase, as well as on the biochemical composition and immunometabolism quality of colostrum and transition milk. To address these questions, we explored the full cascade of nutritional transfer from diet to dam, to mammary secretions, and ultimately to the calf. Our findings suggest a consistent, biologically plausible transfer of dietary omega-3 fatty acids, as observed across three interconnected levels, maternal serum: reflecting systemic incorporation and lipid remodeling in response to supplementation; colostrum and transition milk: revealing mammary gland secretion patterns and shifts toward a more immunomodulatory lipid composition; and neonatal serum: indicating early-life exposure and transfer of bioactive lipids. In the following sections, we present an integrated interpretation of these findings, organized according to the dam–milk–calf continuum.

1. Exposure biomarkers

Maternal serum adaptation to omega-3 supplementation

Feeding extruded linseed (rich in ALA) during the dry period led to a remodeling of the maternal serum FA profile. Treated cows showed significant enrichment of omega-3 FA, notably ALA (C18:3 n-3) and its long-chain derivatives DPA (C22:5 n-3) and docosahexaenoic acid (DHA; C22:6 n-3), compared to controls. This outcome confirms efficient absorption and bioconversion of dietary ALA into higher omega-3 metabolites. For example, a previous study with extruded flaxseed reported a >3-fold increase in the proportion of n-3 FAs in plasma and milk fat of supplemented cows, alongside a drop in the n-6/n-3 ratio from 8:1 to 2:1 (Zachut et al., 2010). In our case, by the time of calving, serum DHA in treated cows was elevated by 18%, and DPA by 24%, relative to control group. This suggest that a substantial amount of dietary ALA was elongated/desaturated into these physiologically important long-chain PUFA. The paradoxical finding that serum EPA (C20:5 n-3) was lower in treated cows at calving (around –31%) can be explained by enhanced metabolic flux: EPA likely underwent rapid β-oxidation in tissues or further conversion to DHA during the peripartum period, when demand for anti-inflammatory DHA is high (dos Santos Silva et al., 2024). This underscores the role of EPA as both a transient intermediate and functional end-product, depending on immediate physiological needs (Donovan et al., 2000).

Concomitant with omega-3 gains, treated cows exhibited notable declines in certain MUFA, particularly oleic acid (C18:1 n-9), which was 18% lower than in controls by early lactation. This inverse shift suggests that incorporating more PUFA into tissues and circulation may suppress endogenous MUFA synthesis or release – possibly via downregulation of stearoyl-CoA desaturase (Δ9-desaturase) activity (Glasser et al., 2008). In our study, the strong negative

correlation of MUFA with the omega-3 enriched profile (as seen on MFA Dim.1) supports the idea of competitive partitioning: when omega-3 intake is ample, less oleic acid might be needed or stored, perhaps due to altered enzyme regulation or preferential use of saturated precursors for PUFA elongation pathways (Czumaj and Śledziński, 2020).

Crucially, these maternal serum changes set the stage for downstream transfer. The rise in maternal circulating DHA (and lower n-6/n-3 ratio) implies that the mother's internal milieu became more anti-inflammatory prior to calving (Calder, 2013). Omega-3 fatty acids are known to modulate immune function by shifting eicosanoid production away from arachidonic acid-derived pro-inflammatory mediators toward more pro-resolving forms (Pereira et al., 2022). Indeed, higher DHA/AA ratios and lower n-6/n-3 ratios in the treated dams suggest an improved inflammatory balance that could benefit the cow's own recovery and also prime the calf's environment (dos Santos Silva et al., 2024). A more efficient lipid utilization was also hinted at: the treated cows tended to have lower total circulating FA concentrations (MFA Dim.1 was negatively associated with treatment), which might reflect greater uptake of lipids by active tissues or partitioning toward colostrum synthesis. Such patterns resonate with the hypothesis that peripartum PUFA enrichment can enhance metabolic efficiency and immune modulation in dairy cows (Liu et al., 2025). In summary, the maternal component of the nutritional cascade appears to confirm that omega-3 supplementation during the dry period successfully altered the dam's lipid profile in favor of health-promoting LCPUFA, thereby establishing the foundation for transfer to the calf.

Omega-3 incorporation into colostrum and transition milk

The second step of the transfer cascade is the movement of these dietary-derived lipids into the mammary secretions – colostrum and transition milk. Our results provide evidence of a progressive, biologically meaningful omega-3 enrichment in the early lactation secretions of treated cows. Notably, MFA of colostrum (Day 0) revealed that the most discriminating factor (Dim.3) was strongly associated with an omega-3 metabolite (stearidonic acid, C18:4 n-3) and inversely with n-6 PUFA like arachidonic acid (C20:4 n-6). This suggests that even in the very first milking, subtle shifts toward a more omega-3–dominant and less pro-inflammatory lipid profile were present. Consistent with this, colostrum from dams supplemented extruded linseed, showed reduced n-6/n-3 ratios and elevated DHA/AA ratios relative to control, which are hallmarks of an anti-inflammatory milieu (Santschi et al., 2009). According to the scarce literature on the subject, linseed supplementation tends to raise the omega-3 content of colostrum, although the magnitude can vary with dose and form of supplement (Petit, 2010). Interestingly, when examining direct percentage differences in FA profiling, the treated colostrum did not show large positive elevations of omega-3 FAs; in fact, several omega-3 levels (ALA, EPA, DPA, DHA) appeared slightly lower in T vs. C on Day 0. At first glance this seems contradictory to the MFA pattern. However, this discrepancy may likely reflect timing and dilution effects rather than a true lack of transfer. Colostrum is produced over the final weeks of gestation and is influenced by both the maternal diet and mobilization of body reserves. If treated cows had even modestly higher colostrum volume or different timing of let-down, the concentration of some FAs could appear diluted despite a greater total transfer. Moreover, the biochemical setup in colostrum – such as enzymes and binding proteins – might not yet fully express the dietary differences until regular milk synthesis starts (Silva et al., 2024). Indeed, by Day +4 (transition milk), larger differences emerged: treated cows' milk

showed significant increases in key omega-3 FAs (e.g. ALA +3.6%, DHA +22% vs. controls) along with higher total PUFA/SFA and MUFA/SFA ratios. The delayed but strong enrichment in transition milk suggested that incorporation of dietary omega-3s into milk fat may continue in the days after calving, once lactation is fully underway. This is in agreement with the kinetic observations of Santschi et al., (2009), who reported that the bulk of ALA transfer to milk occurs when flaxseed is fed *postpartum* rather than relying solely on prepartum adipose stores. The increase in gamma-linolenic acid (GLA, C18:3 n-6; +39%) in treated milk was also intriguing – GLA is an n-6 with known anti-inflammatory properties (as it can be converted to DGLA, which competes with AA for eicosanoid synthesis). This might reflect an overall upregulation of PUFA mobilization and secretion. Meanwhile, oleic acid in milk was lower in treated cows (–17.9% at Day 7), mirroring the serum trend and suggesting that Δ9-desaturase activity in the mammary gland might have been attenuated by the high-PUFA diet (Czumaj and Śledziński, 2020).

Together, these observations are consistent with a successful nutritional transfer to the cow's first secretions. The data indicate that maternal omega-3 supplementation not only enriches the dam's blood, but also *progressively* enriches the colostrum and early milk that the newborn will consume. The few-day lag in maximal response suggests a biological gearing-up: the mammary gland likely continues to integrate dietary FAs into milk fat as lactation intensifies. Practically, this means that calves born to supplemented dams may start receiving a more omega-3-enriched diet from the very first meal (colostrum), with that enrichment becoming more pronounced over the first week of life. This aligns with reports that when dams are fed flaxseed or fish oil, the neonate's first nutrition is measurably different in fatty acid composition (K. Uken et al., 2021). Such early exposure to PUFA-rich colostrum could have important implications for the calf's immune and metabolic development, as discussed next.

Effects on calf serum lipid profile

The ultimate goal of maternal omega-3 supplementation is realized if the offspring benefit from enhanced FA status – essentially, the third step of the transfer cascade. The observed modifications in calf serum lipids are consistent with omega-3 transfer from maternal diet to offspring circulation. By Day 7 of age, calves born to supplemented cows showed higher levels of DHA and DPA in their blood (+24% and +26% respectively in males), as well as a striking increase in EPA in females (+80%). In fact, according to the literature, altering the dam's FA supply can raise the calf's plasma omega-3 content. Feeding linseed oil to late-gestation cows increased ALA in calf plasma by Day 5, and that key metabolites (DHA, DPA, AA) were higher in calf plasma at birth if dams received extra EFA, indicating significant placental transfer (Cruz et al., 2025; K. Uken et al., 2021). Our data concur with these results. At birth (Day 0), the FA profile of treated calves was variable – some omega-3 levels were slightly lower in treated vs. control calves initially, especially in males (e.g. DHA was lower in treated male calves at Day 0). This could reflect individual differences in placental transfer efficiency or timing; the bovine placenta, being epitheliochorial, limits nutrient passage to an extent (Larqué et al., 2011). In our case, by one week of age – after ingestion of colostrum and transition milk for 7 days – the treated calves uniformly showed a surge in omega-3 status, effectively catching up and surpassing controls in key FAs.

An intriguing aspect of our calf results is the sex-specific response to the maternal diet. Male calves showed a consistent increase in DPA and DHA by Day 7, whereas female calves exhibited a large increase in EPA (and stearidonic acid, 18:4 n-3) but paradoxically a decline in DHA (–12%) and DPA (–26%) relative to control females. This divergence suggests that male and female neonates may metabolize or utilize FA differently under the same nutritional regime. One hypothesis is that female calves might be converting the incoming EPA to DHA at a different rate or partitioning DHA into tissues faster, leading to lower circulating DHA compared to males. In human studies, females are often found to convert ALA to DHA more efficiently than males, due to hormonal influences on desaturase enzymes (Decsi & Kennedy, 2011). In addition to physiological hypothesis, management-related factors may also contribute to these sex-specific patterns. Since female calves are typically retained in the herd as future replacement animals, farmers may prioritize their care more consistently (e.g., colostrum feeding, housing, health monitoring), which could influence their early metabolism, immune function, or growth trajectories.

Beyond individual FA, the broader lipid profile changes in calves hint at functional benefits. By the end of the first week, treated male calves had an ~18% higher total PUFA concentration and a 27% higher PUFA:SFA ratio in serum. This kind of shift is associated with greater membrane fluidity and a propensity for anti-inflammatory responses, which are crucial for the newborn's adaptation to the extra-uterine environment (Lessard et al., 2004).

Overall, the calf data suggest a successful maternal nutritional effect. By supplementing the dam's diet with omega-3, we effectively programmed the offspring to have higher circulating LCPUFA in the first week of life. These biochemical differences, albeit measured early, could have lasting impacts. Future work should be done to see if the initial lipid advantages translate into tangible health or performance benefits (e.g. lower incidence of neonatal diseases, lower mortality, improved vaccine responses, or growth). Nonetheless, even within the first week, the treated calves seem biochemically better prepared to handle inflammatory challenges – as indicated by their PUFA-enriched, anti-inflammatory-leaning lipid profiles.

2. Health function and status biomarkers

Effects of omega-3 FA on the health of periparturient cows

Beta-hydroxybutyrate (BHB) and glucose biomarkers, which are key indicators of energy metabolism, remained stable and comparable between groups throughout the study period. These findings suggest that omega-3 supplementation did not significantly affect ketone body formation or glycemic balance under the studied conditions. However, a reduction in NEFA concentrations was observed in the treatment group at calving, reflecting a potentially decreased reliance on fat mobilization. This aligns with findings in the literature suggesting that omega-3 FA may modulate lipid metabolism by enhancing insulin sensitivity and reducing lipolysis during metabolic stress (Badiei et al., 2014). Lower NEFA levels may reflect a protective effect against excessive fat mobilization, which is often associated with metabolic disorders such as ketosis and fatty liver syndrome (Hashemzadeh-Cigari et al., 2015; Zachut et al., 2010).

Inflammation and oxidative stress biomarkers, such as haptoglobin and OSI, did not differ significantly between groups. However, the high variability in haptoglobin, particularly during early lactation, is consistent with the known inflammatory challenges associated with parturition and the onset of lactation (Abuelo et al., 2016). Omega-3 FA are known to exert anti-inflammatory effects through several mechanisms, including modulation of eicosanoid biosynthesis (favoring less pro-inflammatory resolvins and protectins derived from EPA and DHA), inhibition of NF-κB signaling, and reduced production of cytokines such as IL-6 and TNF-α (Didara et al., 2015; Sordillo and Aitken, 2009). These effects are particularly relevant in the context of the postpartum inflammatory surge. The absence of significant differences in this study may reflect the limited sample size, individual variability, or the relatively short duration of prepartum supplementation.

Total protein and IgM levels did not differ between groups, though a slight decrease was noted in the treatment group postpartum. These findings may reflect physiological redistribution of plasma proteins into colostrum, a mechanism previously described in dairy cows (Mohammadi et al., 2015; Silva et al., 2024). IgM levels, important for innate immune defense, remained within physiological range, suggesting no adverse impact on humoral immunity.

Regarding the status biomarkers, calcium concentration remained stable in both groups, suggesting that the risk of clinical or subclinical hypocalcemia was not altered by the dietary supplementation. This was expected, as omega-3 FA are not directly involved in calcium homeostasis. Instead, calcium regulation in periparturient cows is more strongly influenced by dietary cation-anion difference (DCAD), magnesium status, and hormonal control involving parathyroid hormone and vitamin D (Leclerc and Block, 1989).

Effects of omega-3 FA on colostrum and transition milk biomarkers

Although colostrum TP and IgA concentrations were not different between groups, colostral IgM was higher in the supplemented group (1.33 vs. 0.46 g/L, p = 0.038), suggesting that omega-3 intake may enhance mucosal or innate immune priming at parturition. IgM plays a key role in neutralizing early pathogen exposure in neonates, and higher colostral levels could support better passive transfer and immune defense in the first hours postpartum, particularly relevant in preventing neonatal diarrhea and respiratory disease. A tendency toward higher IgG in treated cows (34.4 vs. 29.6 g/L) is consistent with previous findings that omega-3 supplementation can enhance colostral immunoglobulin richness or improve intestinal absorption in calves (Didara et al., 2015; Plata-Pérez et al., 2022). These effects may be mediated by changes in mammary gland lipid metabolism or intestinal mucosa integrity, both of which are influenced by PUFA availability and eicosanoid synthesis.

Notably, oxidative status was unchanged between groups, which may reflect the fact that supplementation was moderate and did not induce excessive oxidative stress. This is particularly important in the peripartum period, where oxidative stress is tightly linked to inflammatory and metabolic disorders such as retained placenta or ketosis (Badiei et al., 2014; Grossi et al., 2013).

Calcium and vitamin levels (A, E) were not significantly different, which might be due to tight homeostatic regulation or the absence of vitamin deficiencies in the herd; Although no significant effect was observed on vitamin A concentrations, it is worth noting that dietary FA

directly regulate vitamin A metabolism through effects on its absorption, transport, and hepatic storage. However, the consistently higher calcium levels in treated cows' colostrum and milk, could suggest a protective trend against peripartum hypocalcemia. Indeed, lower prevalence of subclinical hypocalcemia has been associated with improved PUFA profiles in some studies (Moallem, 2018). The most striking effect was observed on fat content, with significantly higher concentrations in both colostrum and transition milk from the supplemented cows ($p < 0.05$), suggesting enhanced mammary lipogenesis or lipid mobilization into milk. These results are in line with previous reports on linseed supplementation increasing milk fat yield and ALA transfer efficiency (Ariza et al., 2019; Gonthier et al., 2005; Leduc et al., 2017; Meignan, 2017).

In this study, several BMOs were quantified in colostrum and transition milk from cows supplemented or not with extruded linseed rich in omega-3 FA during the dry period. In addition to potential prebiotic activity, oligosaccharides may also act as soluble receptors for different pathogenic microorganisms, thus acting potentially as intestinal mucosa cell protectors. In this sense, they may constitute an additional defense mechanism for newborn, whose immune system is not yet mature (Boehm and Stahl, 2007; Gopal and Gill, 2000).

Although omega-3 FA supplementation significantly altered the lipid profile of mammary secretions, it did not lead to statistically significant changes in oligosaccharide composition between the two groups. The most abundant acidic BMOs in colostrum were 3'-sialyllactose (3'SL), 6'-sialyllactose (6'SL), and disialyllacto-N-tetraose (DSL), consistent with previous findings reporting a dominance of sialylated structures in early lactation due to their immunoprotective and anti-infective roles in neonatal calves (Fischer-Tlustos et al., 2020). The marked decrease in acidic BMOs between colostrum and transition milk, observed in both groups, aligns with the physiological trajectory of lactation, as colostrum transitions into mature milk with reduced concentrations of bioactive glycans (Albrecht et al., 2014; Gopal and Gill, 2000).

Although not statistically significant, lower mean concentrations of sialylated BMOs (3'SL and DSL) in the treatment group may suggest a limited influence of short-term lipid supplementation on glycan biosynthesis in the mammary gland. This was expected, as omega-3 FA are not directly involved in the metabolic pathways responsible for oligosaccharide synthesis. These findings support previous conclusions that oligosaccharide synthesis in bovine colostrum is more strongly governed by intrinsic regulatory mechanisms and maternal physiology than by short-term dietary modulation (Barile et al., 2009; Boehm and Stahl, 2007). Furthermore, the limited sample size may have limited statistical power to detect subtle changes.

Effects of omega-3 FA on calves' heath biomarkers

This study also aimed to assess whether maternal supplementation with extruded linseed during the dry period influenced neonatal metabolic and immunological responses. Blood biomarkers in calves were analyzed from birth to two weeks of life, covering the critical window of passive immunity transfer and early metabolic adaptation. Although no statistically significant differences were observed for BHB and glucose levels between groups at any time point, a trend toward lower NEFA concentrations was evident in the calves born to supplemented dams, especially at day +7 postpartum ($p = 0.008$). This suggests improved energy balance and potentially lower mobilization of adipose reserves. In neonatal calves, elevated NEFA levels are often indicative of inadequate energy intake, impaired colostrum absorption, or delayed metabolic adaptation (Uken et al., 2021).The lower NEFA concentrations observed here could reflect better nutritional status and more efficient adaptation to extrauterine life in the treatment group.

Interestingly, blood TP was significantly lower in calves from the treatment group at birth ($p = 0.03$), although levels normalized by day +7. This could reflect either a dilutional effect or slightly delayed colostral absorption kinetics but it was not the case in other studies (Jolazadeh et al., 2019). Moreover, haptoglobin and OSI did not differ significantly between groups, although a trend toward higher oxidative stress was noted in the treatment group on day +7 ($p = 0.064$). While the anti-inflammatory and antioxidant effects of omega-3 FA have been widely documented (Calder, 2013), their maternal supplementation may modulate oxidative processes in the calf in more complex ways. It remains unclear whether this shift represents a transient pro-oxidative adaptation or an early immune activation, as observed in other reports (Fabjanowska et al., 2023; Liermann et al., 2021; Opgenorth et al., 2020b). Alternatively, this lack of significance could also result from the relatively small sample size, limiting statistical power to detect subtle physiological changes. Furthermore, all calves were clinically healthy, which may have attenuated the observable effects of maternal nutrition on systemic inflammation or redox status.

Furthermore, in this present study, IgG concentrations in calf serum were comparable between groups at birth (≈15 g/L), but by day 7, calves born to cows supplemented with extruded linseed during the dry period exhibited higher IgG levels (≈22 g/L) compared to controls (≈18 g/L). This suggests a possible improvement in passive immunity acquisition linked to the maternal nutritional strategy. While IgM concentrations were slightly higher in the treatment group at birth (≈1.3 vs. 0.9 g/L), levels were similar between groups by day 7. IgA concentrations showed no significant group differences, although values tended to be lower in the treatment group by day 7. The elevated IgG levels observed at day 7 in treated calves may reflect more efficient transfer or better absorption of maternal colostral immunoglobulins, rather than endogenous synthesis, which is minimal in neonatal calves during the first days of life (Fischer-Tlustos et al., 2021; Opgenorth et al., 2020b; Plata-Pérez et al., 2022). However, several factors must be considered when interpreting these results. First, the heterogeneity in colostrum management among farms likely influenced immunoglobulin uptake. Farm 1 implemented early separation and bottle-feeding of harvested colostrum, while Farm 2 relied on natural suckling for up to 12 hours, and Farm 3 used controlled administration via drenching. These differences in timing, volume, and method of colostrum delivery are known to significantly affect passive immunity outcomes

(Fischer-Tlustos et al., 2021), and may represent important confounders in the observed IgG profiles.

From a clinical perspective, higher serum IgG at day 7 is relevant, as serum IgG concentrations below 10–12 g/L are associated with increased risk of morbidity and mortality from neonatal diseases such as diarrhea, pneumonia, and sepsis (Fischer-Tlustos et al., 2021). While all mean values in this study were above this threshold, the difference in IgG concentrations suggests that maternal linseed supplementation may enhance the robustness of passive immune protection, particularly valuable in suboptimal management settings.

3. Strengths and limitations

This randomized controlled trial conducted under real-life commercial conditions provides a valuable translational perspective on the nutritional modulation of maternal and neonatal serum profiles. To our knowledge, our study is among the first that lies in its comprehensive, integrative approach to tracing omega-3 FA transfer across the maternal–colostrum–calf continuum. Unlike previous trials focused on a single biological compartment, we evaluated three biological matrices—maternal serum, colostrum/transition milk, and neonatal serum—at multiple time points, providing a dynamic picture of perinatal nutritional flux. Our study was also designed with a nutritional biomarker perspective, incorporating functional lipid ratios (e.g., DHA/AA, PUFA/SFA, w6/w3), and health biomarkers (e.g., energy metabolism) that are increasingly recognized as predictive biomarkers of immune, metabolic, and inflammatory status in both human and veterinary contexts. This biomarker-based framework enhances the applicability of our results for future epidemiological or clinical studies. Importantly, this study also aimed to assess the feasibility of implementing a RCT under real-life commercial dairy farming conditions. This was achieved by implementing the trial in three independent commercial farms, thereby increasing the generalizability of the findings across varying management practices and genetic backgrounds. Although this introduced some heterogeneity, it also strengthened the external validity and practical relevance of the intervention for real-world dairy systems.

That said, some limitations must be acknowledged. While our findings support the biological plausibility of omega-3 FA transfer from maternal diet to cow, colostrum, and calf, certain expected effects were either modest or inconsistent, particularly in the colostrum lipid profile and early neonatal serum. Several methodological factors may help explain these observations. First, the dose of omega-3 FA provided via extruded linseed may have been relatively modest compared to other studies that reported stronger effects. Although our supplementation strategy adhered to commercial feeding practices to ensure applicability, other trials reporting significant changes in calf or milk lipid profiles often used higher doses or longer durations of omega-3 intake. For instance, Zachut et al. (2010) and Lessard et al. (2004) supplemented flaxseed at inclusion levels exceeding 10% of dry matter, or included additional marine sources like fish oil, which may yield more pronounced DHA and EPA enrichment. Second, biological samples (blood, colostrum, milk) were frozen at −80 °C immediately after collection. However, despite careful efforts, repeated freeze–thaw cycles were sometimes necessary during transport or lab processing. This may have contributed to molecular degradation or measurement variability, and could partly explain why some biological effects were not observed or reached only borderline significance. Third, statistical

power limitations may have constrained our ability to detect subtle but biologically relevant effects. The study was conducted in commercial conditions across three farms, introducing unavoidable variability in management practices, and environment. This heterogeneity, while representative of real-world settings, likely contributed to inter-individual variability and reduced effect sizes. A post-hoc power analysis or a larger, multi-cohort trial would be helpful in confirming these trends with greater statistical certainty. Lastly, discrepancies in colostrum management protocols between farms may have affected passive transfer efficiency and biomarker expression. For instance, in Farm 1, calves were separated from the dam within 2 hours after calving and received colostrum by bottle after robotic milking. In Farm 2, separation was delayed until 12 hours, and colostrum intake occurred via natural suckling. In Farm 3, calves were separated within 2 to 4 hours, and colostrum was administered via a drenching device. These differences in timing, administration method, and volume may have influenced the dynamics of nutrient absorption and transfer, and could have led to unequal exposure, particularly in the early hours of life when passive transfer is most efficient.

Taken together, these limitations highlight the need for standardized protocols, larger cohorts, and possibly higher supplementation doses in future trials. They also underscore the importance of integrating nutritional epidemiology principles—including biomarker variability, exposure duration, and host factors (e.g., sex)—into the design and interpretation of intervention studies.

CONCLUSION

This pilot study provides a preliminary evidence that demonstrates transfer of omega-3 fatty acids from maternal supplementation with extruded linseed during the dry period. This was confirmed by enrichment in omega-3 fatty acids (ALA, DPA, DHA) across biological matrices, particularly in maternal serum at calving and in transition milk at Day 4. In contrast, the effects on health function biomarkers were more modest. A tendency for lower NEFA concentrations in the treated cows at calving may reflect improved energy balance or reduced lipid mobilization during this physiologically demanding phase. In calves, metabolic biomarkers were largely unaffected, but a higher serum. In neonatal calves, a lower NEFA concentration at both birth and day 7 in the treatment group was observed, suggesting a more favorable energy status during the first week of life. This observation, combined with higher IgG levels at day 7, may reflect an enhanced passive immune acquisition, although the mechanistic link to omega-3 intake remains indirect and should be interpreted cautiously. While our findings suggest potential dietary omega-3 FA transfer across biological compartments, meaningful characterization of these nutritional pathways requires larger-scale studies to: (1) quantify the efficiency of omega-3 transfer across compartments, (2) discriminate between placental and colostral origins of specific fatty acids, and (3) identify the biological mediators and management factors influencing these processes.

Beyond biomarker and nutritional transfer validation: a field-based methodological contribution

In addition to its biological findings, this study provided a unique opportunity to assess the feasibility of implementing a complex, biomarker-based intervention trial in real-life dairy farm settings. By measuring both exposure (fatty acid profiles) and function/status biomarkers (e.g., NEFA, IgG, oxidative and inflammatory), we were able to trace the biological pathway of omega-3 FA transfer from diet to dam, colostrum, and calf — validating the relevance of a nutritional epidemiology approach in animal health.

This study confirms successful omega-3 exposure in both dairy cows supplemented with extruded linseed during the dry period and their offspring. Establishing this exposure baseline is critical for the design of future larger-scale, cluster-randomized trials, as it ensures that dietary attribution is traceable without requiring extensive biological sampling and analysis in every instance.

The biomarker panel included both well-established indicators (e.g., fatty acid composition, NEFA) and more exploratory parameters (e.g., immunoglobulins, oligosaccharides), acknowledging that not all are mechanistically linked to omega-3 intake. This choice was deliberate: it reflected the dual objective of the study — to evaluate known pathways of nutritional transfer, and to explore less-characterized biomarkers that may inform future research on maternal and neonatal health.

Crucially, this trial also served as a methodological and logistical testbed. The study revealed major challenges related to farms recruitment, variable farmer adherence, and sampling logistics etc. Yet despite these difficulties, the study demonstrated the operational feasibility of such trials in commercial conditions, and provided key lessons for refining future protocols. These field insights are further explored in details in chapter 4.

Appendix

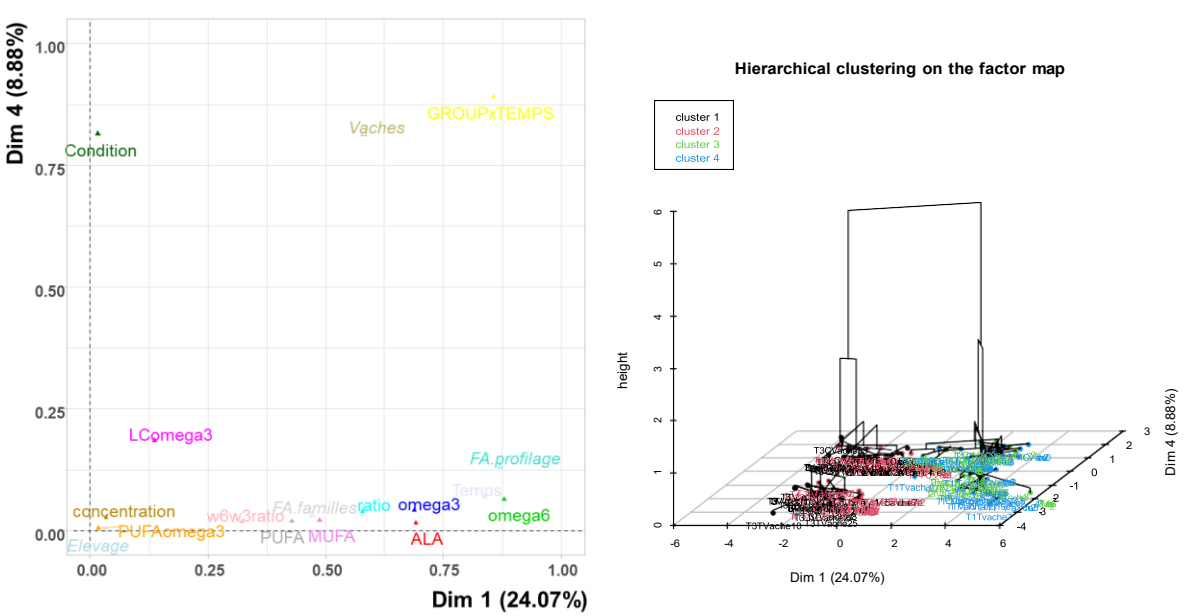


Figure 1A. Multiple factor analysis (MFA) of serum lipid profiles of dairy cows (n=36) across four timepoints and groups (control vs. treatment). (**a**) **Category map** representing the qualitative variables on Dim 1 and 4. Active qualitative variables included *Time*, *Group×Time* (T1C, T2T, etc.), and *Condition* (Control vs Treatment). The *Group×Time* variable explained most of the variance on Dimension 4 (R^2 = 0.89, p < 2.9e-48), indicating that the supplementation influenced the lipid profile structure over time. Cows in the T2T, T3T, and T4T groups contributed significantly to Dimension 4, showing a carry-over effect of linseed intake even after calving). (**b**) **Hierarchical clustering** of individuals based on MFA results, showing four clusters. Most treated cows grouped according to timepoints post-supplementation (T2–T4), while control cows remained dispersed with no temporal distinction, further illustrating the structuring effect of the omega-3 FA supplementation on the serum lipid profile. FA profiles: all individual FA identified in serum. FA Families: Short SFA + Medium SFA + Total SFA + MUFA + omega-6 PUFA + omega-3 PUFA; ALA: Alpha-linolenic acid (C18:3 n-3); Omega-6: LA (18:2n-6) + 18:3n-6 + C20:2n-6 + C20:3n-6 + AA (C20:4n-6); Omega-3: ALA + 18:4n-3; LC omega-3: DPA + DHA; PUFA: Polyunsaturated FA; MUFA: Monounsaturated FA; w6-w3 ratio; concentration: total FA concentration (µg/mL); ratio: LA/AA + DHA/AA + ALA/LA.

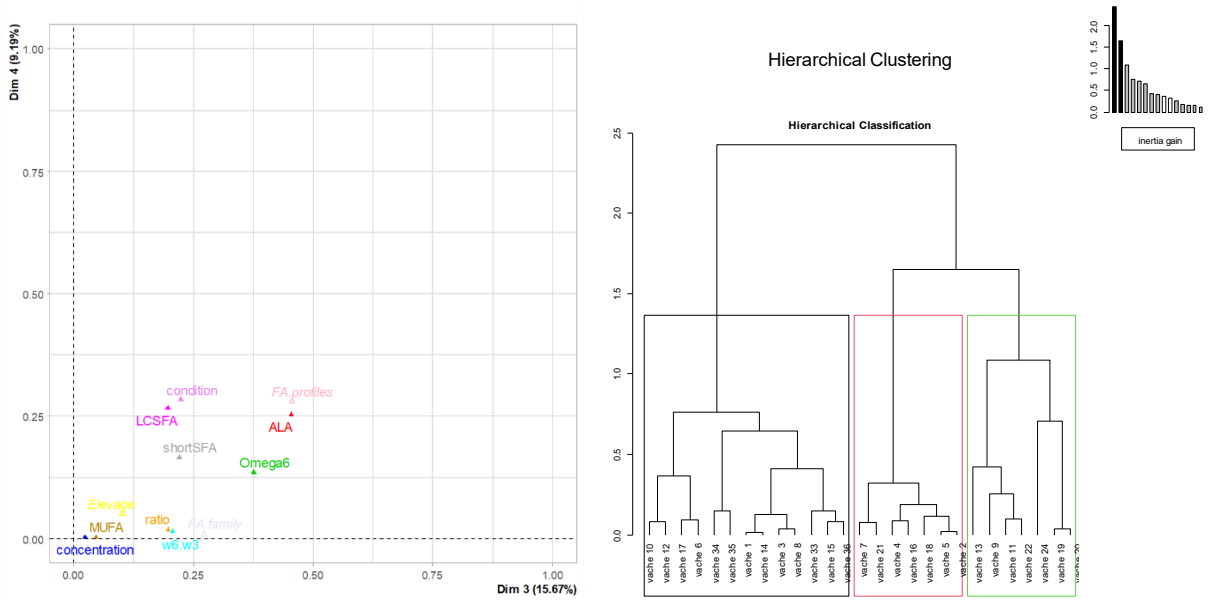


Figure 2A. Multiple Factor Analysis (MFA) of colostrum lipid profiles of dairy cows (n = 27) across groups (control vs. treatment). (**a**) **Category map** representing the projection of the qualitative variable "Group" on Dim.3 and Dim.4. Treatment group (T) is associated with positive Dim.3 and negative Dim.4 values, while control group (C) is associated with the opposite pattern. (**b**) **Hierarchical clustering** separated individual into three groups. One cluster (black) included cows from the control group with elevated omega-6 content. Another cluster (red) included cows from the treatment group with high levels of omega-3 FA. And one cluster mixed.

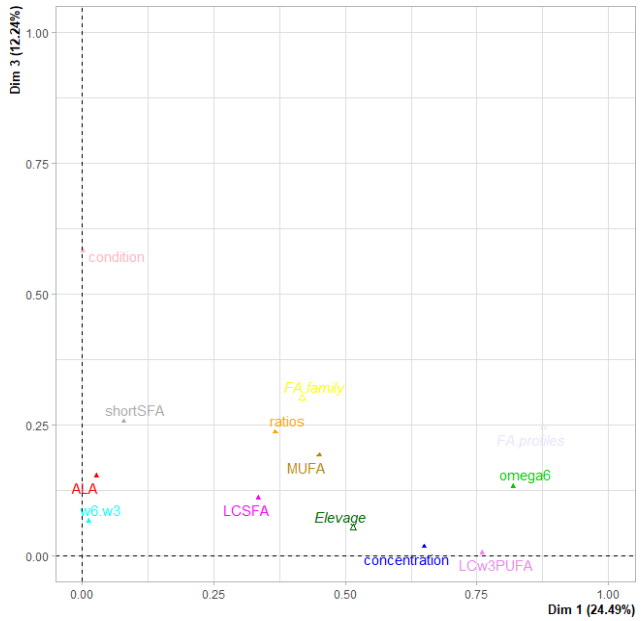


Figure 3A. Multiple Factor Analysis (MFA) of transition milk lipid profiles of dairy cows (n = 32) across groups (control vs. treatment). **Category map,** representing the projection of qualitative variables on Dimensions 1 and 3. The variable Group (control vs. treatment) was significantly associated with Dimension 3 ($R^2 = 0.58$, $p < 3.6e{-}7$), confirming the distinct impact of omega-3 FA supplementation. The Farm effect dominated Dimension 1 ($R^2 = 0.52$, $p < 2.8e{-}5$), highlighting environmental influences on FA profiles, independent of treatment.

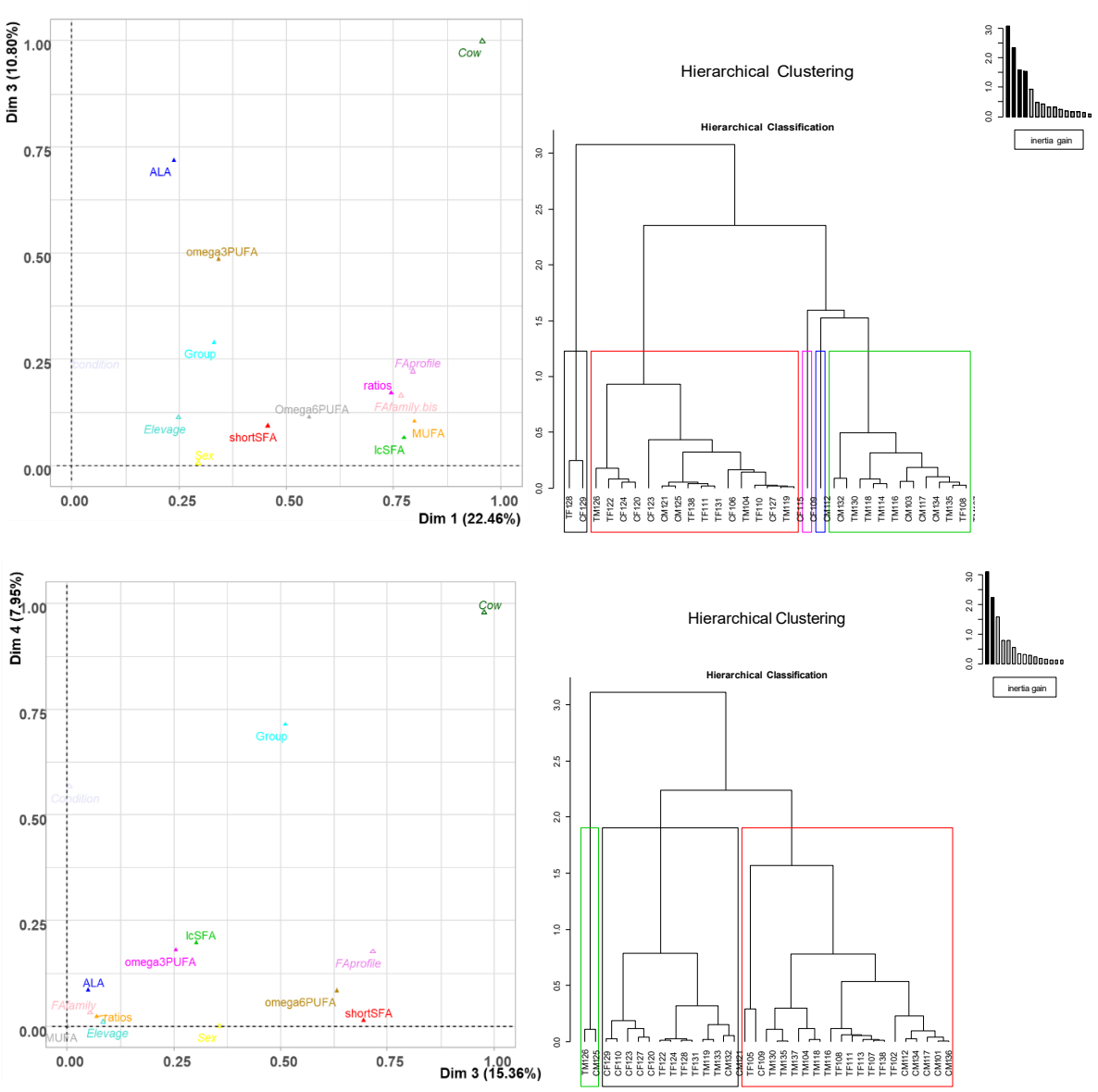


Figure 4A. MFA of serum lipid profiles of calves (n = 32) across groups (control vs. treatment) at birth (first two figures) and 7 days of life (second two figures). (**a**) **Category map** representing the qualitative variables on dimensions. *Variables such as* Group, and sex *showed varying levels of contribution to these axes. The positioning of variables like* ALA, *and* omega3PUFA *along Dim.3 suggests associations between specific FA groups and individual-level characteristics.* ***(b)*** *Hierarchical clustering on principal components (HCPC) of the MFA output identified distinct clusters of calves (n = 32) based on their serum FA profiles. Main clusters emerged, separating treated vs. control individuals and suggesting that dietary supplementation during the dry period structured lipid metabolism in calves postnatally. Calves from the same experimental group and timepoint tended to cluster together, further supporting a shared nutritional imprint.*

Chapitre IV. Conception et mise en œuvre d'un protocole d'une étude épidémiologique interventionnelle à grande échelle

Dans le chapitre 3, nous avons conclu que l'élaboration et la conduite d'une étude épidémiologique interventionnelle en élevages commerciaux impliquent nécessairement un écart entre le protocole théorique, tel qu'il est réfléchi scientifiquement, et les conditions concrètes de sa mise en œuvre sur le terrain. Cet écart est marqué dans le cadre d'une discipline émergente comme l'épidémiologie nutritionnelle appliquée à la santé animale, encore peu balisée méthodologiquement.

Ce chapitre propose une analyse critique de cette tension entre théorie et réalité, à travers l'expérience précédente (cf. chapitre 3) et propose de décrire la conception d'un nouveau protocole d'une étude épidémiologique à grande échelle mis en place dans le cadre de ce travail de thèse. Notre étude pilote a permis, d'un point de vue pratique, de tester la faisabilité d'un dispositif épidémiologique en conditions réelles. D'un point de vue méthodologique, le protocole initial, en collaboration avec Valorex, visait l'objectif de confirmer le transfert nutritionnel des AG n-3 de la mère vers le veau via le colostrum et le lait transitionnel autour du vêlage. Il s'agissait d'un essai randomisé contrôlé ambitieux en conditions réelles, avec un suivi intensif. Ce protocole, bien que partiellement respecté, a permis de confirmer le transfert nutritionnel et a mis en évidence les nombreuses contraintes logistiques et humaines de l'expérimentation en élevage commercial.

Dans ce chapitre, nous allons nous s'intéresser au design et protocole du dispositif épidémiologique de large envergure conçu à partir des leçons tirées de l'étude pilote. Pour assurer le recrutement et l'implémentation de ce dispositif nous avons établi une collaboration avec Innoval, groupe coopératif de conseil en élevage qui accompagne plus de 30 000 éleveurs français auprès des éleveurs de 28 départements. En résume, ce protocole s'appuyait sur une méthodologie allégée en comparaison à l'étude pilote, centrée principalement sur les biomarqueurs du colostrum et la collecte de données existantes, dans une visée d'extension de la validité externe et d'amélioration de la faisabilité.

Afin de rendre compte de cette évolution méthodologique, et de structurer notre réflexion, ce chapitre s'appuie sur des lignes directives REFLECT (Reporting Guidelines for Randomized Controlled Trials in Livestock and Food Safety) (Sargeant et al., 2010). Le REFLECT est une extension du standard CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) utilisé en médecine humaine. Il a été développé en réponse aux biais fréquents observés dans les publications en d'essais cliniques chez les animaux d'élevage, et vise à améliorer la qualité, la transparence et l'interprétation des résultats. Le REFLECT comprend 22 items, chacun correspond à un élément clé du protocole d'une étude contrôlé randomisée (RCT). Dans ce chapitre, 9 items ont été mobilisés (Tableau 1). Ensuite, pour chaque item, nous illustrons son application concrète en nous appuyant sur notre expérience lors de l'étude pilote, puis nous proposons la méthodologie améliorée à mettre en œuvre dans le cadre d'une étude à grande échelle.

Table 1. Checklist of Items for the REFLECT statement: reporting guidelines for randomized control trials in livestock and food safety

Paper section and topic	Item	Descriptor of REFLECT statement item
Title & Abstract	1	How study units were allocated to interventions (e.g. 'random allocation', 'randomized' or 'randomly assigned'). **Clearly state whether the outcome was the result of natural exposure or was the result of a deliberate agent challenge**
Introduction Background	2	Scientific background and explanation of rationale
Methods Participants	3	Eligibility criteria **for owner/managers and study units at each level of the organizational structure,** and the settings and locations where the data were collected
Interventions	4	Precise details of the interventions intended for each group, **the level at which the intervention was allocated** and how and when interventions were actually administered
	4b	**Precise details of the agent and the challenge model, if a challenge study design was used**
Objectives	5	Specific objectives and hypotheses. **Clearly state primary and secondary objectives (if applicable)**
Outcomes	6	Clearly defined primary and secondary outcome measures and the levels at which they were measured and, when applicable, any methods used to enhance the quality of measurements (e.g. multiple observations and training of assessors)
Sample size	7	How sample size was determined and, when applicable, explanation of any interim analyses and stopping rules. **Sample size considerations should include sample size determinations at each level of the organizational structure and the assumptions used to account for any non-independence among groups or individuals within a group**
Randomization – Sequence generation	8	Method used to generate the random allocation sequence **at the relevant level of the organizational structure**, including details of any restrictions (e.g. blocking and stratification)
Randomization – Allocation concealment	9	Method used to implement the random allocation sequence **at the relevant level of the organizational structure**, (e.g. numbered containers ~~or central telephone~~), clarifying whether the sequence was concealed until interventions were assigned
Randomization – Implementation	10	Who generated the allocation sequence, who enrolled **study units** and who assigned **study units** to their groups **at the relevant level of the organizational structure**
Blinding (masking)	11	Whether or not ~~participants~~ those administering the interventions, **caregivers** and those assessing the outcomes were blinded to group assignment. If carried out, how the success of blinding was evaluated. **Provide justification for not using blinding if it was not used**
Statistical methods	12	Statistical methods used to compare groups for all outcome(s). Clearly state the level of statistical analysis **and methods used to account for the organizational structure, where applicable;** methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses
Results		
Study flow	13	Flow **of study units** through each stage **for each level of the organization structure of the study** (a diagram is strongly recommended). Specifically, for each group, report the numbers of **study units** randomly assigned, receiving intended treatment, completing the study protocol and analysed for the primary outcome. Describe protocol deviations from study as planned, together with reasons
Recruitment	14	Dates defining the periods of recruitment and follow-up.

Enfin, un tableau comparatif synthétise les différences majeures entre les deux démarches, en identifiant clairement les points maintenus, modifiés ou abandonnés, tout en intégrant une réflexion sur la plausibilité, les biais et la transférabilité de ce type de protocole. Ce chapitre vise ainsi à fournir un retour d'expérience rigoureux et réflexif, à la fois scientifique et personnel, afin d'éclairer la conception de futures études d'intervention en conditions d'élevage. Il propose une grille de lecture épidémiologique permettant de mieux anticiper les enjeux de faisabilité, de rigueur méthodologique et de transposition des résultats, en soulignant les spécificités d'une étude pilote expérimentale (portée limitée, test de faisabilité, contrôle des variables) par rapport à une étude épidémiologique à grande échelle,

destinée à évaluer les effets nutritionnels en population et à produire des données généralisables dans le contexte encore émergent de la santé périnatale vache-veau en lien avec l'alimentation.

Item 1. Objectifs

Les objectifs doivent être cohérents avec les enjeux décrits en introduction et mener logiquement aux critères de jugement choisis. En épidémiologie nutritionnelle, l'objectif principal peut être, par exemple, de mesurer l'effet d'une supplémentation sur un indicateur de santé précis, tandis que des objectifs secondaires pourraient concerner des mécanismes intermédiaires (biomarqueurs) ou des effets sur d'autres paramètres (performances de reproduction, etc.). Une hypothèse est souvent formulée pour chaque objectif, exprimant l'attente de l'investigateur.

Ex. Pour l'étude pilote, les objectifs affichés reflétaient son caractère exploratoire et méthodologique. L'objectif principal pouvait se résumer à « étudier le transfert nutritionnel », c'est-à-dire vérifier si les AG-3 apportés dans l'alimentation de la vache tarie se retrouvent bien dans l'organisme de la vache et du veau nouveau-né (notamment via le colostrum et le lait). En parallèle, l'étude visait à évaluer la faisabilité de la mise en œuvre d'un tel protocole en élevage commercial et la pertinence de divers biomarqueurs pour mesurer l'effet. Plus concrètement, trois questions principales se sont posées dans l'étude pilote (correspondant à des sous-objectifs) : (1) voir si les AG n-3 de la ration s'accumulent chez la vache en fin de gestation, (2) voir si ces AG n-3 sont « restitués » après le vêlage – c'est-à-dire transférés au veau via le colostrum et mobilisés par la vache elle-même en début de lactation, et (3) évaluer, à l'aide de biomarqueurs nutritionnels, l'impact de la supplémentation en AG n-3 sur le métabolisme énergétique des vaches laitières et de leurs veaux au cours du début de leur vie, ainsi que sur la composition et la qualité du colostrum et du lait transitionnel. L'étude pilote ne cherchait pas à tester une hypothèse d'effet clinique ("réduire la mortalité des veaux"), mais plutôt à prouver des concepts : efficacité du transfert d'AG n-3, et utilité de mesures biologiques pour de futures études. Cependant, cet énoncé restait large et ambitieux pour un petit échantillon. En réalité, compte tenu du faible effectif réalisé et des multiples imprévus logistiques (difficultés de recrutements, etc.), l'objectif de l'étude pilote s'est recentré plus sur une approche exploratoire.

Etude épidémiologique à grande échelle

Pour cette étude, l'objectif principal était orienté vers des résultats appliqués : évaluer l'effet de la supplémentation en acides gras n-3 pendant la période de tarissement sur la santé du couple veau–vache et sur la qualité du colostrum. Concrètement, deux volets étaient envisagés : (1) mesurer l'impact sur la santé des vaches autour du vêlage (incidence des maladies post-partum, performances de reproduction) et (2) mesurer l'impact sur la santé des veaux (qualité nutritionnelle et immunologique du colostrum absorbé, morbidité et mortalité néonatales).

Un objectif secondaire consistait à estimer la fraction attribuable aux AG n-3 dans l'amélioration de la santé, c'est-à-dire à quantifier la part de risque évitable grâce à la supplémentation, en tenant compte des autres facteurs de risque (parité, conditions d'élevage, statut métabolique, etc.). Cette approche relevait d'une étude épidémiologique à grande échelle, nécessitant un effectif important et une modélisation multifactorielle.

En revanche, l'étude pilote présentée ici ne visait pas cet objectif épidémiologique. Elle a été conçue pour tester la faisabilité pratique et logistique d'une telle approche sur le terrain, sur un échantillon restreint de fermes. Aucun dispositif en clusters alternés n'a été mis en œuvre à ce stade, et les résultats ne permettent pas de tirer de conclusions sur les effets de la supplémentation à l'échelle populationnelle.

En résumé, l'étude pilote a permis de valider la méthodologie expérimentale (recrutement, suivi des animaux, prélèvements, gestion des données) et d'identifier les ajustements nécessaires avant la mise en place d'une étude épidémiologique de plus grande ampleur.

Item 2. Participants, critères d'éligibilité

En épidémiologie humaine et vétérinaire, il est crucial de préciser la population étudiée : cela inclut les caractéristiques des élevages recrutés (espèce, type de production, localisation géographique, conditions d'élevage) et des animaux inclus (race, âge, stade de production, etc.), afin que le lecteur puisse évaluer à quels systèmes les résultats sont applicables. Une bonne description des participants doit détailler les critères d'inclusion et de non-inclusion pour sélectionner l'échantillon. Ces informations permettent d'apprécier d'éventuels biais de sélection et de juger de la validité externe des résultats (généralisation à d'autres populations).

Ex : Dans l'étude pilote, les participants se situaient à deux niveaux : les exploitations laitières d'une part, et les vaches gestantes au sein de ces élevages d'autre part. Les critères de sélection des élevages visaient des fermes laitières commerciales du Grand Ouest clientes de Valorex, ayant des pratiques compatibles avec le protocole. Concrètement, il fallait des élevages disposant d'infrastructures permettant de séparer physiquement deux lots de vaches (afin de les alimenter différemment) et n'ayant pas déjà l'habitude de supplémenter en lin extrudé en fin de gestation, afin d'éviter un biais d'antériorité : la présence préalable d'oméga-3 dans la ration aurait pu masquer ou atténuer les effets attendus du traitement expérimental. Les élevages adhérents au contrôle laitier ou équipés de robots de traite

étaient privilégiés pour faciliter la collecte des données de production laitière. Au niveau animal, les participantes cibles étaient des vaches laitières de race Holstein, gestantes, dont le vêlage était prévu entre mai et octobre 2023, et ayant une durée de tarissement conforme au protocole.

d'au moins 8 semaines. Les génisses (primipares après vêlage) étaient exclues, de même que les vaches dont le tarissement serait inférieur à 8 semaines.

Etude épidémiologique à grande échelle

Les critères d'éligibilité de cette étude étaient des élevages excluaient les systèmes atypiques : par exemple, les élevages devaient avoir des vêlages étalés (pas de troupeaux en vêlages groupés saisonniers). Il fallait également que les élevages soient suivis par le contrôle laitier (pour disposer de données sur la production et les mammites etc.). Ce sont des contraintes proches de celles de l'étude pilote, élargies à plus de fermes. Au niveau animal, toutes les vaches gestantes entrant en tarissement pendant les périodes d'étude étaient concernées, sans distinction de race dans le protocole (mais en pratique 75% des vaches laitières en Bretagne sont des Prim'Holstein, donc l'échantillon réel est resté très majoritairement Holstein). Les génisses n'étaient pas explicitement exclues dans le protocole, ce qui élargissait la population cible.

Item 3. Taille de l'échantillon

Comment le nombre de sujets à inclure a-t-il été déterminé, y compris, le cas échéant, les calculs de puissance effectués et les hypothèses retenues. Dans un essai randomisé, il est important de justifier que la taille de l'échantillon est suffisamment pour détecter une différence cliniquement pertinente avec une puissance statistique adéquate (1-β ; généralement fixée à 80%) et un niveau de confiance approprié (α, souvent fixé à 5%). Pour les essais en grappes (clusters), il faut intégrer le degré de corrélation intra-groupe (coefficient de corrélation intra-classe, ICC) dans le calcul, car les observations au sein d'un même troupeau ne sont pas indépendantes. De plus, s'il y a des analyses intermédiaires ou des critères multiples, cela doit être pris en compte (ce qui n'était pas le cas ici). Un échantillon trop petit risque de conduire à une puissance insuffisante et à une incapacité de conclure (risque de faux négatif), tandis qu'un échantillon surdimensionné peut gaspiller des ressources ou exposer inutilement des animaux. Dans le cadre d'une thèse et d'études de terrain, des contraintes pratiques (coût, temps, disponibilité des élevages) influencent fortement la taille atteignable, d'où la nécessité de trouver un compromis entre l'idéal statistique et le réalisme logistique, cela conduit alors à calculer la puissance a postériori.

Ex. Pour l'étude pilote, la taille d'échantillon était déterminée par des considérations pratiques et méthodologiques. Le protocole initial visait 5 fermes avec 30 vaches chacune, soit n = 150 vaches gestantes au total (75 supplémentées et 75 témoins). Ce choix reposait sur deux éléments : (1) les recommandations générales pour les études pilotes en nutrition, où un effectif d'environ 10–15 sujets par groupe est souvent jugé suffisant pour évaluer la faisabilité et donner une première idée des variations (ainsi, 15 vaches par groupe, donc 30 par ferme) (Lancaster et al., 2004), et (2) le principe d'avoir plusieurs niveaux de cluster – en l'occurrence 5 élevages – afin de couvrir une certaine variabilité entre exploitations et d'obtenir des indications sur la faisabilité dans différents contextes (Binkin et al., 1992). En réalité, la taille d'échantillon obtenue a été beaucoup plus faible : seulement 4 élevages recrutés (donc 1 a désisté), et 26 vaches incluses au total. Cette taille finale (55 animaux) confère à l'étude pilote une portée statistique très limitée.

Etude épidémiologique à grande échelle

L'étude à grande échelle a fait l'objet d'un calcul d'effectif détaillé, visant à assurer une puissance statistique élevée pour le critère principal envisagé. Sur la base des données disponibles, il a été estimé qu'en moyenne ~8% des veaux meurent en période néonatale en élevage laitier (selon Reproscope, www.reproscope.fr). On a souhaité pouvoir détecter une réduction absolue de 2% de ce taux de mortalité grâce à la supplémentation AG n-3 – par exemple passer de 8% de mortalité à 6%. Une telle baisse, bien que modeste en valeur absolue, représenterait 25% de mortalité en moins, ce qui est cliniquement significatif. Pour atteindre une puissance de 80% (et un risque α de 5%) à détecter cette différence, en tenant compte de la structure en clusters, le protocole a estimé qu'il faudrait environ 2 280 veaux répartis dans 38 à 40 fermes (clusters). Ce calcul incluait un coefficient de corrélation intra-troupeau (ICC) d'environ 0,02. On supposait aussi ~60 vêlages par ferme sur la durée de l'essai (ce qui correspond à des élevages de taille moyenne à grande, ayant ~120 VL, selon Innoval). Ainsi, le plan était d'inclure 40 élevages pour atteindre ce nombre total de veaux, chaque élevage contribuant deux périodes (Tradilin et témoin). Notons que cet effectif couvrait largement les autres critères secondaires : par exemple, avec plus de 2000 vaches, on aurait eu une bonne puissance pour détecter des différences de mammites, etc. En somme, l'échantillon prévu était ambitieux mais justifié par la multiplicité des critères d'intérêt et la variabilité attendue. Seulement 3 élevages ont été recrutés. Face à cela, la décision a été prise d'interrompre l'étude avant son terme, car même en prolongeant la durée il aurait été impossible d'atteindre l'effectif nécessaire sans davantage de fermes. La planification de 40 élevages était optimiste en supposant une forte adhésion, or la motivation des éleveurs a été surestimées.

Item 4. Recrutements

Cet item en reporting doit préciser les dates et périodes de recrutement et de suivi des participants. Cela permet de situer l'étude dans le temps (période calendaire, saison) et de signaler si le recrutement a été réalisé sur une période courte ou étalée. C'est important car des variations temporelles (tendances annuelles, effets saisonniers) peuvent influencer les résultats et leur interprétation. De plus, indiquer les dates de suivi renseigne sur la durée de l'essai, la fidélité au protocole de temps prévu et la présence éventuelle de censure (par exemple arrêt avant terme). Enfin, spécifier les modes de recrutement (annonces, réseau professionnel, etc.) et le taux d'éligibilité peut être utile pour évaluer le biais de sélection. Dans nos études, le recrutement se fait au niveau des fermes (qui doivent être convaincues de participer) et ensuite des animaux (vaches gestantes) au sein de ces fermes.

Ex. Pour l'étude pilote, le recrutement des fermes participantes s'est vraisemblablement déroulé en tout début d'année 2023. L'objectif était d'identifier 5 exploitations répondant aux critères et prêtes à collaborer sur la période de mai à octobre 2023 (période de vêlage ciblée). Le contact des fermes s'est fait via le partenaire Valorex (qui a proposé l'étude à certains de ses clients intéressés). Au final seulement 3 fermes ont été retenues. La phase de recrutement a débuté plus que 3 mois avant le début de l'étude et vu le retard de trouver des élevages qui correspondent aux critères d'inclusion, des adaptations ont été faites et la durée de vêlage a été étalée jusqu'à Décembre 2023. Ensuite, le recrutement des fermes était clos et les vaches

éligibles dans ces élevages identifiées. Le recrutement des animaux a eu lieu de manière continue dans chaque ferme : dès qu'une vache entrait en tarissement (8 semaines avant son vêlage prévu) entre mai et décembre, elle était assignée à un groupe (Tradilin ou témoin) et incluse dans l'essai par paire. Le suivi s'est ensuite déroulé jusqu'à J+15 post-partum pour chaque vache, et pour les veaux jusqu'à J+15 de vie. On peut donc estimer que l'étude pilote a couvert le printemps-été-automne 2023 en termes de suivi sur le terrain. Il est intéressant de noter que cette période recouvre principalement les vêlages d'été, ce qui a pu réduire l'incidence de certaines maladies (ex. moins de pathologies néonatales qu'en hiver, potentiellement). Concernant la durée de recrutement, elle aurait pu être prolongée, mais l'objectif était également de lancer l'étude à grande échelle dans les délais compatibles avec le calendrier de la thèse, même si la période de recrutement avait déjà été partiellement étendue. Le recrutement n'a pas été suspendu en cours d'étude ; il s'est simplement arrêté une fois le créneau temporel écoulé. En résumé, le recrutement de l'étude pilote a été limité en nombre et dans le temps, conformément au plan (mais avec moins de fermes). Il est aussi utile de noter qu'aucune perte en cours de suivi n'est mentionnée : toutes les vaches incluses ont pu être suivies jusqu'à j+15 post-partum, et tous les veaux jusqu'à leur sortie (vente vers 2-3 semaines pour les mâles, conservation pour les femelles). Il y a eu des pertes de données (échantillons manquants), et un seul abandon (parmi les 4 premiers recrutés pour arriver à la fin à 3 élevages) d'un élevage en cours de route. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette difficulté de recrutements, notamment en raison du contexte spécifique de la période de tarissement. Cette phase, bien que cruciale sur le plan physiologique et nutritionnel, est perçue comme peu rentable par les éleveurs : la vache ne produisant pas de lait, elle représente une charge économique sans retour immédiat sur investissement. De nombreux éleveurs se montrent ainsi réticents à s'engager dans des protocoles expérimentaux susceptibles de perturber leur organisation ou de générer un surcroît de travail, en particulier durant cette période délicate. À cela s'ajoutent des inquiétudes liées à la santé des animaux, à la crainte de vêlages précoces, ou encore à la nécessité d'isoler certains lots pour respecter les conditions expérimentales. Malgré la mise en place de mesures incitatives – notamment une indemnisation de 1000 euros par élevage et la fourniture gratuite du Tradilin par Valorex – la motivation à participer est restée limitée.

Etude épidémiologique à grande échelle

Le recrutement pour cette étude a été nettement plus difficile et s'est soldé par un arrêt anticipé. Initialement, la planification temporelle prévoyait un démarrage du projet en mars 2024. Les mois précédents ont servi à sélectionner et convaincre les 40 fermes nécessaires – via Innoval et Valorex qui devaient mobiliser leurs adhérents/clients. Nous, de notre part, avec toute la logistique de mise en place de l'étude, nous avons conçu le protocole et auront le fait présenter pour un comité d'éthique (CERVO, Annexe 2) dans ce temps pour obtenir la validation éthique.

Le déploiement sur le terrain devait se faire en deux phases de 6 mois chacune (puisque chaque ferme fait ~6 mois de supplémentation puis ~6 mois sans, ou vice versa). Il était prévu que l'ensemble de l'essai court jusqu'en juin 2025 environ, ce qui correspondait à 15 mois de

suivi total. Donc le plan temporel global était : recrutement des 40 fermes avant mars 2024, première période (A ou B) de mars à ~août 2024, seconde période de ~septembre 2024 à février 2025, puis compilation des données et analyses d'ici juin 2025. En réalité, le recrutement initial n'a permis d'engager que 3 fermes vers décembre 2024 alors que l'étude devrait commencer en juillet 2024. L'équipe a tenté d'ajouter d'autres fermes, mais sans succès suffisant. Donc en 2025 la décision a été prise d'arrêter l'étude. Ces ajustements de calendrier n'ont pas été le fruit de décisions planifiées (comme un comité de surveillance qui arrête pour futilité ou succès précoce), mais bien d'une contrainte de terrain (impossibilité de recruter). Le recrutement décevant indique un biais de participation : il est envisageable que les 3 fermes participantes soient celles qui avaient un intérêt particulier pour la question (peut-être des éleveurs convaincus des effets des AG n-3 ou curieux, ou au contraire en difficulté particulière qu'ils espéraient résoudre). On ne saura pas vraiment vu que le recrutement a été confié aux partenaires, mais toujours est-il qu'un échec de recrutement de cette ampleur remet en cause la faisabilité de ce type d'essai à si grande échelle sans modifications (p. ex., aurait-il fallu plus de communication sur l'intérêt, des incitations financières plus fortes (chaque éleveur participant était rémunéré de 1000 euros), etc. ?). Cette transparence est essentielle pour comprendre pourquoi les résultats ne sont pas présentés ou exploitables ensuite.

Item 5. Interventions et
Item 6. Randomisations et
Item 7. Méthodes de prélèvements

Cette section doit décrire avec précision les traitements ou interventions assignés à chaque groupe, en précisant qui reçoit quoi, à quel niveau (individu, troupeau) et comment et quand l'intervention est administrée. Cela inclut la nature de l'intervention (produit, dose, fréquence, durée) ainsi que les détails du groupe témoin (ce qu'il reçoit en comparaison, p. ex. placebo, ration standard) pour bien comprendre le contraste. Une bonne description des interventions permet de juger de la reproductibilité de l'étude et de l'intégrité de sa mise en œuvre : par exemple, mentionner si la distribution de l'aliment enrichi a été laissée aux éleveurs, quelles quantités exactes ont été données, et si l'observance du protocole a été vérifiée.

Ex. Dans l'étude pilote, l'intervention testée était une supplémentation nutritionnelle en acides gras oméga-3 via un aliment enrichi en graine de lin extrudée (le produit commercial Tradilin®). Le protocole prévoyait que pour chaque ferme participante, les vaches gestantes soient réparties en deux groupes : un groupe essai recevant la supplémentation en Tradilin, et un groupe témoin sans supplémentation (ration standard sans Tradilin), randomisation par pairs. Le détail de l'intervention était le suivant : à partir de 7 semaines avant la date prévue de vêlage et jusqu'au vêlage, les vaches du groupe essai devaient recevoir quotidiennement une quantité de Tradilin® définie par Valorex pour chaque élevage (environ 500g par vache). Pendant cette même période, les vaches du groupe témoin devaient recevoir une ration fourragère identique en tous points à l'exception du Tradilin, remplacée par d'autres concentrés de sorte à maintenir une ration iso-énergétique et iso-protéique. Ainsi, hormis la teneur en AG n-3, les deux rations devaient être équivalentes afin d'isoler l'effet du Tradilin.

Avant ces 7 semaines précédant le vêlage, toutes les vaches suivaient la ration classique de tarissement (période sèche initiale commune). Après le vêlage, aucune vache n'était censée recevoir de supplémentation en Tradilin : la ration post-partum était commune aux deux groupes. Concernant les veaux, tous devaient boire le colostrum et le lait de leur propre mère pendant les 7 premiers jours de vie, puis être nourris de façon identique quel que soit le groupe de leur mère. Ces dispositions visaient à contrôler au maximum l'exposition différenciée aux oméga-3 uniquement pendant la fenêtre critique (tarissement jusqu'au vêlage) et à éliminer les facteurs confondants après la naissance (tous les veaux recevant ensuite le même aliment d'allaitement). Sur le terrain, l'implémentation de l'intervention dans l'étude pilote a globalement suivi ce schéma : les éleveurs ont ajouté le Tradilin pour les vaches du groupe essai durant la période définie. Selon les retours des éleveurs, la supplémentation a été bien respectée dans les fermes participantes, c'est-à-dire que les vaches censées recevoir le Tradilin l'ont reçu aux bonnes périodes. Toutefois, la quantité exacte de Tradilin, distribuée quotidiennement sous forme d'un volume prédéfini, n'a pas toujours été enregistrée avec rigueur, rendant difficile de vérifier l'observance exacte (compliance) du régime prévu. Par exemple, certains lots d'aliment ont pu être partagés entre vaches sans traçabilité fine, ou des oublis de distribution certains jours n'ont pas été notés. Cela constitue un biais d'implémentation fréquent dans les études de nutrition en ferme : l'intervention dépend de l'éleveur, et sans surveillance continue, de légères déviations peuvent survenir. Néanmoins, aucun manquement majeur (telle qu'une ferme qui aurait cessé de donner le Tradilin trop tôt ou qui n'a pas reçu le Tradilin) n'a été rapporté. On peut donc considérer que l'intervention nutritionnelle s'est déroulée globalement comme prévu, mais avec une incertitude sur la dose exacte reçue par chaque vache. Cet aspect peut influencer l'interprétation, car une variabilité dans la dose pourrait atténuer la différence attendue entre groupes.

Un autre élément caractérisant l'intervention, était la collecte des prélèvements sanguins et colostral. La mise en œuvre du protocole expérimental sur une durée d'un an, avec des prélèvements répétés de sang, colostrum et lait transitionnel à cinq points temporels clés (J-50, J-15, J0, J+4 et J+7), a représenté une charge organisationnelle et humaine. Malgré une formation théorique en expérimentation animale, ma propre préparation pratique – limitée– ne m'a pas permis d'être immédiatement opérationnelle sur le terrain. Les premiers prélèvements, réalisés avec l'aide d'un technicien également peu expérimenté, se sont soldés par des échecs. Le relais a été pris par des vétérinaires stagiaires, puis par les vétérinaires traitants des élevages. Cette succession d'intervenants, chacun avec des niveaux d'expérience et de rigueur différents, a introduit une variabilité non négligeable dans les conditions de prélèvement : parfois retards par rapport au calendrier prévu, et parfois absence de documentation sur les écarts. L'étiquetage des échantillons s'est avéré être un point d'importance majeur. Malgré la transmission de consignes précises, des erreurs ont été observées dès la première collecte : oublis d'étiquettes, voire mélanges entre échantillons de colostrum issus de plusieurs vaches, rendant leur traçabilité incertaine. De plus, le maintien de la chaîne du froid n'a pas toujours pu être garanti de manière optimale sur le terrain. Certains échantillons ont subi des cycles involontaires de congélation-décongélation, risquant d'altérer la stabilité de certains biomarqueurs sensibles. Le choix méthodologique ambitieux d'évaluer un large panel de biomarqueurs – couvrant les dimensions d'exposition, de fonction et de statut – visait à obtenir une vision intégrée du métabolisme nutritionnel chez la vache et le veau. Cependant, cette richesse analytique s'est traduite par un protocole de

prélèvement complexe, impliquant la collecte de multiples types de tubes, un conditionnement rigoureux, et une logistique d'envoi en séries successives. La coordination entre les différents laboratoires partenaires n'a pas toujours été fluide : certains prestataires ont rencontré des difficultés organisationnelles et financières, menaçant la poursuite temporaire de leurs activités. Les délais de traitement des échantillons se sont ainsi étalés sur plusieurs mois, retardant l'obtention des résultats intermédiaires et limitant la possibilité d'ajuster les protocoles en cours d'étude. Les délais de traitement des échantillons se sont étalés sur plusieurs mois, ralentissant considérablement l'accès aux résultats intermédiaires et à la possibilité d'ajuster les protocoles au fil de l'étude.

Etude épidémiologique à grande échelle

Dans cette étude, l'intervention testée consistait à supplémenter la ration des vaches taries avec des graines de lin extrudées (Tradilin®). La quantité utilisée était plus élevée que celle de l'étude pilote, afin d'obtenir une réponse métabolique et immunitaire plus marquée, tout en restant conforme aux recommandations nutritionnelles pour cette phase physiologique. Le schéma d'administration prévu différait également de celui de l'étude pilote. Au lieu d'inclure simultanément, dans chaque élevage, des vaches supplémentées et non supplémentées, le protocole avait été conçu comme un essai randomisé contrôlé prospectif en clusters, dans lequel les périodes de supplémentation de Tradilin® devaient alterner entre les fermes. Cette approche visait à équilibrer les caractéristiques des animaux entre groupes tout en contrôlant les facteurs de risque intra-élevage. Toutefois, l'étude épidémiologique n'a pas pu être mise en œuvre, le protocole étant resté à l'état de conception en raison de contraintes logistiques et temporelles liées à la fin de la thèse.. La durée de chaque période était d'environ 5 à 6 mois, couvrant suffisamment de vêlages pour observer les effets. Par tirage au sort, certaines fermes commençaient par la période avec supplémentation puis passaient en période témoin, et d'autres l'inverse (démarrant sans Tradilin puis introduisant le Tradilin aprè ~6mois). L'intervention elle-même pendant les phases "Tradilin" était identique à l'étude pilote avec une augmentation de la quantité. Tous les autres aspects (ration post-partum commune, alimentation des veaux identique) s'appliquaient de même. En théorie, ce design "tout ou rien par période" est plus facile à mettre en œuvre pour les éleveurs que le dispositif pilote, car ils n'avaient pas à gérer deux lots en parallèle : pendant une période donnée, l'alimentation était uniforme pour tout le troupeau des vaches taries (+ génisses gestantes). Sur le terrain, les quelques fermes qui ont entamé l'essai ont suivi les consignes pour la distribution du Tradilin pendant la période assignée. Cependant, étant donné l'arrêt prématuré de l'étude, la plupart n'ont probablement complété qu'une période sur les deux prévues. Dans un contexte de terrain, on s'est appuyé sur le suivi des technico- commerciaux de Innoval et Valorex, et la confiance envers les éleveurs pour respecter le protocole. Ainsi, dans l'étude à grande échelle, l'intégrité de l'intervention dépendait largement de la bonne volonté et du suivi des éleveurs. L'autre difficulté propre à ce design séquentiel était la transition entre périodes : le protocole notait qu'il fallait faire attention au biais temporel lors du passage d'une phase à l'autre. Ce chevauchement potentiel était difficile à éliminer sans une période de wash-out entre les phases, ce qui n'était pas prévu (on a voulu enchaîner les périodes pour que ça soit plus simple pour les éleveurs et on aurait exclu après les vaches partiellement exposées).

Item 8. Critères de jugements

Les critères de jugement (ou outcomes) désignent les variables mesurées pour évaluer l'effet de l'intervention, conformément aux objectifs. En épidémiologie, il est nécessaire de définir clairement les critères de jugement principaux et secondaires, ainsi que le niveau auquel ils sont mesurés (individuel, troupeau). Il faut également indiquer les méthodes employées pour améliorer la qualité des mesures, par exemple la formation des observateurs ou l'emploi de

mesures répétées pour un même phénomène. Dans le cas d'essais en élevage, les critères de jugement peuvent être variés : indicateurs de santé (incidence de maladies, mortalité), indicateurs de performance (production laitière, fertilité), ou biomarqueurs biologiques reflétant l'état nutritionnel, immunitaire ou autres. Un bon choix de critère principal doit correspondre à l'objectif principal et être cliniquement pertinent et mesurable de façon fiable. Les critères secondaires peuvent explorer des effets intermédiaires ou collatéraux. Il est essentiel de documenter comment chaque critère est évalué (par exemple, diagnostic vétérinaire, observation clinique, analyse de laboratoire) et si des efforts ont été faits pour réaliser ces mesures en aveugle afin de limiter le biais d'information (p. ex. un évaluateur qui ignorerait le groupe de l'animal pour juger la sévérité d'une diarrhée).

Ex. Dans l'étude pilote, les critères de jugement étaient principalement de nature biologique et exploratoire, compte tenu des objectifs. L'étude ne cherchait pas tant à mesurer une amélioration nette de la santé (avec un critère clinique principal) qu'à vérifier des indicateurs de transfert et de réponse biologique. On peut considérer que le critère principal implicite de l'étude pilote était la présence d'AG n-3 dans l'organisme des animaux (vaches et veaux) et dans le colostrum après l'intervention. En effet, le succès du transfert nutritionnel était une condition préalable pour espérer un effet santé. Ainsi, des dosages du profil lipidique ont été effectués, sur le sang des vaches en fin de gestation et sur le colostrum post-vêlage, pour quantifier la concentration en AG n-3 dans le groupe supplémenté versus le groupe témoin. Ce type de mesure d'exposition a servi d'outcome intermédiaire clé. Parallèlement, l'étude pilote a évalué des biomarqueurs de fonction et de statut qu'on ne répète pas ici (cf. chapitre 3 résultats).

En résumé, en ce qui concerne les biomarqueurs, l'étude pilote a permis de confirmer un résultat important : les vaches ayant reçu la graine de Tradilin montraient une légère augmentation de la teneur en AG n-3 dans leur colostrum par rapport aux témoins, signe que l'intervention a bien modifié le profil lipidique colostral. Ce critère "preuve de concept" a été atteint. D'autres biomarqueurs ont été dosés, mais leur interprétation a été limitée par des pertes d'échantillons et des analyses retardées (problèmes de logistique de labo). Par exemple, certains tubes de sang ou de colostrum ont été égarés ou mal étiquetés (erreurs humaines signalées), entraînant des données manquantes pour ces critères. Cela a réduit la capacité à comparer entièrement les groupes sur ces données biologiques. En somme, l'étude pilote a défini et mesuré un ensemble large de critères de jugement, mais sur le terrain tous n'ont pas pu être exploités correctement. Cette expérience a mis en lumière la nécessité, pour l'étude suivante, de simplifier les critères principaux afin de focaliser les efforts de collecte sur quelques indicateurs clés fiables.

Etude épidémiologique à grande échelle

Cette étude, de par son ambition, avait défini des critères de jugement multiples couvrant à la fois la santé des vaches, la santé des veaux et des critères biologiques. Le critère principal envisagé était la santé des veaux en période néonatale, en particulier la mortalité des veaux dans les 3 premières semaines de vie. En effet, le calcul d'effectif se basait sur la détection d'une réduction de 2% du taux de mortalité des veaux, suggérant que c'était un indicateur central. La morbidité néonatale (incidence de diarrhées et troubles respiratoires chez les veaux dans les premières semaines de vie) constituait un autre critère majeur, étant donné

l'objectif d'améliorer la survie et la santé des veaux. Du côté des vaches, plusieurs critères de jugement étaient prévus, notamment l'incidence des maladies métaboliques post-partum : la cétose clinique, les fièvres de lait (hypocalcémies), les métrites et les mammites dans les 6 semaines après vêlage. La qualité du colostrum était un critère biologique essentiel, cette matrice est finalement plus facile à collecter : elle devait être évaluée via la concentration en immunoglobulines (IgG) du colostrum à J0, ainsi que par le profil en AG. En termes de niveau de mesure, les critères se situaient soit au niveau individuel (par exemple, un veau a/t-il eu une diarrhée, oui/non), soit au niveau troupeau/période (par exemple le taux de mortalité global pendant la période témoin vs période Tradilin). Des procédures étaient prévues pour fiabiliser la mesure de ces critères : par exemple, l'utilisation des enregistrements du Contrôle Laitier pour objectiver la survenue de mammites (via les résultats de comptages cellulaires), l'emploi des questionnaires (site web personnalisé pour chaque éleveur) standardisés pour relever les cas de diarrhée veau (avec définition précise d'une diarrhée néonatale), et aussi la plateforme d'Innoval qu'ils sont habitués à la remplir dès qu'il y a un évènement de santé. L'ampleur de la collecte d'outcomes était donc considérable. Sur le terrain, en raison de l'arrêt de l'étude, aucun de ces critères n'a pu être pleinement analysé. Néanmoins, on peut noter que la collecte partielle a mis en évidence la difficulté de suivre autant d'indicateurs : les questionnaires retournés par les éleveurs étaient parfois incomplets (certains cas de maladie non notifiés, ou manque de précision sur les dates) et les relances insuffisantes pour combler ces lacunes. Cela a conduit à des données incomplètes pour les critères de jugement, compromettant l'analyse. Par exemple, un éleveur pouvait oublier de signaler une diarrhée survenue un week-end. En outre, le design avec deux périodes par ferme a introduit un effet de saison sur les critères : la période "hiver" aurait pu naturellement avoir plus de pathologies (ex. plus de pneumonies de veaux en hiver), indépendamment de la nutrition. Ce biais saisonnier complique l'interprétation des critères de jugement comparés entre périodes, à tel point que la différence observée de mortalité ou de morbidité aurait pu refléter la météo plutôt que de la nutrition. Il était prévu de contrôler ce biais via l'appariement des fermes (moitié commençant en période Tradilin l'hiver, moitié l'été). Finalement, les critères de jugement de l'étude étaient pertinents et alignés sur les objectifs, mais les risques d'oubli ne pourraient être maîtrisés que par un contrôle très régulier dans les conditions d'élevage commercial.

Item 9. Analyses statistiques

Dans cette section, il s'agit de décrire en détail les méthodes utilisées pour comparer les groupes sur les critères de jugement, en précisant le niveau d'analyse (par exemple individuel ou par ferme) et les techniques employées pour tenir compte de la structure des données (s'il y a des groupes ou des mesures répétées). Il convient aussi de mentionner toute analyse supplémentaire prévue, comme les analyses en sous-groupes ou les ajustements multivariés, afin que le lecteur sache comment les auteurs ont abordé les données au-delà de la simple comparaison brute. Dans une étude randomisée en épidémiologie nutritionnelle, les méthodes statistiques doivent correspondre à aux types de données collectées : par exemple, dans un essai en cluster, on utilisera des modèles mixtes. De plus, si plusieurs variables de confusion potentielles subsistent, des analyses multivariées (régressions logistiques, Cox, etc. selon le cas) peuvent être indiquées pour isoler l'effet de l'intervention. Il est également important de déclarer si l'analyse se fera en intention de traiter (inclure tous les sujets tels

qu'assignés, même s'il y a eu des écarts) ou non, et comment seront gérées les données manquantes (imputation, exclusion…). Ce chapitre méthodologique assure la transparence de l'analyse prévue, ce qui est crucial pour la reproductibilité et la crédibilité des résultats.

Ex. Dans l'étude pilote, de nature exploratoire, les analyses statistiques ont principalement reposé sur des approches descriptives, en raison de la taille réduite de l'échantillon et du faible nombre de fermes participantes (n = 3). Le protocole prévoyait initialement des « modèles descriptifs » et des « analyses multifactorielle » afin d'explorer les grandes tendances. Compte tenu de la structure hiérarchique des données (animaux groupés par élevage), des modèles mixtes ont été envisagés, avec un effet aléatoire de type "ferme" pour tenir compte de la non-indépendance entre individus d'un même troupeau. Toutefois, avec un nombre très limité de clusters, la puissance statistique des modèles était insuffisante pour fournir des estimations robustes. L'interprétation des effets reste donc très prudente. Aucune vache n'ayant été exclue après inclusion, on ne parle pas ici d'analyse « en intention de traiter », mais toutes les données disponibles ont été utilisées.

Etude épidémiologique à grande échelle

Dans cette étude, le plan d'analyse statistique avait été conçu de manière plus élaborée, afin d'exploiter la richesse des données attendue et de mieux isoler l'effet de la supplémentation en acides gras oméga-3. Le dispositif expérimental étant un essai randomisé en grappes (c'est-à-dire à l'échelle des fermes), l'analyse aurait reposé sur des modèles linéaires ou logistiques mixtes à effets aléatoires, avec un intercept spécifique par ferme pour modéliser l'hétérogénéité inter-troupeaux. Un effet aléatoire temporel (par période de vêlage) aurait pu également être intégré si une synchronisation saisonnière était présente entre les groupes. La stratégie analytique prévoyait également une différenciation selon le type de variable : pour les variables continues (telles que les taux d'immunoglobulines, les concentrations en AG), des modèles linéaires généralisée auraient été utilisés pour tester les différences entre groupes, en tenant compte de la structure des données ; pour les variables binaires (ex. : présence ou absence de diarrhée), des modèles logistiques mixtes auraient permis d'estimer des Odds Ratios (OR) ajustés sur l'effet ferme ; Pour les variables de type temps-événement (ex. : délai avant apparition de troubles néonatale), des modèles de survie ou des analyses de type Kaplan-Meier auraient pu être employés ; Pour les événements rares (ex. : mortalité néonatale), il était envisagé de calculer des Risk Ratios ou des différences de risques, voire des fractions attribuables (PAF) en population pour estimer la part de l'incidence évitable si la supplémentation en AG n-3 était systématisée. En complément, des modèles multivariés ajustés auraient permis d'intégrer des covariables de confusion connues (sexe du veau, poids de naissance, parité, etc.), permettant ainsi d'isoler l'effet propre de l'intervention nutritionnelle. L'analyse aurait pu être stratifiée par ferme ou saison si nécessaire. Enfin, la gestion des données manquantes aurait été documentée (imputation simple, exclusion, ou modèle robuste), et l'approche prévue était une analyse dite en intention de traiter, c'est-à-dire l'inclusion de tous les animaux aléatoirement assignés, indépendamment des déviations au protocole. Ce plan d'analyse, bien qu'ambitieux, visait à maximiser la rigueur scientifique tout en répondant aux contraintes de la recherche appliquée en conditions de terrain. En pratique, l'arrêt prématuré de l'étude n'a pas permis de mettre en œuvre ce plan, mais les variables prévues pour l'analyse sont listées en Annexe 3 et 4 du manuscrit.

Tableau 2. Comparatif synthétique des deux protocoles

	Etude pilote	**Etude épidémiologique à grande échelle**
Objectifs	Exploratoires, de preuve de concept : Transfert AG n-3 mère → colostrum/veau. Faisabilité d'un protocole de terrain. Évaluation de biomarqueurs (exposition, fonction, statut).	Objectif appliqué : Effet de la supplémentation sur la santé vache/veau et colostrum. Mesure de la FAP aux AG n-3 (analyses multivariées). Hypothèses claires : ↓ mortalité veaux, ↓ stress métabolique, ↑ qualité colostrum.
Participants/ Éligibilité	Élevages du Grand Ouest (clientes Valorex), avec infrastructures séparées, contrôle laitier ou robot. Vaches Holstein, taries ≥8 semaines. Génisses exclues.	Élevages standards, vêlages étalés, contrôle laitier requis. Toutes vaches taries et génisses gestantes incluses (majoritairement Prim'Holstein).
Taille de l'échantillon	Vise 150 vaches (5 fermes × 30), obtenues : 3 fermes, 55 vaches. Pas de calcul de puissance. Puissance finale faible.	Calcul de puissance formel (objectif = baisse mortalité veaux de 8% à 6%, ICC = 0,02), besoin : 2 280 veaux dans 40 fermes. Réalisé: seulement 3 fermes → étude arrêtée.
Recrutement	3 fermes recrutées via Valorex, période Mai-Décembre 2023. Inclusion continue selon tarissement. Difficultés et contraintes de logements lots, logistique, prélèvements, et réticence des éleveurs.	Plan initial : 40 fermes via Innoval/Valorex dès mars 2024, 2 périodes de 6 mois. Réalisé : 3 fermes seulement (Juillet 2024). Échec du recrutement. Étude stoppée début 2025. Recrutement biaisé possible (motivation particulière des fermes volontaires).
Intervention	Supplémentation Tradilin (500 g/j) 7 sem. avant vêlage vs témoin. Ration iso-protéique et iso-énergétique. Post-partum : même ration. Veaux nourris pareil après J+7. Implémentation globale OK mais observance incertaine.	Supplémentation augmentée, mais design en grappes croisées temporelles (Tradilin/pas Tradilin par périodes de 6 mois par ferme). Plus simple pour l'éleveur. Suivi confié aux techniciens et éleveurs. Pas de période de wash-out → prévu d'exclure les vaches partiellement exposées.
Randomisation	Individuelle intra-ferme. Répartition par paires des vaches entre les groupes selon leur date de vêlage prévue.	En cluster temporel : chaque ferme = deux périodes alternées (Tradilin vs témoin). Randomisation de l'ordre. Pas de gestion simultanée de groupes. Risque de biais temporel si pas d'équilibrage saisonnier (non atteint car seulement 3 fermes).
Méthodes de prélèvement	5 temps de prélèvement (J-50 à J+7), mais forte variabilité dans l'exécution (techniciens, vétérinaires, erreurs d'étiquetage, chaîne du froid altérée). Multiplicité des tubes et biomarqueurs compliquant la logistique.	Prélèvements simplifiés, centrés sur colostrum à J0, pas de prélèvement sanguin répété prévu. Moins de pression logistique. Design plus réaliste pour les éleveurs mais toujours soumis à leur implication.
Critères de jugement	Biologiques (preuve de concept) : profile en AG dans sang/colostrum, biomarqueurs (fonction/statut). Données parfois incomplètes (prélèvements, étiquetage).	Mortalité veaux <3 sem. (critère principal), diarrhée/pneumonie veaux, maladies métaboliques vache (cétose, métrite, mammites, etc.), IgG colostrum, profil lipidique. Nombreux outils prévus (Innoval, questionnaires, contrôle laitier), mais collecte incomplète. Effet saison possible non contrôlé (seulement 3 fermes).
Analyses statistiques	Approche descriptive principalement.	Plan analytique structuré selon type de variable (linéaire, logistique, survie). Modèles mixtes à effets aléatoires prévus (ferme, période), ajustés sur facteurs de confusion. RR, OR, PAF planifiés. Données et variables listées en annexe. Analyse non réalisée (étude arrêtée).

Conclusion

Ce chapitre a mis en lumière les enseignements tirés de deux essais en élevage laitier – une étude pilote exploratoire et une étude épidémiologique à grande échelle – en soulignant l'écart fréquent entre les protocoles théoriques et leur application sur le terrain. L'approche REFLECT a permis de structurer une analyse rigoureuse, en identifiant les contraintes méthodologiques, les biais rencontrés et les adaptations nécessaires. L'étude pilote a validé la faisabilité du transfert des AG n-3 et révélé les limites logistiques, tandis que l'étude à grande échelle, bien que mieux adaptée aux conditions réelles, a été arrêtée prématurément en raison de plusieurs difficultés, parmi eux, le recrutement. Ces expériences confirment l'importance de la flexibilité méthodologique et d'une réflexion critique continue pour renforcer la validité et la transférabilité des essais en épidémiologie nutritionnelle. Le chapitre 5 suivant développera une discussion générale croisant les résultats, les limites, et les perspectives de recherche ouvertes par cette thèse.

Chapitre V. Discussion Générale

L'objectif principal de cette thèse était double : évaluer par une approche épidémiologique, l'effet d'une supplémentation en GLE, riche en AG n-3, durant la période de tarissement sur la santé et le métabolisme énergétique maternel et du veau en début de vie, leurs effets sur la composition et la qualité du colostrum et lait transitionnel, ainsi que le transfert des AG n-3 de la ration à la vache jusqu'au au veau. Et, concevoir et tester la faisabilité d'une étude interventionnelle randomisée contrôlée d'épidémiologie nutritionnelle. Ce modèle utilisé a servi pour initier des études d'épidémiologie nutritionnelle en santé animale, en s'appuyant sur une approche combinant revue systématique et méta-analyse, essai contrôlé randomisé et développement de protocole épidémiologique à grande échelle.

Cette approche s'inscrit dans une ambition plus large : explorer des voies alternatives à l'expérimentation animale classique pour comprendre les effets de la nutrition sur la santé. Cette discussion générale aborde des problématiques transversales aux différents chapitres de la thèse et est structurée en trois parties.

1. Les biomarqueurs comme outils de mesure de la santé : leçons de la revue systématique et méta-analyse

Pour évaluer les effets de la nutrition sur la santé, une question centrale est celle des outils mobilisables. Comment mesurer objectivement l'état de santé d'un animal dans un contexte nutritionnel, en élevage réel, sans recourir à des dispositifs lourds, coûteux, ou réservés à la recherche expérimentale ? La question paraît simple, mais elle s'est rapidement révélée centrale et complexe. En effet, dès lors qu'il s'agissait de dépasser les indicateurs cliniques binaires traditionnels (mortalité/morbidité), dont l'hétérogénéité inter-individuelle et inter-systèmes (ex. exploitation, région, pays), combinée aux biais de collecte (omissions systématiques ou événements rares non documentés, et les biais d'observations), la validité externe et la comparabilité des résultats.

Face à cette difficulté méthodologique, le recours aux biomarqueurs de santé est rapidement apparu comme une piste privilégiée. En fournissant des indicateurs objectifs, quantifiables, reproductibles, et souvent accessibles dans différents fluides biologiques, les biomarqueurs permettent de contourner les limites des enregistrements cliniques classiques, tout en capturant des effets nutritionnels parfois subtils ou précoces (Bingham, 2002). Mais cette option, attirante en théorie, posait à son tour plusieurs questions essentielles : quels biomarqueurs de santé présentent une variabilité suffisante en réponse à une modulation de l'alimentation ? Quelle est l'ampleur de cette variabilité, et dans quelles conditions nutritionnelles (dose, durée, stade physiologique) peut-elle être observée ? Que mesurent-ils réellement ? Sont-ils pertinents pour refléter un état de santé ? Dans quelles matrices biologiques les retrouver, et à quel moment du péripartum les analyser ?

C'est pour répondre à ces interrogations qu'a été conçu le premier volet de ce travail : la réalisation d'une revue systématique et méta-analyse, non pas dans une logique de simple bilan des supplémentations nutritionnelles rapportés, mais avec l'ambition d'en savoir plus sur les biomarqueurs utilisés pour évaluer ces effets, et d'en analyser la cohérence et la validité. Autrement dit, il ne s'agissait pas de recenser les stratégies nutritionnelles sinon de

recenser les biomarqueurs utilisés, identifier lesquelles sont plus susceptibles de varier « ceux qui permettraient de distinguer les statuts sanitaires en lien avec la nutrition », décrypter les manières dont la santé périnatale du couple vache–veau est évaluée dans les études nutritionnelles existantes, et de voir si une structuration ou un consensus émergeaient quant à l'usage de certains biomarqueurs. La revue avait ainsi une fonction double : cartographier les approches d'évaluation de la santé animale dans le contexte des supplémentations périnatales, et poser les bases d'une réflexion critique sur les biomarqueurs utilisés, leur pertinence biologique et leur potentiel en épidémiologie nutritionnelle. Elle s'inscrivait pleinement dans la démarche méthodologique de la thèse : identifier des outils robustes, transposables et scientifiquement justifiés pour objectiver les effets de la nutrition sur la santé, en particulier dans des matrices non invasives, facile à obtenir dans le cadre de l'épidémiologie, comme le colostrum et le lait transitionnel (Arslan et al., 2021; Brown et al., 2023).

L'analyse des 70 études expérimentales incluses dans la revue a permis de dresser un constat méthodologique éclairant. D'une part, la diversité des biomarqueurs mesurés (n = 47) témoigne d'un foisonnement d'indicateurs biologiques mobilisés pour évaluer les effets des supplémentations. D'autre part, cette diversité s'accompagne d'un manque de justification scientifique quant au choix des biomarqueurs, à leur lien avec la supplémentation testée, et à leur pertinence pour évaluer un état de santé (cf. chapitre 2). Très peu d'études mobilisent explicitement le concept de biomarqueur, et encore moins adoptent une classification ou une démarche épidémiologique explicite. Face à cette hétérogénéité, nous avons proposé une typologie inspirée des travaux en nutrition humaine (Gibson, 2024), en classant les indicateurs selon trois catégories : biomarqueurs d'exposition, de santé, et de statut. Cette structuration, bien que perfectible, a permis de clarifier les logiques implicites à l'œuvre dans les études, et de mieux cerner les maillons de la chaîne causale reliant l'alimentation maternelle aux effets biologiques observés. Elle a aussi révélé un déséquilibre important : les biomarqueurs de santé (immunité, inflammation, métabolisme) sont mobilisés, notamment dans le colostrum, mais ne sont pas des vrais indicateurs de l'état de santé.

L'un des enseignements majeurs de cette revue concerne la pertinence des matrices biologiques utilisées pour mesurer les effets nutritionnels. Colostrum et lait transitionnel sont souvent présentés, à juste titre, comme des matrices de choix dans une perspective de terrain : leur collecte est simple, non invasive, acceptable en élevage, et ces fluides sont naturellement riches en composés nutritionnels, immunitaires ou métaboliques. Pour la vache, ces matrices peuvent effectivement offrir une fenêtre d'observation intéressante sur certains aspects de sa santé, notamment en lien avec le métabolisme, l'immunité ou l'inflammation post-partum. En revanche, leur pertinence pour évaluer la santé du veau mérite d'être interrogée. Si le colostrum permet de caractériser l'exposition du veau à certains composés nutritionnels (AG, vitamines), il ne renseigne que sur ce qui est transmis, et non sur ce qui est effectivement absorbé, transformé, ou biologiquement actif chez le veau (Marcato et al., 2018). Autrement dit, ces matrices restent des marqueurs d'exposition nutritionnel du veau (ou du consommateur humain), mais ne permettent pas, à elles seules, d'évaluer les effets réels sur la santé néonatale. Ce constat remet partiellement en question l'ambition initiale d'objectiver la santé du veau via des biomarqueurs mesurés dans le lait, et souligne la fragilité de cette approche dans une logique de surveillance épidémiologique.

Cette limite a des conséquences pratiques importantes. En l'absence de biomarqueurs fiables, accessibles et validés chez le veau à partir de matrices non invasives, l'épidémiologiste est contraint de revenir aux indicateurs classiques de santé : morbidité (diarrhée, maladies respiratoires, …), mortalité, croissance, etc. Or, ces indicateurs posent plusieurs défis. Ainsi, la morbidité est un indicateur de la fréquence des maladies dans une population (Bonita et al., 2010), bien que plus fréquente en élevage bovin laitier, elle est souvent difficile à standardiser : sa collecte repose sur l'observation clinique, sujette à des variations inter-observateurs, et à des biais d'enregistrement. La mortalité néonatale, quant à elle, est un indicateur de la fréquence des décès dans une population (Bonita et al., 2010), plus facile à documenter car binaire, leur prévalence (par exemple une mortalité néonatale autour de 6%) implique des tailles d'échantillon très importantes pour détecter des effets significatifs. En effet, la taille moyenne d'un élevage en France est d'environ 70 vaches laitières — un chiffre en hausse (+20 vaches en dix ans selon Agreste), mais qui reste insuffisant pour constituer des cohortes de taille adéquate sans mobiliser un grand nombre d'élevages.

Ce dilemme méthodologique, entre pertinence biologique et faisabilité logistique, soulève une tension structurelle dans la mise en œuvre d'une épidémiologie nutritionnelle rigoureuse. Si les biomarqueurs disponibles sont soit peu informatifs pour le veau, soit coûteux ou invasifs, et que les indicateurs cliniques classiques nécessitent des cohortes massives pour atteindre la puissance statistique nécessaire, alors le développement de cette épidémiologie reste limité dans son déploiement à large échelle. Ce constat n'est pas un renoncement, mais un appel à la prudence méthodologique : la promesse des biomarqueurs doit s'accompagner d'une réflexion critique sur leur nature, leur temporalité, leur validité biologique, et leur lien réel avec un critère de jugement de santé. En cela, la revue systématique a été déterminante pour asseoir la légitimité d'une approche fondée sur les biomarqueurs dans l'évaluation nutritionnelle, et pour poser les bases d'une épidémiologie nutritionnelle intégrée, applicable à la santé périnatale en élevage. Cependant, des études complémentaires seront nécessaires afin d'identifier un ensemble ou combinaison des biomarqueurs qui soient représentatifs de l'exposition nutritionnelle et véritablement prédictifs des issues cliniques, de manière à établir des chaînes causales robustes entre nutrition, biomarqueurs et santé. Chaque biomarqueur, pour être utile, doit pouvoir servir de point d'articulation entre l'intervention nutritionnelle et un critère de jugement de santé pertinente, validé et mesurable.

Bien que cette partie de la thèse ait été finalisée après le lancement de l'étude pilote (chapitre 3), ses résultats ont nourri, *a posteriori*, la réflexion méthodologique en vue d'une étude à plus grande échelle (chapitre 4). Et, elle a aussi contribué à restructurer la présentation des biomarqueurs mesurés dans l'étude pilote, repositionner les résultats dans un cadre analytique plus large, et à interroger les conditions de reproductibilité, de transposabilité et de pertinence épidémiologique de l'approche testée sur le terrain.

2. *Transferts nutritionnels démontrés en santé périnatale animale et au-delà*

Depuis le début des années 2000, l'association Bleu-Blanc-Cœur (BBC), créée parallèlement à l'entreprise Valorex, promeut une stratégie nutritionnelle innovante visant à enrichir la chaîne alimentaire humaine en AG n-3, à travers la production de denrées animales dont le profil lipidique a été optimisé par l'alimentation des animaux. Cette démarche repose notamment sur l'incorporation, dans les rations des vaches, porcs, volailles ou ovins, de graines riches en ALA telles que le lin ou la luzerne, entraînant une amélioration significative du profil en AGPI n-3 des produits animaux (lait, viande, œufs) (Magrini and Duru, 2014). La filière BBC fédère des acteurs de toute la chaîne alimentaire – producteurs, fabricants d'aliments du bétail, éleveurs, industriels agro-alimentaires et consommateurs – autour d'un cahier des charges combinant obligation de moyens (aliments riches en ALA) et obligation de résultats sur le ratio n-6/n-3 du lait, ouvrant droit à une prime financière pour le producteur. Ce modèle a favorisé les systèmes intensifs de plaine utilisant de la graine de lin extrudée toute l'année, au détriment des systèmes herbagers, dont le lait ne répond au cahier des charges qu'au printemps. Cette structuration a permis à Valorex de diffuser ses aliments enrichis en AG n-3 à l'échelle nationale, malgré un coût élevé. En parallèle, la graine de lin extrudée est aussi commercialisée hors de la filière BBC, avec un argumentaire axé non plus sur la qualité nutritionnelle du lait, mais sur l'amélioration des performances technico-économiques des exploitations d'élevage (reproduction, santé, productivité), bien que ces bénéfices soient encore peu étayés scientifiquement (Magrini et al., 2014). D'où la nécessité de valider ces effets par des études rigoureuses et d'en évaluer la rentabilité économique, ce qui a motivé le développement de collaborations entre Valorex et des institutions de recherche comme INRAE et Oniris.

Plusieurs études ont confirmé ce transfert nutritionnel inter-espèces. Une étude en double aveugle chez 75 volontaires humains, montrant qu'une consommation de produits issus d'animaux nourris avec la graine de lin extrudée entraînait une augmentation significative des concentrations plasmatiques et érythrocytaires en ALA, EPA et DHA, ainsi qu'une réduction du ratio n-6/n-3 (Weill et al., 2002). Dans la même logique, une étude expérimentale chez le porc a montré qu'un régime à base de graine de lin extrudée permettait d'enrichir durablement la viande en AG n-3 (ALA, EPA, DPA), sans altérer ses qualités sensorielles après cuisson ou transformation (Guillevic et al., 2009). Plus récemment, une étude interventionnelle chez l'Homme a mis en évidence qu'une consommation régulière de produits BBC à partir du 6e mois de grossesse permettait d'augmenter significativement les concentrations d'ALA (+75 %) et de PUFA n-3 (+52 %) dans le lait maternel, sans altérer les autres familles lipidiques, et avec des effets bénéfiques attendus sur les fonctions cognitives du nourrisson (Thibault et al., 2024). Cette étude s'inscrit dans un corpus de plus en plus solide montrant l'impact positif des AG n-3 pendant la grossesse. La revue systématique de Middleton et al. (2018), portant sur près de 20 000 femmes, a confirmé que la supplémentation en AG n-3 à longue chaîne (EPA, DHA) réduit significativement le risque de prématurité, améliore le poids de naissance, et prolonge légèrement la durée de gestation. Ces effets sont suffisamment robustes pour que les auteurs recommandent de ne plus mener de nouveaux essais randomisés versus placebo, soulignant toutefois la nécessité de mieux comprendre les effets à long terme. Par ailleurs, une étude observationnelle de grande ampleur menée au Japon (Sanzen et al., 2025) a montré qu'une consommation élevée d'AG

n-3 pendant la grossesse était associée à une meilleure qualité du lien mère-enfant à 1 et 6 mois post-partum, via une réduction des scores d'anxiété maternelle et un meilleur comportement du nourrisson.

Ces chiffres témoignent d'un transfert lipidique extrêmement efficace entre l'alimentation maternelle et le lait, et illustrent la puissance de modulation nutritionnelle du lait humain par des interventions nutritionnelles ciblées. À titre de comparaison, chez la vache laitière, les effets de la supplémentation périnatale en graine de lin extrudée sont également positifs, mais d'amplitude plus modérée. La méta-analyse de Meignan et al. (2017), portant sur 17 études expérimentales, montre que cette supplémentation permet une augmentation moyenne d'environ 0,4 à 0,6 g d'ALA pour 100 g de lipides totaux, soit une progression estimée autour de +20 à +30 % selon les régimes. Ce contraste inter-espèces suggère que, si le mécanisme de transfert est bien présent chez la vache, son rendement est plus limité que chez la femme. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cet écart : différences de physiologie digestive (rumination, biohydrogénation ruminale), capacités d'absorption entérique, priorités métaboliques, la différence de type de placentation entre les espèces : la femme possède une placentation hémochoriale, hautement permissive au transfert des lipides (Massonnat, 2002), tandis que la vache présente une placentation épithéliochoriale, beaucoup plus restrictive, ou encore composition de la ration de base. En particulier, la présence d'ensilage de maïs en proportions élevées semble limiter l'incorporation efficace des AG n-3 dans le lait, en favorisant la formation d'AG trans indésirables.

Au-delà de l'effet sur le consommateur, l'enrichissement lipidique des rations animales a également des effets fonctionnels sur la santé des animaux eux-mêmes. L'étude observationnelle rétrospective de Meignan et al. (2017) a analysé 423 605 inséminations artificielles réalisées entre 2008 et 2015 sur 158 125 vaches dans 1 096 élevages français pour évaluer l'effet de la supplémentation en graine de lin extrudée sur la reproduction. Les vaches ont été classées en cinq groupes selon la dose estimée de TradiLin® reçue (de non exposé à 600–1500 g/jour). La supplémentation en graine de lin extrudée a été associée à une réduction significative de l'intervalle vêlage–1ère IA (DAI1), et de l'intervalle vêlage–conception (DAIF). Les effets les plus marqués sur DAI1 et DAIF ont été observés avec la plus faible dose (<50 g/j), suggérant une réponse non linéaire. Ainsi, une supplémentation modérée en graine de lin extrudée pourrait améliorer la reprise de la reproduction post-partum, sans bénéfice clair sur la gestation ou la viabilité embryonnaire. Ces effets physiologiques s'accompagnent également de modifications des performances laitières. L'étude de Ariza et al. (2019), menée à partir de plus de 3,8 millions de contrôles laitiers réalisés entre 2008 et 2015 dans 1 294 exploitations françaises, a montré qu'une supplémentation en graine de lin extrudée est associée à une augmentation significative de la production laitière, toutes parités confondues. Pour chaque tranche de 100 g/jour de GLE distribué, les vaches produisaient entre +0,11 et +0,15 kg de lait par jour. Toutefois, cette augmentation s'accompagnait d'une diminution modérée de la teneur en matières grasses (–0,06 à –0,13 g/kg) et, en protéines (–0,006 à –0,023 g/kg), quel que soit le rang de lactation. Bien que l'étude ne puisse établir une relation de cause à effet avec certitude, ces résultats suggèrent que l'ajout de la graine de lin extrudée dans l'alimentation des vaches pourrait être un levier simple et économiquement viable pour accroître la productivité laitière, au prix d'un léger compromis sur la qualité nutritionnelle du lait.

Dans ce contexte, notre étude pilote mené sur trois fermes laitières commerciales situées dans la région du Grand-Ouest en France (cf. chapitre 3) s'inscrit dans la continuité de ces observations, mais l'ancre dans le champ encore peu exploré de la santé périnatale. L'étude a inclus 36 vaches gestantes entre Juin et Décembre 2023, réparties entre un groupe témoin recevant la ration classique de tarissement et un groupe supplémenté avec 500 g/jour de TradiLin®. L'objectif principal était de déterminer si les AG n-3 issus de la graine de lin extrudée s'accumulaient efficacement dans les tissus maternels en fin de gestation, puis étaient transférés au veau, au moins partiellement, via le colostrum et le lait transitionnel, ainsi qu'à la mère elle-même pour soutenir ses besoins métaboliques. Un objectif secondaire portait sur l'évaluation du statut énergétique et immunométabolique post-partum de la mère et du veau. Nous avons ainsi observé, chez les vaches traitées, une augmentation marquée du DHA dans le sérum au vêlage (+18,4 %) et à J+7 (+10 %), malgré une diminution paradoxale de l'EPA à ces mêmes temps (–31,5 % et –7,4 %), suggérant une conversion partielle de l'ALA en oméga-3 à longue chaîne via les étapes de désaturation/élongation. Le lait transitionnel a également présenté un enrichissement en ALA (+3,6 %) et en DHA (+22,3 %). Chez les veaux issus de mères supplémentées, les mâles ont montré à la naissance une augmentation de l'EPA (+22,1 %) malgré une baisse du DHA (–19,7 %) ; à J+7, on notait une hausse du DHA (+24,2 %) et du DPA (+26,4 %). Les femelles ont présenté des réponses plus contrastées, avec une forte élévation en acide linoléique à la naissance (+88,7 %) suivie à J+7 d'une augmentation marquée de l'EPA (+79,6 %) mais une diminution du DHA (–12,1 %). Par ailleurs, les vaches traitées ont présenté une baisse de la concentration sérique en acides gras non estérifiés (NEFA) au vêlage, traduisant une mobilisation lipidique plus contrôlée, ainsi qu'une légère hausse non significative de la glycémie. Les veaux ont également montré une amélioration de leur statut énergétique à J+7, avec une réduction non significative des concentrations sériques de NEFA.

Ces observations confirment un transfert lipidique actif entre la mère et le veau, modulé par le sexe et le stade, et illustrent l'intérêt d'une approche nutritionnelle ciblée durant le tarissement pour moduler le statut d'AG n-3 en période périnatale. Ce mécanisme de transfert nutritionnel précoce entre mère et veau est cohérent avec les observations issues du champ de la DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease), déjà bien établi en médecine humaine, qui postule une influence durable de l'environnement périnatal sur la santé adulte (Boquien, 2018). Malgré l'efficacité démontrée du transfert nutritionnel inter-espèces, il existe à nos connaissances, à ce jour peu d'études établissant un parallèle entre les effets d'une supplémentation en AG n-3 chez l'animal gestant et les impacts sanitaires chez l'humain consommateur. Ce champ reste donc inexploré. Il constitue une piste de recherche originale, en particulier dans une optique One Health intégrée.

3. Faisabilité, limites et leçons de terrain en épidémiologie nutritionnelle

La mise en œuvre à grande échelle d'un essai prospectif rigoureux s'est heurtée à une réalité structurelle : le système d'élevage bovin laitier français (caractérisé par Ryschawy et al., 2020) n'est pas adapté à ce type de protocole lourd. Mener une étude interventionnelle en élevage commercial suppose de concilier deux logiques : celle de la rigueur scientifique (validité externe, taille d'échantillon adapté, validité interne, contrôle des biais), et celle des réalités agricoles (variabilité des pratiques, contraintes de production). Cette tension est particulièrement manifeste en épidémiologie nutritionnelle animale, discipline encore émergente.

L'étude à grande échelle avait été conçue pour pouvoir mettre en évidence un bénéfice sanitaire tel que la mortalité des veaux subirait une réduction absolue de 2%. Ainsi, il nous fallait inclure 2 300 veaux. Vu la taille moyenne des élevages en France actuellement (72 vaches en 2023, CNIEL (2025)), ce n'est pas moins de 40 fermes qu'il fallait recruter. Il est clair qu'avec des fermes de 1000 vaches que l'on retrouve dans certains pays hors Europe, il aurait été bien plus facile d'atteindre la puissance statistique nécessaire. Dans ce type de fermes, le suivi de la mise en œuvre du protocole aurait également été facilité ; il aurait pu être réalisé par deux stagiaires veillant au respect des consignes du protocole et participant à la collecte des données. Travailler dans ces structures aurait donc permis une meilleure maîtrise des paramètres de validité interne. Toutefois, viser ces élevages de grande taille pose une autre limite méthodologique : leur faible représentativité. En France, cibler de tels élevages induirait une dégradation de la validité externe des résultats produits vu que, la conduite d'élevage y est particulière par rapport aux élevages moyens. Ce constat renforce la nécessité de reconsidérer la place de la validité externe, grande limite des études expérimentales, dès la conception des études épidémiologiques. Trop souvent reléguée derrière la puissance statistique, elle devrait devenir un critère central dès la phase de conception des études interventionnelles. Un essai modérément rigoureux mais bien accepté peut produire des connaissances plus utiles et applicables à l'échelle populationnelle qu'un protocole parfait, mais inapplicable dans les conditions réelles. Cela suppose de repenser les modèles de recherche nutritionnelle : intégrer davantage les contraintes du terrain, encourager la co-construction des protocoles avec les éleveurs, et développer des approches plus modulaires et adaptables.

En théorie, le recrutement s'appuie sur des critères d'éligibilité définis à partir de la question de recherche et des paramètres de puissance. En pratique, il s'agit d'un acte de négociation entre science et production, où l'éleveur n'est pas un sujet passif, mais un acteur à convaincre. Dans cette perspective, le recrutement peut être envisagé comme un levier de science participative : associer plus étroitement les éleveurs à la construction du protocole, voire à l'identification des contraintes, pourrait renforcer leur engagement et améliorer la qualité des données. Cette co-construction repositionne l'éleveur comme un co-acteur de la production de savoirs, contribuant à une recherche mieux ancrée dans les réalités de terrain. Du point de vue méthodologique, cette difficulté crée un biais de participation (Stadelmaier et al., 2022) : il est probable que les fermes incluses aient des profils spécifiques, par exemple, plus sensibilisées aux AG n-3, ou en recherche d'alternatives. Ce biais nuit à la validité externe et rend la généralisation des résultats hasardeuse.

Le choix de la période de tarissement, pourtant stratégique du point de vue physiopathologique, est souvent perçue comme secondaire, voire contraignante, par les éleveurs, ce qui a amplifié cette tension. La vache tarie est "non-productive" sur le plan économique. Toute modification de la routine, toute exigence supplémentaire (séparation des lots, relevés, échantillonnages), est vécue comme un coût en main-d'œuvre, en temps, et en prise de risque**.** L'entrée dans l'étude devient alors un arbitrage : quel est le retour attendu pour un investissement organisationnel certain ? Cette déconnexion entre intérêt scientifique et réalité perçue s'est traduite par un recrutement très faible, malgré des incitations et un protocole allégé. Cela rejoint les observations de Aubineau et al. (2022) sur la prévention de l'hypocalcémie à mettre en œuvre également sur cette période : si les éleveurs adhèrent aux

principes, leur mise en pratique reste souvent approximative. L'étude pilote a pu être menée grâce au soutien logistique de Valorex, mais seules trois fermes ont participé sur les cinq prévues. L'essai à grande échelle, malgré l'implication d'Innoval et Valorex, n'a pas recruté au-delà de trois exploitations, traduisant une véritable impasse épidémiologique. La période choisie (tarissement), la perception négative des contraintes, la charge de travail élevée dans les fermes à taille moyenne, et l'absence de bénéfices visibles à court terme, ont convergé vers un refus de participation. Cet échec souligne la nécessité d'intégrer les logiques sociales et économiques dans la conception des études.

A côté de cette difficulté de recrutement plus prégnante en épidémiologie nutritionnelle animale qu'en épidémiologie humaine, la mesure de l'exposition nutritionnelle est précise en milieu agricole. Contrairement à l'épidémiologie humaine, souvent confrontée à des biais de déclaration (Fontanet, 2019), des biais de mémoire des consommations alimentaires ou à l'instabilité des comportements individuels, l'élevage offre un cadre unique où l'exposition nutritionnelle peut être mesurée avec une grande précision. Les rations sont définies, planifiées à l'avance, documentées, et distribuées collectivement par lots ou par périodes. Cette traçabilité constitue un avantage méthodologique majeur pour l'épidémiologie nutritionnelle animale. Cependant, cette force ne garantit pas à elle seule la validité des études interventionnelles. Encore faut-il pouvoir constituer des groupes comparables, idéalement randomisés, au sein de systèmes d'élevage qui fonctionnent selon des logiques de production peu compatibles avec les exigences scientifiques. Chaque modification de routine, séparation des lots, enregistrements, prélèvements, perturbe l'organisation quotidienne du travail en élevage. Ainsi, la rigueur scientifique se heurte à une réalité organisationnelle et humaine complexe.

Dans ce contexte, il devient impératif d'adopter une posture méthodologique plus souple, qui conjugue les exigences de validité interne avec les contraintes du terrain. L'intégration de designs mixtes, associant prospectif et rétrospectif, l'adaptation des protocoles à la logistique des fermes, et la co-construction avec les éleveurs sont autant de leviers à mobiliser. Une telle approche s'inscrit dans la lignée des propositions en nutrition humaine : face à l'impossibilité fréquente de conduire des essais randomisés complets, il est essentiel de combiner données observationnelles, biomarqueurs, et méthodes statistiques robustes pour produire des inférences crédibles (Satija et al., 2015). Ces principes doivent désormais être transposés, avec réalisme, à l'épidémiologie nutritionnelle en santé animale. La structure de l'élevage bovin laitier français est actuellement peu propice à la mise en place d'études d'épidémiologie interventionnelle. Cependant, certaines espèces comme le porc ou la volaille, élevées en lots homogènes et synchrones, ou encore les grandes fermes nord-américaines, offrent un terrain beaucoup plus favorable à la mise en place d'essais nutritionnels rigoureux sur un nombre réduit d'exploitations mais avec de grands effectifs par site.

Face à ces réalités, les approches rétrospectives apparaissent à l'heure actuelle comme une alternative crédible, voire nécessaire. Des travaux antérieurs (Caillat et al., 2025; Meignan et al., 2019b) ont démontré qu'il était possible de reconstruire de manière fiable l'exposition nutritionnelle à partir des historiques de rations, des factures de compléments ou des bilans d'alimentation, et de les croiser avec des données sanitaires issues de bases existantes (mortalité, reproduction, production laitière, santé néonatale). Ce type de design permet de

constituer des cohortes à grande échelle, avec des effectifs suffisants pour détecter des effets faibles, dans un contexte réaliste et sans perturber l'activité des exploitations.

En ce sens, avec le recul, il aurait peut-être été plus judicieux d'adopter un design progressif : démarrer par une étude rétrospective centrée sur la santé maternelle (plus accessible et mieux documentée), pour ensuite cibler un suivi prospectif plus restreint, focalisé sur le transfert au veau, mais avec des effectifs limités et un accompagnement renforcé. L'ambition initiale, conduire un essai prospectif complet sur la santé périnatale du couple vache-veau, était scientifiquement pertinente, mais probablement prématurée au regard des conditions structurelles du terrain.

Chapitre VI. Conclusion Générale

Face à la remise en cause de l'expérimentation animale et à ses limites pour évaluer les effets de la nutrition sur la santé animale, nous avions l'ambition de développer une approche innovante d'épidémiologie nutritionnelle en élevage bovin laitier afin d'évaluer l'effet d'une supplémentation en acides gras oméga-3 durant la période tarie sur la santé et le métabolisme énergétique maternel et du veau en début de vie. Malheureusement, cette thèse n'a pas permis de mener à bien l'étude prospective à grande échelle envisagée. Le recrutement des élevages s'est heurté à des freins structurels et humains : taille des exploitations françaises, surcharge de travail des éleveurs, et difficulté à intégrer un protocole intensif, de surcroit pendant une période délicate comme le tarissement. À la lumière de cette expérience, il apparaît qu'un design prospectif exigent et multisite n'était pas adapté aux réalités du terrain.

Cet échec n'est pas définitif. Les études d'épidémiologie interventionnelles sont vraisemblablement plus facilement faisables dans d'autres espèces comme le porc ou la volaille, ou dans des fermes laitières de plus grande taille, où les tailles de lots et la standardisation des pratiques permettent de répondre plus aisément aux contraintes d'un essai randomisé contrôlé. Une autre voie, complémentaire, serait d'adopter une stratégie en deux temps : commencer par une étude rétrospective exploitant les données d'alimentation et de santé maternelle déjà disponibles dans les fermes, afin d'orienter plus finement les hypothèses et les choix de biomarqueurs ; puis, dans un second temps, mener un essai prospectif ciblé sur un sous-groupe restreint de veaux, mieux suivis. Cette thèse rapporte un témoignage approfondi de notre expérience et notre analyse des obstacles à la mise en œuvre d'une épidémiologie nutritionnelle en conditions réelles qui sera utile pour le futur. Elle a souligné que les éleveurs sont des co-acteurs indispensables, et que leur adhésion dépend de la lisibilité et de la valorisation des résultats, qu'il s'agisse de gains de vitalité néonatale, de productivité ou de simplification des pratiques.

Pour autant, cette thèse a permis des avancées concrètes et méthodologiques majeures :

1. Structuration d'un cadre fonctionnel pour l'analyse des biomarqueurs : La revue systématique a révélé un manque de consensus et de justification du choix de biomarqueurs. En réponse, cette thèse a proposé une classification en biomarqueurs d'exposition, de santé et de statut, facilitant leur utilisation dans les futures études et renforçant la valeur interprétative des résultats.
2. Identification d'un biomarqueur prédictif (IgG) : La méta-analyse a montré que la supplémentation maternelle, quel qu'en soit le type, est associée à une légère augmentation d'IgG dans le colostrum. Cependant, les voies causales n'en sont pas connues.
3. Démonstration du transfert lipidique maternel-filial : l'étude pilote a confirmé, en conditions réelles d'élevage, la faisabilité de mesurer le transfert des acides gras oméga-3 via des biomarqueurs pertinents (ALA, EPA, DHA) dans des matrices complémentaires (sérum, colostrum, lait). Chez les vaches supplémentées, une élévation du DHA a été observée dans le sérum au vêlage ainsi que dans le lait transitionnel, indiquant une incorporation métabolique effective. Chez leurs veaux, les profils lipidiques montraient également une élévation des oméga-3, avec des dynamiques différenciées selon le sexe et le moment postnatal, témoignant d'un

transfert actif et modulé. Par ailleurs, les vaches traitées ont présenté une mobilisation lipidique plus modérée, ainsi qu'une légère hausse de leur glycémie. Les veaux ont également présenté une amélioration de leur statut énergétique à une semaine d'âge.

4. Remise en question de la pertinence exclusive des matrices lactées : Le colostrum et le lait transitionnel, bien qu'utiles pour tracer l'exposition, ne suffisent pas à évaluer l'état de santé du veau. Leur capacité à refléter les effets nutritionnels réels est limitée. Une approche croisée avec des indicateurs biologiques (sérum du veau) ou cliniques est indispensable pour renforcer la validité des conclusions.

D'un point de vue méthodologique, cette thèse a permis de mobiliser plusieurs approches et design fondamentales (revue systématique, métanalyse, et étude interventionnelle randomisé contrôlé) pour conduire une recherche en épidémiologie et contribuer à me former en tant que jeune épidémiologiste.

Références

Abuelo, A. (2020). *Symposium review:* Late-gestation maternal factors affecting the health and development of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *103*(4), 3882–3893. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17278

Abuelo, A., Gandy, J. C., Neuder, L., Brester, J., & Sordillo, L. M. (2016). Short communication: Markers of oxidant status and inflammation relative to the development of claw lesions associated with lameness in early lactation cows. *Journal of Dairy Science*, *99*(7), 5640–5648. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10707

Agreste. (n.d.). *Agreste, la statistique agricole*. Retrieved July 9, 2025, from https://www.agreste.agriculture.gouv.fr/agreste-web/

Akraim, F., Nicot, M.-C., Weill, P., & Enjalbert, F. (2006). Effects of preconditioning and extrusion of linseed on the ruminal biohydrogenation of fatty acids. 2. In vitro and in situ studies. *Animal Research*, *55*(4), 261–271. https://doi.org/10.1051/animres:2006023

Albrecht, S., Lane, J. A., Mariño, K., Al Busadah, K. A., Carrington, S. D., Hickey, R. M., & Rudd, P. M. (2014). A comparative study of free oligosaccharides in the milk of domestic animals. *The British Journal of Nutrition*, *111*(7), 1313–1328. https://doi.org/10.1017/S0007114513003772

Ariza, J. M., Meignan, T., Madouasse, A., Beaudeau, F., & Bareille, N. (2019). Effects on milk quantity and composition associated with extruded linseed supplementation to dairy cow diets. *Scientific Reports*, *9*(1), Article 1. https://doi.org/10.1038/s41598-019-54193-z

Arslan, A., Kaplan, M., Duman, H., Bayraktar, A., Ertürk, M., Henrick, B. M., Frese, S. A., & Karav, S. (2021). Bovine Colostrum and Its Potential for Human Health and Nutrition. *Frontiers in Nutrition*, *8*, 651721. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.651721

Aubineau, T., Boudon, A., & Guatteo, R. (2022). Acidified diet is not effective in preventing hypocalcemia in dairy cows on French commercial farms. *Frontiers in Animal Science*, *3*, 1027183. https://doi.org/10.3389/fanim.2022.1027183

Badiei, A., Aliverdilou, A., Amanlou, H., Beheshti, M., Dirandeh, E., Masoumi, R., Moosakhani, F., & Petit, H. V. (2014). Postpartum responses of dairy cows supplemented with n-3 fatty acids for different durations during the peripartal period. *Journal of Dairy Science*, *97*(10), 6391–6399. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7743

Barile, D., Tao, N., Lebrilla, C. B., Coisson, J.-D., Arlorio, M., & German, J. B. (2009). Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, *19*(9), 524–530. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.008

Baumrucker, C. R., Burkett, A. M., Magliaro-Macrina, A. L., & Dechow, C. D. (2010). Colostrogenesis: Mass transfer of immunoglobulin G1 into colostrum. *Journal of Dairy Science*, *93*(7), 3031–3038. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2963

Bingham, S. A. (2002). Biomarkers in nutritional epidemiology. *Public Health Nutrition*, *5*(6a), 821–827. https://doi.org/10.1079/PHN2002368

Binkin, N., Sullivan, K., Staehling, N., & Nieburg, P. (1992). Rapid Nutrition Surveys: How Many Clusters are Enough? *Disasters*, *16*(2), 97–103. https://doi.org/10.1111/j.1467-7717.1992.tb00383.x

Boehm, G., & Stahl, B. (2007). Oligosaccharides from milk. *The Journal of Nutrition*, *137*(3 Suppl 2), 847S-9S. https://doi.org/10.1093/jn/137.3.847S

Boeing, H. (2013). Nutritional epidemiology: New perspectives for understanding the diet-disease relationship? *European Journal of Clinical Nutrition*, *67*(5), 424–429. https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.47

Bonita, R., Beaglehole, R., Kjellström, T., & World Health Organization. (2010). *Éléments d'épidémiologie*. https://iris.who.int/handle/10665/44055

Boquien, C.-Y. (2018). Human Milk: An Ideal Food for Nutrition of Preterm Newborn. *Frontiers in Pediatrics*, *6*, 1–9. https://doi.org/10.3389/fped.2018.00295

BROWN, A. W., ASLIBEKYAN, S., BIER, D., DA SILVA, R. F., HOOVER, A., KLURFELD, D. M., LOKEN, E., MAYO-WILSON, E., MENACHEMI, N., PAVELA, G., QUINN, P. D., SCHOELLER, D., TEKWE, C., VALDEZ, D., VORLAND, C. J., WHIGHAM, L. D., & ALLISON, D. B. (2023). Toward more rigorous and informative nutritional epidemiology: The rational space between dismissal and defense of the status quo. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(18), 3150–3167. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1985427

Brunschwig, P., Hurtaud, C., Chilliard, Y., & Glasser, F. (2010). L'apport de lin dans la ration des vaches laitières: Effets sur la production, la composition du lait et des produits laitiers, les émissions de méthane et les performances de reproduction. *INRAE Productions Animales*, *23*(4), Article 4. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2010.23.4.3310

Caillat, M., Bareille, N., & Chacon, J. M. A. (2025). *Évaluation des effets de la luzerne sur les performances des vaches laitières grâce à l'épidémiologie nutritionnelle*.

Calder, P. C. (2013). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: Nutrition or pharmacology? *British Journal of Clinical Pharmacology*, *75*(3), 645–662. https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04374.x

Carter, H. S. M., Renaud, D. L., Steele, M. A., Fischer-Tlustos, A. J., & Costa, J. H. C. (2021). A Narrative Review on the Unexplored Potential of Colostrum as a Preventative Treatment and Therapy for Diarrhea in Neonatal Dairy Calves. *Animals*, *11*(8), Article 8. https://doi.org/10.3390/ani11082221

Cascone, G., Licitra, F., Stamilla, A., Amore, S., Dipasquale, M., Salonia, R., Antoci, F., & Zecconi, A. (2022). Subclinical Ketosis in Dairy Herds: Impact of Early Diagnosis and Treatment. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.895468

Chapuy, M. C., Arlot, M. E., Duboeuf, F., Brun, J., Crouzet, B., Arnaud, S., Delmas, P. D., & Meunier, P. J. (1992). Vitamin D3 and calcium to prevent hip fractures in elderly women. *The New England Journal of Medicine*, *327*(23), 1637–1642. https://doi.org/10.1056/NEJM199212033272305

CNIEL. (2025). *Bienvenue sur le site de l'interprofession laitière | Cniel*. L'économie Laitière En Chiffres - Edition 2025. https://www.cniel.com/sites/default/files/2025-06/L%27%C3%A9conomie%20laiti%C3%A8re%20en%20chiffres%20-%20Edition%202025_0.pdf

Crider, K. S., Bailey, L. B., & Berry, R. J. (2011). Folic Acid Food Fortification—Its History, Effect, Concerns, and Future Directions. *Nutrients*, *3*(3), 370–384. https://doi.org/10.3390/nu3030370

Cruz, V. A., Marques, R. S., Kvamme, K., Limede, A. C., Cidrini, F. A. A., Cidrini, I. A., Nascimento, K. S., Harvey, K. M., Llarena, J. F. C., & Cooke, R. F. (2025). Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation to first-calf beef heifers during late gestation on offspring physiology and performance. *Journal of Animal Science*, *103*, skaf091. https://doi.org/10.1093/jas/skaf091

Czumaj, A., & Śledziński, T. (2020). Biological Role of Unsaturated Fatty Acid Desaturases in Health and Disease. *Nutrients*, *12*(2), 356. https://doi.org/10.3390/nu12020356

Dado-Senn, B., Skibiel, A. L., Fabris, T. F., Dahl, G. E., & Laporta, J. (2019). Dry period heat stress induces microstructural changes in the lactating mammary gland. *PLoS ONE*, *14*(9), e0222120. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222120

Dalez, B., Crenn, O., Meline, B., Bareille, S., Fournier, R., & Chastant, S. (2018). *JOURNÉES NATIONALES GTV - NANTES 2018*.

Danicke, S., Kowalczyk, J., Renner, L., Pappritz, J., Meyer, U., Kramer, R., Weber, E., Doll, S., Rehage, J., Jahreis, G., Daenicke, S., Kowalczyk, J., Renner, L., Pappritz, J., Meyer, U., Kramer, R., Weber, E.-M., Doell, S., Rehage, J., & Jahreis, G. (2012). Effects of conjugated linoleic acids fed to dairy cows during early gestation on hematological, immunological, and metabolic characteristics of cows and their calves. *JOURNAL OF DAIRY SCIENCE*, *95*(7), 3938–3953. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4879

Decsi, T., & Kennedy, K. (2011). Sex-specific differences in essential fatty acid metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *94*(6 Suppl), 1914S-1919S. https://doi.org/10.3945/ajcn.110.000893

Didara, M., Poljičak-Milas, N., Milinković-Tur, S., Mašek, T., Šuran, J., Pavić, M., Kardum, M., & Šperanda, M. (2015). Immune and oxidative response to linseed in the diet of periparturient Holstein cows. *Animal*, *9*(8), 1349–1354. https://doi.org/10.1017/S1751731115000439

Donnars, C., Dumont, B., & Dupraz, P. (2016). Évaluer les impacts et services issus des élevages en Europe. *Pour*, *231*(3), 129–136. https://doi.org/10.3917/pour.231.0129

Donovan, D. C., Schingoethe, D. J., Baer, R. J., Ryali, J., Hippen, A. R., & Franklin, S. T. (2000). Influence of Dietary Fish Oil on Conjugated Linoleic Acid and Other Fatty Acids in Milk Fat from Lactating Dairy Cows1. *Journal of Dairy Science*, *83*(11), 2620–2628. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75155-1

Doreau, M., Laverroux, S., Normand, J., Chesneau, G., & Glasser, F. (2009). Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. *Lipids*, *44*(1), 53–62. https://doi.org/10.1007/s11745-008-3250-x

dos Santos Silva, P., Kra, G., Butenko, Y., Daddam, J. R., Levin, Y., & Zachut, M. (2024). Maternal supplementation with n-3 fatty acids affects placental lipid metabolism, inflammation, oxidative stress, the endocannabinoid system, and the neonate cytokine concentrations in dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *15*, 74. https://doi.org/10.1186/s40104-024-01033-4

Drackley, J. K. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: The Final Frontier? *Journal of Dairy Science*, *82*(11), 2259–2273. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3

Ducrot, C., Barrio, M. B., Boissy, A., Charrier, F., Even, S., Mormède, P., Petit, S., Laan, M.-H. P.-V. D., Schelcher, F., Casabianca, F., Ducos, A., Foucras, G., Guatteo, R., Peyraud, J.-L., Vayssier-Taussat, M., Veysset, P., Friggens, N. C., & Fernandez, X. (2024). Améliorer conjointement la santé et le bien-être des animaux dans la transition des systèmes d'élevage vers la durabilité. *INRAE Productions Animales*, *37*(3), Article 3. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2024.37.3.8149

Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C., & Moncoulon, R. (2001). Ketone Bodies in Milk and Blood of Dairy Cows: Relationship between Concentrations and Utilization for Detection of Subclinical Ketosis. *Journal of Dairy Science*, *84*(3), 583–589. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74511-0

Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E. C., & Chapwanya, A. (2014). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, *144*(3–4), 60–71. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.007

Fabjanowska, J., Kowalczuk-Vasilev, E., Klebaniuk, R., Milewski, S., & Gümüş, H. (2023). N-3 Polyunsaturated Fatty Acids as a Nutritional Support of the Reproductive and Immune System of Cattle-A Review. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *13*(22), 3589. https://doi.org/10.3390/ani13223589

Ferlay, A., Martin, B., Lerch, S., Gobert, M., Pradel, P., & Chilliard, Y. (2010). Effects of supplementation of maize silage diets with extruded linseed, vitamin E and plant extracts rich in polyphenols, and morning *v*. Evening milking on milk fatty acid profiles in Holstein and Montbéliarde cows. *Animal*, *4*(4), 627–640. https://doi.org/10.1017/S1751731109991224

Festing, S., & Wilkinson, R. (2007). The ethics of animal research. Talking Point on the use of animals in scientific research. *EMBO Reports*, *8*(6), 526–530. https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400993

Fischer-Tlustos, A. J., Hertogs, K., van Niekerk, J. K., Nagorske, M., Haines, D. M., & Steele, M. A. (2020). Oligosaccharide concentrations in colostrum, transition milk, and mature milk of primi- and multiparous Holstein cows during the first week of lactation. *Journal of Dairy Science*, *103*(4), 3683–3695. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17357

Fischer-Tlustos, A. J., Lopez, A., Hare, K. S., Wood, K. M., & Steele, M. A. (2021). Effects of colostrum management on transfer of passive immunity and the potential role of colostral bioactive components on neonatal calf development and metabolism. *Canadian Journal of Animal Science*, *101*(3), 405–426. https://doi.org/10.1139/cjas-2020-0149

Fontanet, A. (2019). L'épidémiologie ou la science de l'estimation du risque en santé publique: Leçon inaugurale prononcée au Collège de France le jeudi 31 janvier 2019. In *L'épidémiologie ou la science de l'estimation du risque en santé publique: Leçon inaugurale prononcée le jeudi 31 janvier 2019*. Collège de France. https://doi.org/10.4000/books.cdf.8273

Fukushima, Y., Kino, E., Furutani, A., Minamino, T., Mikurino, Y., Horii, Y., Honkawa, K., & Sasaki, Y. (2020). Epidemiological study to investigate the incidence and prevalence of clinical mastitis, peracute mastitis, metabolic disorders and peripartum disorders, on a dairy farm in a temperate zone in Japan. *BMC Veterinary Research*, *16*, 389. https://doi.org/10.1186/s12917-020-02613-y

Garcia, Greco LF, Favoreto MG, Marsola RS, Martins LT, Bisinotto RS, Shin JH, Lock AL, Block E, Thatcher WW, Santos JE, & Staples CR. (2014). Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. *Journal of Dairy Science*, *97*(1), 392–405. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7086

Garcia M, Greco LF, Favoreto MG, Marsola RS, Martins LT, Bisinotto RS, Shin JH, Lock AL, Block E, Thatcher WW, Santos JE, & Staples CR. (2014). Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. *Journal of Dairy Science*, *97*(1), 392–405. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7086

Gibson, R. (2024). Principles of Nutritional Assessment. *The Journal of Nutrition*, *133 Suppl 3*. https://doi.org/10.1093/jn/133.3.875S

GIS Avenir Elevages. (2021). *Synthèse "Les emplois liés à l'élevage français."* https://www.gis-avenir-elevages.org/ressources/archives-du-gis-elevages-demain/actions-thematiques/emplois-lies-a-l-elevage/synthese-les-emplois-lies-a-l-elevage-francais?utm_source=chatgpt.com

GIS Avenir Elevages, G. A. (2023). *Services rendus par l'élevage*. https://www.gis-avenir-elevages.org/ressources/archives-du-gis-elevages-demain/actions-thematiques/services-rendus-par-l-elevage

Glasser, F., Schmidely, P., Sauvant, D., & Doreau, M. (2008). Digestion of fatty acids in ruminants: A meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal*, *2*(5), 691–704. https://doi.org/10.1017/S1751731108002036

Goff, J. P., & Horst, R. L. (1997). Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *Journal of Dairy Science*, *80*(7), 1260–1268. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7

Gonthier, C., Mustafa, A. F., Ouellet, D. R., Chouinard, P. Y., Berthiaume, R., & Petit, H. V. (2005). Feeding Micronized and Extruded Flaxseed to Dairy Cows: Effects on Blood Parameters and Milk Fatty Acid Composition. *Journal of Dairy Science*, *88*(2), 748–756. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72738-7

Gopal, P. K., & Gill, H. S. (2000). Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *The British Journal of Nutrition*, *84 Suppl 1*, S69-74. https://doi.org/10.1017/s0007114500002270

Grodkowska, K., Gołębiewski, M., Slósarz, J., Sakowski, T., & Puppel, K. (2023). The effect of supplementation using a mixture of fish oil and linseed on the level of immunomodulatory components in bovine colostrum. *Molecules*, *28*(5). CABI Databases. https://doi.org/10.3390/molecules28052154

Grossi, P., Bertoni, G., Cappelli, F. P., & Trevisi, E. (2013). Effects of the precalving administration of omega-3 fatty acids alone or in combination with acetylsalicylic acid in periparturient dairy cows1. *Journal of Animal Science*, *91*(6), 2657–2666. https://doi.org/10.2527/jas.2012-5661

Guillevic, M., Kouba, M., & Mourot, J. (2009). Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat Science*, *81*(4), 612–618. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.10.019

Gulliksen, S. M., Lie, K. I., Sølverød, L., & Østerås, O. (2008). Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *91*(2), 704–712. https://doi.org/10.3168/jds.2007-0450

Hashemzadeh-Cigari, F., Ghorbani, G. R., Khorvash, M., Riasi, A., Taghizadeh, A., & Zebeli, Q. (2015). Supplementation of herbal plants differently modulated metabolic profile, insulin sensitivity, and oxidative stress in transition dairy cows fed various extruded oil seeds. *Preventive Veterinary Medicine*, *118*(1), 45–55. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.10.013

Hazards, E. P. on B., Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., Fernández Escámez, P. S., Girones, R., Koutsoumanis, K., Lindqvist, R., Nørrung, B., Robertson, L., Ru, G., Sanaa, M., Simmons, M., Skandamis, P., Snary, E., Speybroeck, N., Kuile, B. T., … Herman, L. (2017). Risk for the development of Antimicrobial Resistance (AMR) due to feeding of calves with milk containing residues of antibiotics. *EFSA Journal*, *15*(1), e04665. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4665

Idele. (2023, September 11). *Les chiffres clés de l'alimentation des vaches laitières*. Institut de l'Élevage. https://idele.fr/detail-article/chiffres-cles-de-lalimentation-des-vaches-laitieres

Ingvartsen, K. L., & Andersen, J. B. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science*, *83*(7), 1573–1597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75029-6

INRA, Noziere, P., Sauvant, D., & Delaby, L. (2018). *INRA Feeding System for Ruminants* (p. 640 p.). Wageningen Academic Publishers. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-292-4

Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Dermarquilly, C., Farce, M., & Journet, M. (1995). *Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion*. Editions Quae.

Jessop, E., Li, L., Renaud, D. L., Verbrugghe, A., Macnicol, J., Gamsjäger, L., & Gomez, D. E. (2024). Neonatal Calf Diarrhea and Gastrointestinal Microbiota: Etiologic Agents and Microbiota Manipulation for Treatment and Prevention of Diarrhea. *Veterinary Sciences*, *11*(3), Article 3. https://doi.org/10.3390/vetsci11030108

Jolazadeh, A. R., Mohammadabadi, T., Dehghan-Banadaky, M., Chaji, M., & Garcia, M. (2019). Effect of supplementation fat during the last 3 weeks of uterine life and the preweaning period on performance, ruminal fermentation, blood metabolites, passive immunity and health of the newborn calf. *The British Journal of Nutrition*, *122*(12), 1346–1358. https://doi.org/10.1017/S0007114519002174

Julien, W. E., Conrad, H. R., Jones, J. E., & Moxon, A. L. (1976). Selenium and Vitamin E and Incidence of Retained Placenta in Parturient Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, *59*(11), 1954–1959. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84467-0

Lam, T. J. G. M., Gonggrijp, M. A., Velthuis, A. G. J., Pikkemaat, M. G., Santman-Berends, I. M. G. A., & Heuvelink, A. E. (2025). Residues of dry cow antimicrobials in colostrum and extended-spectrum and AmpC β-lactamase producing *Escherichia coli* in feces from young dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *108*(3), 2995–3006. https://doi.org/10.3168/jds.2024-25353

Lancaster, G. A., Dodd, S., & Williamson, P. R. (2004). Design and analysis of pilot studies: Recommendations for good practice. *Journal of Evaluation in Clinical Practice*, *10*(2), 307–312. https://doi.org/10.1111/j..2002.384.doc.x

Larqué, E., Demmelmair, H., Gil-Sánchez, A., Prieto-Sánchez, M. T., Blanco, J. E., Pagán, A., Faber, F. L., Zamora, S., Parrilla, J. J., & Koletzko, B. (2011). Placental transfer of fatty acids and fetal implications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *94*(6 Suppl), 1908S-1913S. https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001230

Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, *25*, 1–18. https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01

LeBlanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *The Journal of Reproduction and Development*, *56 Suppl*, S29-35. https://doi.org/10.1262/jrd.1056s29

LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on

reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *85*(9), 2223–2236. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74302-6

LeBlanc, S. J., Herdt, T. H., Seymour, W. M., Duffield, T. F., & Leslie, K. E. (2004). Peripartum Serum Vitamin E, Retinol, and Beta-Carotene in Dairy Cattle and Their Associations with Disease. *Journal of Dairy Science*, *87*(3), 609–619. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73203-8

Leclerc, H., & Block, E. (1989). Effects of reducing dietary cation-anion balance for prepartum dairy cows with specific reference to hypocalcemic parturient paresis. *Canadian Journal of Animal Science*, *69*(2), 411–423. https://doi.org/10.4141/cjas89-046

Leduc, M., Létourneau-Montminy, M.-P., Gervais, R., & Chouinard, P. Y. (2017). Effect of dietary flax seed and oil on milk yield, gross composition, and fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science*, *100*(11), 8906–8927. https://doi.org/10.3168/jds.2017-12637

Lerch, S., Pires, J. a. A., Delavaud, C., Shingfield, K. J., Pomiès, D., Martin, B., Chilliard, Y., & Ferlay, A. (2015). Rapeseed or linseed in dairy cow diets over 2 consecutive lactations: Effects on adipose fatty acid profile and carry-over effects on milk fat composition in subsequent early lactation. *Journal of Dairy Science*, *98*(2), 1005–1018. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8578

Lessard, M., Gagnon, N., Godson, D. L., & Petit, H. V. (2004). Influence of Parturition and Diets Enriched in n-3 or n-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Immune Response of Dairy Cows During the Transition Period. *Journal of Dairy Science*, *87*(7), 2197–2210. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70040-5

Liermann, W., Uken, K. L., Schäff, C., Vogel, L., Gnott, M., Tuchscherer, A., Trevisi, E., Stefaniak, T., Sauerwein, H., Tröscher, A., & Hammon, H. M. (2021). Effects of a Maternal Essential Fatty Acid and Conjugated Linoleic Acid Supplementation during Late Pregnancy and Early Lactation on Hematologic and Immunological Traits and the Oxidative and Anti-Oxidative Status in Blood Plasma of Neonatal Calves. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *11*(8), 2168. https://doi.org/10.3390/ani11082168

Ling, T., Hernandez-Jover, M., Sordillo, L. M., & Abuelo, A. (2018). Maternal late-gestation metabolic stress is associated with changes in immune and metabolic responses of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *101*(7), 6568–6580. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14038

Liu, X., Zhang, X., He, Q., Sun, X., Wang, W., & Li, S. (2025). Effects of increasing n3:n6 ratio by replacing extruded soybeans with extruded flaxseed on dry matter intake, rumen fluid bacteria, and liver lipid metabolism in transition cows. *BMC Microbiology*, *25*(1), 138. https://doi.org/10.1186/s12866-024-03733-3

Lopreiato, V., Mezzetti, M., Cattaneo, L., Ferronato, G., Minuti, A., & Trevisi, E. (2020). Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *11*(1), 96. https://doi.org/10.1186/s40104-020-00501-x

Magrini, & Duru. (2014). *Dynamiques d'innovation dans l'alimentation des bovins-lait: Une analyse du processus de diffusion de la démarche "Bleu-Blanc-Coeur" et de ses répercussions*. https://abiodoc.docressources.fr/index.php?lvl=notice_display&id=30655

Magrini, M.-B., Charrier, F., & Duru, M. (2014). *Transition agroécologique et synergies entre filières du végétal et de l'animal. Une analyse de la niche d'innovation Bleu-Blanc-Coeur*.

Mahmood, S. S., Levy, D., Vasan, R. S., & Wang, T. J. (2014). The Framingham Heart Study and the Epidemiology of Cardiovascular Diseases: A Historical Perspective. *Lancet*, *383*(9921), 999–1008. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61752-3

Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Bestwick, C. S., Richardson, A. J., McKain, N., Larson, T. R., Graham, I. A., & Wallace, R. J. (2010). Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, Butyrivibrio fibrisolvens. *BMC Microbiology*, *10*(1), 52. https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-52

Maiya, S., Sullivan, I., Allgrove, J., Yates, R., Malone, M., Brain, C., Archer, N., Mok, Q., Daubeney, P., Tulloh, R., & Burch, M. (2008). Hypocalcaemia and vitamin D deficiency: An important, but

preventable, cause of life-threatening infant heart failure. *Heart*, *94*(5), 581–584. https://doi.org/10.1136/hrt.2007.119792

Mann, S., Leal Yepes, F. A., Overton, T. R., Lock, A. L., Lamb, S. V., Wakshlag, J. J., & Nydam, D. V. (2016). Effect of dry period dietary energy level in dairy cattle on volume, concentrations of immunoglobulin G, insulin, and fatty acid composition of colostrum. *Journal of Dairy Science*, *99*(2), 1515–1526. https://doi.org/10.3168/jds.2015-9926

Marcato, F., van den Brand, H., Kemp, B., & van Reenen, K. (2018). Evaluating Potential Biomarkers of Health and Performance in Veal Calves. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*, 133. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00133

Margetts, B. M., & Nelson, M. (1997). *Design Concepts in Nutritional Epidemiology*. OUP Oxford.

Marshall, J. R. (2003). Methodologic and Statistical Considerations Regarding Use of Biomarkers of Nutritional Exposure in Epidemiology. *The Journal of Nutrition*, *133*(3), 881S-887S. https://doi.org/10.1093/jn/133.3.881S

Massonnat, L. (2002). *Les acides gras chez la femme enceinte*.

Mavangira, V., & Sordillo, L. M. (2018). Role of lipid mediators in the regulation of oxidative stress and inflammatory responses in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, *116*, 4–14. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.08.002

Mee, J. (2023). Impacts of dairy cow nutrition precalving on calf health. *JDS Communications*, *4*(3), 245–249. CABI Databases. https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0281

Mee, J. F. (2023). Invited review: Bovine neonatal morbidity and mortality—Causes, risk factors, incidences, sequelae and prevention. *Reproduction in Domestic Animals*, *58*(S2), 15–22. https://doi.org/10.1111/rda.14369

Meignan, T. (2017). *Effects of feeding extruded linseed on production performance and milk fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis* (6). *100*(6), Article 6.

Meignan, T., Lechartier, C., Chesneau, G., & Bareille, N. (2017). Effects of feeding extruded linseed on production performance and milk fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, *100*(6), 4394–4408. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11850

Meignan, T., Madouasse, A., Beaudeau, F., Ariza, J. M., Lechartier, C., & Bareille, N. (2019a). Does feeding extruded linseed to dairy cows improve reproductive performance in dairy herds? An observational study. *Theriogenology*, *125*, 293–301. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.020

Meignan, T., Madouasse, A., Beaudeau, F., Ariza, J. M., Lechartier, C., & Bareille, N. (2019b). Does feeding extruded linseed to dairy cows improve reproductive performance in dairy herds? An observational study. *Theriogenology*, *125*, 293–301. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.020

Merrill, R. M. (2024). *Introduction to Epidemiology*. Jones & Bartlett Learning.

Middleton, P., Gomersall, J. C., Gould, J. F., Shepherd, E., Olsen, S. F., & Makrides, M. (2018). Omega-3 fatty acid addition during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *11*. https://doi.org/10.1002/14651858.CD003402.pub3

Moallem, U. (2018). Invited review: Roles of dietary n-3 fatty acids in performance, milk fat composition, and reproductive and immune systems in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 8641–8661. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14772

Moallem, U., Shafran, A., Zachut, M., Dekel, I., Portnick, Y., & Arieli, A. (2013). Dietary α-linolenic acid from flaxseed oil improved folliculogenesis and IVF performance in dairy cows, similar to eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids from fish oil. *Reproduction (Cambridge, England)*, *146*(6), 603–614. https://doi.org/10.1530/REP-13-0244

Mohammadi, M., Babaei, M., & Shahneh, A. Z. (2015). Effect of using extruded linseed on colostrum production, composition, some blood parameters and overall health in Holstein dairy cows. ID - 20153253240. *Advances in Applied Science Research*, *6*(2), 29–34.

Muller, L. D., & Owens, M. J. (1974). Factors Associated with the Incidence of Retained Placentas1, 2. *Journal of Dairy Science*, *57*(6), 725–728. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(74)84956-8

Opgenorth, J., Sordillo, L. M., & VandeHaar, M. J. (2020a). Colostrum supplementation with n-3 fatty acids and α-tocopherol alters plasma polyunsaturated fatty acid profile and decreases an indicator of oxidative stress in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, *103*(4), 3545–3553. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17380

Opgenorth, J., Sordillo, L. M., & VandeHaar, M. J. (2020b). Colostrum supplementation with n-3 fatty acids and α-tocopherol alters plasma polyunsaturated fatty acid profile and decreases an indicator of oxidative stress in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, *103*(4), Article 4. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17380

Or-Rashid, M. M., Fisher, R., Karrow, N., Alzahal, O., & McBride, B. W. (2010). Fatty acid profile of colostrum and milk of ewes supplemented with fish meal and the subsequent plasma fatty acid status of their lambs. *Journal of Animal Science*, *88*(6), 2092–2102. https://doi.org/10.2527/jas.2009-1895

Pardon, B., De Bleecker, K., Hostens, M., Callens, J., Dewulf, J., & Deprez, P. (2012). Longitudinal study on morbidity and mortality in white veal calves in Belgium. *BMC Veterinary Research*, *8*(1), Article 1. https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-26

Pariza, M. W. (1997). Animal studies: Summary, gaps, and future research. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *66*(6 Suppl), 1539S-1540S. https://doi.org/10.1093/ajcn/66.6.1539S

Pereira, G., Simões, P., Bexiga, R., Silva, E., Mateus, L., Fernandes, T., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., & Lopes-da-Costa, L. (2022). Effects of feeding rumen-protected linseed fat to postpartum dairy cows on plasma n-3 polyunsaturated fatty acid concentrations and metabolic and reproductive parameters. *Journal of Dairy Science*, *105*(1), 361–374. https://doi.org/10.3168/jds.2021-20674

Perera, T. R. W., Skerrett-Byrne, D. A., Gibb, Z., Nixon, B., & Swegen, A. (2022). The Future of Biomarkers in Veterinary Medicine: Emerging Approaches and Associated Challenges. *Animals*, *12*(17), Article 17. https://doi.org/10.3390/ani12172194

Perrin, J.-B., Ducrot, C., Vinard, J. L., Hendrikx, P., & Calavas, D. (2011). Analyse de la mortalité bovine en France de 2003 à 2009. *INRA Productions Animales*, *24*(3), 235–244.

Petit, H. V. (2010). Review: Feed intake, milk production and milk composition of dairy cows fed flaxseed. *Canadian Journal of Animal Science*, *90*(2), 115–127. https://doi.org/10.4141/CJAS09040

Plata-Pérez, G., Angeles-Hernandez, J. C., Morales-Almaráz, E., Del Razo-Rodríguez, O. E., López-González, F., Peláez-Acero, A., Campos-Montiel, R. G., Vargas-Bello-Pérez, E., & Vieyra-Alberto, R. (2022). Oilseed Supplementation Improves Milk Composition and Fatty Acid Profile of Cow Milk: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, *12*(13), 1642. https://doi.org/10.3390/ani12131642

Raphael, W., Halbert, L., Contreras, G. A., & Sordillo, L. M. (2014). Association between polyunsaturated fatty acid-derived oxylipid biosynthesis and leukocyte inflammatory marker expression in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *97*(6), 3615–3625. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7656

Raphael, W., & Sordillo, L. M. (2013). Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammation: The role of phospholipid biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(10), 21167–21188. https://doi.org/10.3390/ijms141021167

Renaud, D., & Pardon, B. (2022). Preparing Male Dairy Calves for the Veal and Dairy Beef Industry. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *38*(1), 77–92. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2021.11.006

Ryman, V. E., Packiriswamy, N., Norby, B., Schmidt, S. E., Lock, A. L., & Sordillo, L. M. (2017). Supplementation of linoleic acid (C18:2n-6) or α-linolenic acid (C18:3n-3) changes microbial agonist-induced oxylipid biosynthesis. *Journal of Dairy Science*, *100*(3), 1870–1887. https://doi.org/10.3168/jds.2016-11599

Ryschawy, J., Tichit, M., Bertrand, S., Allaire, G., Plantureux, S., Aznar, O., Perrot, C., Guinot, C., Josien, E., Lasseur, J., Aubert, C., Tchakerian, E., & Disenhaus, C. (2020). Comment évaluer les services rendus par l'élevage ? Une première approche méthodologique sur le cas de la

France. *INRA Productions Animales*, *28*(1), 23–38. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2015.28.1.3008

Saini, R. K., Prasad, P., Sreedhar, R. V., Akhilender Naidu, K., Shang, X., & Keum, Y.-S. (2021). Omega−3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs): Emerging Plant and Microbial Sources, Oxidative Stability, Bioavailability, and Health Benefits—A Review. *Antioxidants*, *10*(10), 1627. https://doi.org/10.3390/antiox10101627

Salehi R, Ambrose DJ, & Oba M. (2016). Short communication: Effects of prepartum diets supplemented with rolled oilseeds on Brix values and fatty acid profile of colostrum. *Journal of Dairy Science*, *99*(5), 3598–3601. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10189

Santos, N. W., Yoshimura, E. H., Machado, E., Matumoto-Pintro, P. T., Montanher, P. F., Visentainer, J. V., dos Santos, G. T., & Zeoula, L. M. (2016). Antioxidant effects of a propolis extract and vitamin E in blood and milk of dairy cows fed diet containing flaxseed oil. *Livestock Science*, *191*, 132–138. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.07.012

Santschi, D. E., Wettstein, H.-R., Leiber, F., Witschi, A.-K. M., & Kreuzer, M. (2009). Colostrum and milk fatty acids of dairy cows as influenced by extruded linseed supplementation during the transition period. *Canadian Journal of Animal Science*, *89*(3), 383–392. https://doi.org/10.4141/CJAS08115

Sanzen, I., Matsumura, K., Tsuchida, A., Hamazaki, K., & Inadera, H. (2025). Dietary intake of omega-3 PUFAs and fish in relation to mother-to-infant bonding in the Japan Environment and Children's Study. *Scientific Reports*, *15*(1), 19548. https://doi.org/10.1038/s41598-025-02983-z

Sargeant, J. M., O'Connor, A. M., Gardner, I. A., Dickson, J. S., Torrence, M. E., Participants, C. M., Dohoo, I. R., Lefebvre, S. L., Morley, P. S., Ramirez, A., & Snedeker, K. (2010). The REFLECT Statement: Reporting Guidelines for Randomized Controlled Trials in Livestock and Food Safety: Explanation and Elaboration†. *Zoonoses and Public Health*, *57*(2), 105–136. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01312.x

Satija, A., Yu, E., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2015). Understanding nutritional epidemiology and its role in policy. *Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)*, *6*(1), 5–18. https://doi.org/10.3945/an.114.007492

Serhal, L., Ariza, J. M., & Bareille, N. (2025). Systematic review and meta-analysis of biomarkers measured in colostrum and transition milk of beef and dairy cows following maternal dietary supplementation during the dry period. *Preventive Veterinary Medicine*, *243*, 106604. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2025.106604

Serhal, L., Ariza, J.-M., & Bareille, N. (2023). *A new Era of Veterinary Medicine: « Nutritional Epidemiology »*.

Shimonovich, M., Pearce, A., Thomson, H., Keyes, K., & Katikireddi, S. V. (2021). Assessing causality in epidemiology: Revisiting Bradford Hill to incorporate developments in causal thinking. *European Journal of Epidemiology*, *36*(9), 873–887. https://doi.org/10.1007/s10654-020-00703-7

Silva, F. G., Silva, S. R., Pereira, A. M. F., Cerqueira, J. L., & Conceição, C. (2024). A Comprehensive Review of Bovine Colostrum Components and Selected Aspects Regarding Their Impact on Neonatal Calf Physiology. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, *14*(7), 1130. https://doi.org/10.3390/ani14071130

Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *128*(1–3), 104–109. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305

Stadelmaier, J., Roux, I., Petropoulou, M., & Schwingshackl, L. (2022). Empirical evidence of study design biases in nutrition randomised controlled trials: A meta-epidemiological study. *BMC Medicine*, *20*(1), 330. https://doi.org/10.1186/s12916-022-02540-9

Sterk, A., Hovenier, R., Vlaeminck, B., van Vuuren, A. M., Hendriks, W. H., & Dijkstra, J. (2010). Effects of chemically or technologically treated linseed products and docosahexaenoic acid addition

to linseed oil on biohydrogenation of C18:3n-3 in vitro. *Journal of Dairy Science*, *93*(11), 5286–5299. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3144

Sterk, A., Vlaeminck, B., van Vuuren, A. M., Hendriks, W. H., & Dijkstra, J. (2012). Effects of feeding different linseed sources on omasal fatty acid flows and fatty acid profiles of plasma and milk fat in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *95*(6), 3149–3165. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4474

Stevenson, J. S., Banuelos, S., & Mendonça, L. G. D. (2020). Transition dairy cow health is associated with first postpartum ovulation risk, metabolic status, milk production, rumination, and physical activity. *Journal of Dairy Science*, *103*(10), 9573–9586. https://doi.org/10.3168/jds.2020-18636

Sun, X., Guo, C., Zhang, Y., Wang, Q., Yang, Z., Wang, Z., Wang, W., Cao, Z., Niu, M., & Li, S. (2023). Effect of diets enriched in n-6 or n-3 fatty acids on dry matter intake, energy balance, oxidative stress, and milk fat profile of transition cows. In *JOURNAL OF DAIRY SCIENCE* (Vol. 106, Issue 8, pp. 5416–5432). ELSEVIER SCIENCE INC.

Sundrum, A. (2015). Metabolic Disorders in the Transition Period Indicate that the Dairy Cows' Ability to Adapt is Overstressed. *Animals : An Open Access Journal from MDPI*, *5*(4), 978–1020. https://doi.org/10.3390/ani5040395

Suthar, V. S., Canelas-Raposo, J., Deniz, A., & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *96*(5), 2925–2938. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6035

Tam, V. C. (2013). Lipidomic profiling of bioactive lipids by mass spectrometry during microbial infections. *Seminars in Immunology*, *25*(3), 240–248. https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.08.006

Terral, H., & Laurent, A. (2019). *Impact du déficit énergétique sur les performances de reproduction de troupeaux allaitants suivis dans le cadre d'une clientèle vétérinaire*.

Thibault, R., Schmitt, B., Legrand, P., Catheline, D., Guillevic, M., Rousseau, C., Boudry, G., Maternel, U. P.-C. L., Weill, P., & Mairesse, G. (2024). Diet covering the needs for polyunsaturated fatty acids (pufa) omega-3 (N-3) in pregnant and lactating women allows to increase their levels in breast milk: An open prospective randomized study. *Clinical Nutrition ESPEN*, *63*, 1265. https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.07.905

Uken, K. L., Vogel, L., Gnott, M., Görs, S., Schäff, C. T., Tuchscherer, A., Hoeflich, A., Weitzel, J. M., Kanitz, E., Tröscher, A., Sauerwein, H., Zitnan, R., Bruckmaier, R. M., Gross, J. J., Liermann, W., & Hammon, H. M. (2021). Effect of maternal supplementation with essential fatty acids and conjugated linoleic acid on metabolic and endocrine development in neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, *104*(6), 7295–7314. https://doi.org/10.3168/jds.2020-20039

Uken, K., Schaff, C., Vogel, L., Gnott, M., Dannenberger, D., Gors, S., Tuchscherer, A., Troscher, A., Liermann, W., Hammon, H., Uken, K. L., Schaeff, C. T., Vogel, L., Gnott, M., Dannenberger, D., Goers, S., Tuchscherer, A., Troescher, A., Liermann, W., & Hammon, H. M. (2021). Modulation of colostrum composition and fatty acid status in neonatal calves by maternal supplementation with essential fatty acids and conjugated linoleic acid starting in late lactation. *JOURNAL OF DAIRY SCIENCE*, *104*(4), 4950–4969. https://doi.org/10.3168/jds.2020-19627

Urban, D., Chevance, A., Bouchard, D., Chauvin, C., Orand, J.-P., & Moulin, G. (2022). Réduction de l'utilisation des antibiotiques en filières animales: Quelles mesures, quels résultats, quelles perspectives ? *INRAE Productions Animales*, *35*(4), Article 4. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2022.35.4.7189

Urie, N. J., Lombard, J. E., Shivley, C. B., Kopral, C. A., Adams, A. E., Earleywine, T. J., Olson, J. D., & Garry, F. B. (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves. *Journal of Dairy Science*, *101*(10), 9229–9244. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14019

Valorex. (2022). Valorex—L'indice de rationnement zootechnique IT3 [IT3 chez les ruminants : mieux produire grace à un indice de rationnement en matière grasse]. *Valorex*. https://www.valorex.com/indice-rationnement-zootechnique-it3/

Vries, J., Antoine, J.-M., Burzykowski, T., Chiodini, A., Gibney, M., Kuhnle, G., Meheust, A., Pijls, L., & Rowland, I. (2013). Markers for nutrition studies: Review of criteria for the evaluation of markers. *European Journal of Nutrition*, *52*. https://doi.org/10.1007/s00394-013-0553-3

Wang, G., Zhu, Y., Feng, D., Yao, J., Cao, Y., & Deng, L. (2024). Hepatic gluconeogenesis and regulatory mechanisms in lactating ruminants: A literature review. *Animal Research and One Health*, *n/a*(n/a). https://doi.org/10.1002/aro2.80

Weill, P., Schmitt, B., Chesneau, G., Daniel, N., Safraou, F., & Legrand, P. (2002). Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. *Annals of Nutrition & Metabolism*, *46*(5), 182–191. https://doi.org/10.1159/000065405

Westhoff, T. A., Borchardt, S., & Mann, S. (2024). Invited review: Nutritional and management factors that influence colostrum production and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *107*(7), 4109–4128. https://doi.org/10.3168/jds.2023-24349

Willett, W. (2013). *Nutritional Epidemiology* (3rd edn). Oxford Academic. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199754038.001.0001

Zachut, M., Dekel, I., Lehrer, H., Arieli, A., Arav, A., Livshitz, L., Yakoby, S., & Moallem, U. (2010). Effects of dietary fats differing in n-6:n-3 ratio fed to high-yielding dairy cows on fatty acid composition of ovarian compartments, follicular status, and oocyte quality. *Journal of Dairy Science*, *93*(2), 529–545. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2167

Annexe 1. Dossier CERVO (comité d'éthique) pour l'étude pilote

Dossier de saisine CERVO

Ce document ainsi que les annexes qui l'accompagnent doivent être rédigés en français.

Projet de recherche clinique et/ou épidémiologique vétérinaire n° .....

(Cadre réservé au CERVO)

Titre du projet de recherche clinique et/ou épidémiologique vétérinaire **Evaluation de l'impact de graine de lin sur la santé du couple veau-vache à la période de tarissement** Investigateur principal : **ARIZA CHACON Juan-Manuel** Durée estimée du projet : **20 mois** Date souhaitée de début du projet : **Mai 2023**

INVESTIGATEUR PRINCIPAL (nom, prénom) : ARIZA CHACON Juan-Manuel	
Téléphone :	INSTITUTION : Oniris
Télécopie :Cliquez ici pour entrer du texte.	UNITE DE RECHERCHE ou SERVICE DU CHUV : **UMR Biologie, Epidémiologie et Analyse de Risque en santé animale (BIOEPAR)**
E-mail : **juan-manuel.ariza-chacon@oniris-nantes.fr**	
Signature de l'investigateur principal : [redacted]	Signature du Directeur d'Unité de recherche ~~ou du chef de service ou du chef de département~~ (rayer les mentions inutiles) : [redacted]

CO-INVESTIGATEUR (si nécessaire) (nom, prénom): SERHAL Laudy	
Téléphone :07 58 25 04 35	INSTITUTION : Oniris
Télécopie :Cliquez ici pour entrer du texte.	UNITE DE RECHERCHE ou SERVICE DU CHUV : **UMR Biologie, Epidémiologie et Analyse de Risque en santé animale (BIOEPAR)**
E-mail : laudy.serhal@oniris-nantes.fr	
Signature du co-investigateur principal : [redacted]	Signature du Directeur d'Unité de recherche ou ~~du chef de service ou du chef de département~~ (rayer les mentions inutiles) : [redacted]

INVESTIGATEURS ASSOCIES	QUALIFICATIONS	UNITE
MORGANT Guillaume	Technicien – Oniris	BIOEPAR
BAREILLE Nathalie	Pr – Oniris (Zootechnie)	BIOEPAR

RESUME « GRAND PUBLIC » DU PROJET

Ce court descriptif du projet de recherche doit pouvoir être compris par un lecteur non expert de la discipline ; il doit reprendre le contexte de l'étude, ses objectifs, la méthode employée ainsi que l'espèce et le nombre maximal d'animaux qui seront inclus. Maximum ½ page.

Pendant la période autour du vêlage, la vache subit des changements physiologiques, métaboliques et nutritionnels qui peuvent avoir des conséquences négatives sur sa santé, sa reproduction, voire sur la santé de son veau. La maitrise de l'alimentation sur la période tarie peut permettre de limiter ces problèmes, en particulier via les acides gras omega-3 apporté via le pâturage ou par certains oléo-protéagineux. Les acides gras omega-3 ont des effets favorables démontrés sur la santé de l'homme. Par contre, les études examinant l'impact des acides gras oméga 3 sur la santé des couples vaches-veaux sont rares.
Aussi, alors que les biomarqueurs de l'état nutritionnel et sanitaire des vaches et des veaux sont indispensables pour mettre en place et évaluer des stratégies de prévention autour de la période critique du vêlage, on manque d'informations sur la faisabilité de sa mise en œuvre dans les élevages commerciaux. L'amélioration qualitative des régimes alimentaires pendant la période sèche représente une stratégie prometteuse pour améliorer la santé maternelle, et la santé du veau grâce à la consommation de colostrum de haute qualité.

Ainsi, chez la vache, on manque de connaissances relatives à l'efficacité de recommander dès aujourd'hui, une supplémentation en graine de lin extrudée riche en acides gras omega-3 en fin de gestation.
Pour combler cette lacune de connaissances, une étude pilote interventionnelle sera mise en place dans 5 fermes commerciales de vaches laitières. Au sein de chaque ferme, 30 vaches laitières gestantes seront assignées aléatoirement soit dans le groupe témoin sans complémentation en graine de lin extrudée (n=15) ou dans le groupe essai avec une complémentation en graine de lin riche en acides gras omega-3 via un apport en graines de lin extrudées (n=15).

Alors, l'étude pilote vise à explorer si :
1. Les acides gras omega-3 apportés dans la ration s'accumulent bien chez la vache en fin de gestation.
2. Les acides gras omega-3 sont restitués après vêlage d'une part au veau via son colostrum et son lait et d'autre part à elle-même pour participer à la couverture de ses besoins énergétiques.
3. Des biomarqueurs existants peuvent renseigner l'effet nutritionnel des acides gras omega-3 sur la santé de la vache et du veau en début de vie.

JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE DU PROJET

Sert à positionner le projet dans le contexte scientifique en s'appuyant sur les principales références bibliographiques de la thématique. Maximum ½ page.

La période autour du vêlage est critique en termes de risques sanitaires pour les vaches et leurs veaux. En effet, durant cette phase de transition, la vache devient vulnérable à l'apparition de changements physiologiques et métaboliques ayant des conséquences directes sur sa santé post-partum et ses performances de reproduction (Leblanc S. *et al.* 2010). Chez les veaux, au cours des premiers jours de vie, la forte incidence des maladies infectieuses est l'un des principaux problèmes auxquels sont confrontés les élevages (Urie, N. J. *et al. 2018)*.

La période post-partum chez les vaches est caractérisée par la perpétuation d'un bilan énergétique négatif (Pérez-Báez, J. *et al*. 2019). En réponse au bilan énergétique négatif, une mobilisation des réserves corporelles est initiée. À ce stade, les acides gras stockés ne sont pas seulement une source d'énergie, ils peuvent également représenter une source d'acides gras essentiels (Leiber, F. et al. 2011) (Soppela, P. et al. 2002). Chez les bovins, des effets bénéfiques des acides gras oméga-3 sur le développement embryonnaire précoce et au début de la gestation ont été rapportés (Cooke, R. F. et al. 2019).

Pour les veaux, l'apport de colostrum est essentiel non seulement pour le transfert de l'immunité passive et de la résistance aux maladies, mais aussi pour d'autres performances à long terme (Lombard, J. *et al. 2020)*. A la naissance, les apports en macro et micronutriments du colostrum et du lait de transition sont déterminants pour le développement et la modulation de la réponse inflammatoire au défi infectieux des premiers jours de vie du veau (Blum, J. W. 2017). Cependant, le colostrum contient des éléments autres que les immunoglobulines, tels que des nutriments, qui auraient un effet bénéfique sur le développement du nouveau-

né, et sa réponse immunitaire (Novo, S. M. F. *et al. 2017)*. Par exemple, une supplémentation en colostrum avec des acides gras oméga 3 module l'état inflammatoire des veaux (Opgenorth, J. et al. 2020).

C'est pourquoi, nous avons comme ambition d'étudier l'effet préventif des acides gras omega-3 sur la santé de vache et du veau, en utilisant des biomarqueurs. A notre connaissance dans la littérature, seules les immunoglobulines chez les veaux sont très étudiées. Ainsi, d'autres biomarqueurs potentiellement intéressants pour diagnostiquer ou prédire la santé du couple vache-veau et les effets nutritionnels de différents régimes alimentaires seront explorés. Compte-tenu de la nouveauté des études épidémiologiques nutritionnelles chez les animaux, nous souhaitons mener une étude pilote dans un échantillon bien ciblé pour s'assurer de la faisabilité ultérieure d'une étude épidémiologique à large échelle et de choisir le moment le plus opportun de mesure des biomarqueurs pertinents. Donc, cette étude pilote vise à décrire la cinétique d'évolution des biomarqueurs sanitaires et nutritionnels suite à l'apport de graine de lin extrudée riche en acides gras omega-3distribuée pendant la période tarie sur la santé des couples vache-veau jusqu'à 15 jours de vie du veau.

Souhaitez-vous récuser un ou plusieurs rapporteurs du collège des membres internes? Si oui le(s)quel(s) ?

Non

Retombées attendues pour la médecine vétérinaire

Cette étude pilote devrait permettre de :

1. Identifier des biomarqueurs pertinents décrivant l'état nutritionnel et la santé du couple vache-veau du vêlage en termes de nature et de moment de prélèvement
→ Les vétérinaires pourront les utiliser pour améliorer la prise en charge des animaux avec déficience nutritionnelle autour du vêlage.

2. A l'issue du projet en global
→ Les vétérinaires auront à disposition un levier d'amélioration nutritionnelle de la santé de l'animal

3. Considérer le régime alimentaire pendant la période de tarissement comme une stratégie préventive pour améliorer la santé et les performances des animaux, et ainsi contribuer à la rentabilité économique des bovins
→ Le coût substantiel associé à des régimes alimentaires de haute qualité pourrait être largement compensés par une réduction des problèmes de santé autour de la période de vêlage

4. Les éleveurs inclus dans l'étude bénéficieront de conseils sur l'alimentation des vaches durant la période de tarissement
→ Informations sur l'état de santé et d'immunité de ces vaches et de leurs veaux.

Retombées éventuelles pour la médecine humaine

1. Les biomarqueurs nutritionnels mobilisées dans des études qui porte sur la santé humaine seront également utilisé dans notre étude sur la santé animale.

2. La valeur nutritionnelle du colostrum de haute qualité est bénéfique pour l'Homme et vendu par lui aussi.

Animaux impliqués dans l'étude

Essai réalisé sur des :

Animaux malades ☐ Animaux malades pour lesquels l'objet de la recherche est sans rapport avec leur état pathologique ☐ Animaux sains ☒

Espèce : Bovins

Race : Holstein

Essai pilote	OUI ☒	NON ☐
Essai thérapeutique	OUI ☐	NON ☒
Essai randomisé	OUI ☒	NON ☐
Essai prospectif	OUI ☒	NON ☐
Essai rétrospectif	OUI ☐	NON ☒

Nombre total de sujets prévus et répartition (en séparant les populations de sujets étudiés et les sujets témoins de l'étude) :

Nombre de fermes à inclure : 5
Au sein de **chaque ferme** : **30** vaches laitières gestantes.

Avant le tarissement, les vaches seront assignées aléatoirement à l'un des deux groupes de l'essai.

La distribution des animaux dans le **groupe témoin (n=15)** ou dans le **groupe essai (n=15)** se fera à partir d'un tirage aléatoire à deux composants : la date de vêlage prévue et la Note d'Etat Corporel.

Nombre total **: 5x30 = 150 vaches laitières gestantes**.

(Voire justification du raisonnement dans la page suivante)

Dans le cas d'un essai thérapeutique, y-a-t-il une perte de chance pour l'animal par rapport au « gold standard » du traitement ? OUI ☐ NON☒

Si vous avez répondu OUI à la question précédente, quel(s) est(sont) le(s) avantage(s) attendus de ce traitement par rapport au gold standard ?

Comment ce projet de recherche prend-il en compte les impératifs éthiques ? Décrire ci-dessous le protocole expérimental détaillé incluant la justification du nombre d'animaux utilisés, l'identification des points critiques, le classement des procédures selon leur sévérité (*cf* annexe de ce document) et les solutions envisagées. Dans la mesure du possible, adjoindre un diagramme de Gant. Deux pages maximum.

❖ **Justification du nombre d'animaux :**

Nous avons déterminé le nombre d'animaux à inclure dans l'étude pilote en se basant sur deux éléments :

1- Les études pilotes en nutrition humaine (Lancaster, G. A. et al, 2004) sont menées sur la base de 15 sujets par groupe → Sachant qu'il y a 2 groupes dans chaque élevage, il convient de sélectionner 2x15 = **30 animaux** par élevage

2- En épidémiologie, les individus sont rattachés à des clusters, groupes d'individus ayant beaucoup de facteurs d'exposition en commun, dans notre cas un élevage. Des études ont montré que pour une bonne estimation de la prévalence d'une carence nutritionnelle, l'étude devait inclure au moins 30 clusters de 30 personnes (Binkin et al., 1992). Ne cherchant pas à atteindre cet objectif de connaissance précise de la prévalence, nous proposons de conduire notre étude pilote sur 5 élevages.

Donc, l'étude pilote comprendra **n=150 animaux** (**5 fermes** et **30 vaches laitières gestantes** dans **chaque ferme**).

Avant le tarissement, les vaches seront assignées aléatoirement à l'un des deux groupes de l'essai. La distribution des animaux dans le groupe témoin (n=15) ou dans le groupe essai (n=15) se fera à partir d'un tirage aléatoire à deux composants : la date de vêlage prévue et la Note d'Etat Corporel (NEC).

❖ **Intervention nutritionnelle intra-élevage :**

Dans chaque élevage, les vaches gestantes seront affectées soit dans le groupe témoin sans complémentation n-3 (n=15) ou dans le groupe essai avec une complémentation en oméga-3 via un apport en graines de lin extrudées (n=15).

La première semaine de la phase de tarissement (voire plus si le tarissement doit durer plus de huit semaines) sera commune pour les deux groupes. Il s'agira d'une phase de période sèche classique, répondant aux caractéristiques physiologiques requises du tarissement.

A partir de 7 semaines avant la date de vêlage prévue et jusqu'au vêlage :

Pour les vaches du groupe essai, une complémentation en acides gras omega-3 sera initiée. Elle s'effectuera par la distribution d'un aliment commercial TRADILIN contenant des graines de lin extrudées riches en acides gras omega-3 (brevet d'invention n° 17 60984).

Pour les vaches du groupe témoin, la ration allouée sera constituée de la même base fourragère mais la graine de lin extrudée est substituée par des aliments qui permettent d'obtenir une ration iso-énergétique, iso-protéique et iso-BACA (Bilan Alimentaire en Cations et en Anions).

Après vêlage jusqu'à au moins 15 jours, la ration sera commune pour les deux groupes et ne sera pas complémentée avec des omega3. Une faible quantité dans le concentré de production sera tolérée.

Les veaux après naissance recevront le colostrum et le lait de leur mère pendant 7 jours. Après, ils seront nourris de façon identique pour les 2 groupes.

❖ **Interventions sur les animaux :**

Une collecte d'échantillonnage de colostrum/lait transitionnel seront prise du moment du vêlage J0 à J7 par l'éleveur durant la traite de matin.

Des **prélèvements sanguins** seront effectués :

1) Sur les vaches : 7 semaines avant vêlage, 2 semaines avant vêlage, le J0 à J2 du vêlage, J7 vêlage, J15 après vêlage → soit au total 5 prélèvements par vache

2) Sur les veaux : J0 à J2 vêlage, J7 vêlage, J15 après vêlage → soit au total 3 prélèvements par veau.

Ces prises de sang seront effectuées par des investigateurs qualifiés et spécifiquement formés à ce geste.

Un matériel de prélèvement sanguin approprié sera utilisé. Lors de cette prise de sang, les animaux seront susceptibles d'éprouver une douleur légère de courte durée, sans incidence significative sur leur bien-être ou leur état général. **Il s'agit donc d'une procédure de gravité « légère ».** A l'issue de cette prise de sang, la contention sera immédiatement levée, les animaux seront à nouveau dans leur environnement habituel d'élevage et ne seront pas à nouveau manipulées durant l'hiver.

<u>Tous les échantillonnages</u> ainsi prélevés (sang/Colostrum/Lait) <u>seront congelés</u> dans le but de constituer une bio-collection pour d'éventuelles analyses ultérieures. Ainsi, s'il s'avère utile, en cours de projet, de compléter nos analyses et de doser un autre marqueur sanguin, <u>il ne sera pas nécessaire de manipuler et prélever à nouveau des animaux.</u>

Un document détaillant le contexte de l'étude, les objectifs et le protocole a été rédigé et sera remis aux propriétaires des animaux (les éleveurs) lors de la première visite (Fiche d'information jointe à ce dossier). Les éleveurs souhaitant participer pourront donc prendre une décision éclairée. Une lettre de recueil du consentement éclairé sera donnée à l'éleveur.

Comment votre projet prend-il en compte le respect de la règle des 3R « Remplacer, Réduire, Raffiner » ?

Remplacer :
- L'étude est spécifique de l'animal cible, on ne peut pas le remplacer.
- la supplémentation alimentaire va induire des modifications sur plusieurs métabolismes des animaux cibles. Il ne peut pas être reproduit dans un modèle in vitro.

Réduire :
En utilisant plusieurs échantillons sur un même animal, on augmente la puissance du dispositif. En effet, la cinétique des biomarqueurs sera mieux évaluée par réduction de la variabilité intra-individu (analyses statistiques pour données répétées). Cela nous permet de réduire le nombre d'animaux à inclure. Le stress de l'animal sera réduit au fur et à mesure de nos interventions pour prélèvement.
Le recours à un groupe contrôle intra-élevage permet également le nombre d'élevages (et donc d'animaux) à inclure

Raffiner :
- La contention à effectuer pour les prélèvements et pour les examens cliniques sera toujours faite avec l'éleveur et sera levée immédiatement après afin de générer le moins de stress possible.
- Les prélèvements et examens cliniques seront effectués par des investigateurs formés.
- L'étude de la valeur informative de colostrum/lait (obtenu grâce à une procédure de collecte non invasive), si elle fournit des résultats intéressants, pourra permettre d'éviter de réaliser des prélèvements sanguins (acte invasif de sévérité « légère ») dans la future étude épidémiologique à large échelle.

En déposant ce dossier pour expertise auprès des experts du CERVO, l'investigateur s'engage à ce qu'aucun animal des troupeaux pédagogiques d'Oniris ne soit inclus dans ce protocole de recherche.

Fait à Nantes, le 05 Avril 2023
Signature de l'investigateur principal

[redacted]

Annexe 2. Dossier CERVO (comité d'éthique) pour l'étude à grande échelle

Ce document ainsi que les annexes qui l'accompagnent doivent être rédigés en français.

Projet de recherche clinique et/ou épidémiologique vétérinaire n° **CERVO-2024-8-V**

Titre du projet de recherche clinique et/ou épidémiologique vétérinaire **Evaluation de l'effet d'une alimentation riche en oméga 3 via la graine de lin extrudée pendant la période du tarissement sur la qualité du colostrum et la santé du couple veau-vache** Investigateur principal : **SERHAL Laudy** Durée estimée du projet : **15 mois** Date souhaitée de début du projet : **Mars 2024**

INVESTIGATEUR PRINCIPAL (nom, prénom) : **SERHAL Laudy**	
Téléphone :07 58 25 04 35	INSTITUTION : **Oniris**
Télécopie :Cliquez ici pour entrer du texte.	UNITE DE RECHERCHE ou SERVICE DU CHUV : **UMR Biologie, Epidémiologie et Analyse de Risque en santé animale (BIOEPAR)**
E-mail :laudy.serhal@inrae.fr	
Signature de l'investigateur principal : 	Signature du Directeur d'Unité de recherche ~~ou du chef de service ou du chef de département~~: 

CO-INVESTIGATEUR (si nécessaire) (nom, prénom): **ARIZA CHACON Juan-Manuel**	
Téléphone :Cliquez ici pour entrer du texte.	INSTITUTION : **Oniris**
Télécopie :Cliquez ici pour entrer du texte.	UNITE DE RECHERCHE ou SERVICE DU CHUV : **UMR Biologie, Epidémiologie et Analyse de Risque en santé animale (BIOEPAR)**
E-mail :juan-manuel.ariza-chacon@inrae.fr	
Signature du co-investigateur principal : 	Signature du Directeur d'Unité de recherche ~~ou du chef de service ou du chef de département~~ : 

INVESTIGATEURS ASSOCIES	QUALIFICATIONS	UNITE
MORGANT Guillaume	Technicien - Oniris	BIOEPAR
BAREILLE Nathalie	Pr – Oniris	BIOEPAR

RESUME « GRAND PUBLIC » DU PROJET

Ce court descriptif du projet de recherche doit pouvoir être compris par un lecteur non expert de la discipline ; il doit reprendre le contexte de l'étude, ses objectifs, la méthode employée ainsi que l'espèce et le nombre maximal d'animaux qui seront inclus. Maximum ½ page.

Pendant la période autour du vêlage, la vache subit des changements physiologiques, métaboliques et nutritionnels qui peuvent avoir des conséquences négatives sur sa santé, sa reproduction, et aussi sur la santé de son veau. La maitrise de l'alimentation sur la période tarie peut permettre de limiter ces problèmes, en particulier via les acides gras omega-3 qui ont des effets favorables démontrés sur la santé de l'homme. Par contre, chez la vache, nous souhaitons davantage de preuves d'efficacité pour recommander, dès aujourd'hui, la supplémentation des vaches avec de la graine de lin Tradilin®, une graine concentrée en acides gras omega-3 comme l'herbe de printemps. Une étude pilote **(CERVO-2023-13-V)** a été menée dans un petit nombre d'élevages, où **nous avons pu vérifier** que les **acides gras omega-3 s'accumulent** bien chez **la vache tarie** et **qu'elle les mobilise** en début de lactation pour couvrir ses besoins et ceux de son veau via son colostrum.

Ainsi, nous envisageons de faire une étude épidémiologique à grande échelle dans 40 élevages de Bretagne en partenariat avec les entreprises **Valorex et Innoval** qui cherche à démontrer que **la supplémentation alimentaire en acides gras oméga-3** via **la graine de lin extrudée** pendant la période du **tarissement** a un **effet favorable** sur la **santé des vaches laitières**, sur **la qualité du colostrum** et la **santé et la survie des veaux.** Pendant 5 à 6 mois, les éleveurs ajouteront de la graine de lin Tradilin® aux rations des vaches gestantes de plus de 7 mois Ensuite, pendant les 5 à 6 mois suivants, ils cesseront d'en ajouter (ou vice versa, selon le résultat d'un tirage au sort). Les événements sanitaires des animaux après le vêlage, tant pour les vaches pendant 6 semaines que pour les veaux pendant 3 semaines, seront enregistrés afin de comparer leur fréquence entre les deux périodes.

JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE DU PROJET

Sert à positionner le projet dans le contexte scientifique en s'appuyant sur les principales références bibliographiques de la thématique. Maximum ½ page.

La période de transition chez les vaches laitières, englobant la fin de la gestation, le vêlage, et le début de la lactation, constitue une phase cruciale caractérisée par des changements physiologiques, hormonales et immunologiques *(Mann S et al., 2018 ; Pascottini OB et al., 2020 ; Wankhade PR et al., 2017 ; Kim et Suh, 2003 ; Garverick et al., 2013 ; Esposito et al., 2014).*

Les vaches laitières en transition font face à des défis métaboliques majeurs, avec des déséquilibres énergétiques, des changements inflammatoires, et une susceptibilité accrue aux maladies infectieuses, telles que l'hypocalcémie, la cétose, les métrites, les mammites, rétention placentaire et autres. Ces maladies liées sont devenues des préoccupations majeures pour les exploitants laitiers, entraînant des répercussions significatives sur les performances de lactation, la reproduction, et la survie du troupeau *(Hassan FU et al., 2022).*

Aussi, les vaches auraient un volume important de fœtus au cours des trois dernières semaines de gestation, affectant la capacité et l'adaptation du rumen, entraînant une diminution de la consommation alimentaire. Les besoins énergétiques élevés, associés à une consommation moindre d'aliments, créent un bilan énergétique négatif et une privation de nutriments *(Wankhade PR et al., 2017 ; Hassan FU et al., 2022).*

Toutes ces facteurs impactent non seulement la santé des vaches, mais aussi la qualité du colostrum, la morbidité et la mortalité des veaux. Les premiers jours de la vie d'un veau sont cruciaux et marqués par une vulnérabilité significative. Ce phénomène résulte en grande partie du stress physiologique inhérent à la naissance, combiné à une immunocompétence sous-optimale *(Murray et Leslie, 2013)*. En conséquence, ces nouveau-nés se trouvent dans un état d'instabilité précaire, les rendant particulièrement sujets aux maladies périnatales et augmentant ainsi le risque de mortalité élevée *(Piccione et al., 2010 ; Kasari. 1994),* entraînant par la suite des pertes économiques importantes *(Gomes et al., 2021)*. Pour contrer cette vulnérabilité, il est impératif que le veau consomme du colostrum de haute qualité dès les premières heures de sa vie. Le colostrum, riche en anticorps maternels tels que les IgG, joue un rôle crucial dans le renforcement du système immunitaire du veau, assurant ainsi une protection efficace contre les infections.

Par conséquent, l'amélioration du bilan énergétique peut réduire considérablement la prévalence des maladies associées à cette période. Plusieurs méthodes ont été proposées pour atteindre cet objectif, notamment la surveillance systématique de l'état de santé des vaches pendant la gestation et la lactation, l'amélioration des pratiques d'élevage, la supplémentation nutritionnelle et l'alimentation optimale. Cependant, la supplémentation nutritionnelle a reçu le plus d'attention au cours des dernières années *(Lacasse P et al., 2018 ; Caixeta LS et al., 2021).*

La supplémentation en acides gras polyinsaturés a été une des solutions abondamment étudiées. Les acides gras omega-3, présents particulièrement dans la graine de lin extrudées, ont été associés à des effets anti-inflammatoires, antioxydants et bénéfiques sur la fonction immunitaire. Ces acides gras peuvent influencer la composition lipidique du colostrum, potentiellement améliorer ses propriétés nutritionnelles et favoriser la santé du veau *(Fabjanowska J et al., 202 ; Angeli E et al., 2021).*

Donc, on a comme hypothèses que 1) la supplémentation en acides gras oméga-3 des vaches laitières pendant la période de tarissement influencerait le stress métabolique et ses conséquences pathologiques ;
2) La graine de lin extrudée riche en acides gras omega-3 améliore la qualité nutritionnelle du colostrum ;
3) Les acides gras oméga-3, en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, pourraient réduire la mortalité des veaux en améliorant leur statut métabolique.
Ainsi, notre objectif principal est d'évaluer l'impact de la supplémentation alimentaire en acides gras oméga-3 via la graine de lin extrudée pendant la période du tarissement sur la santé des vaches laitières autour du vêlage. Nos objectifs secondaires sont :
1. Evaluer l'effet de cette supplémentation sur la qualité nutritionnelle du colostrum, la morbidité et la mortalité des veaux.
2. Evaluer la fraction attribuable aux effets des acides gras oméga-3 sur la santé du couple veau-vache par rapport aux autres facteurs de risque.
Pour répondre à ces objectifs, un essai cluster prospectif contrôlé randomisé sera mise en place dans 40 élevages.

Souhaitez-vous récuser un ou plusieurs rapporteurs du collège des membres internes? Si oui le(s)quel(s) ?

Retombées attendues
pour la médecine vétérinaire

- **Amélioration de la santé des vaches laitières :** la supplémentation en acides gras oméga-3 pourrait réduire les risques de maladies métaboliques fréquentes chez les vaches laitières, comme la cétose.

- **Optimisation de la qualité du colostrum :** L'apport de graine de lin enrichie en acides gras oméga-3 pourrait améliorer la qualité nutritionnelle du colostrum et renforcer le système immunitaire des veaux dès les premières heures de vie

- **Réduction de la morbidité et de la mortalité des veaux :** Une réduction significative de la morbidité et de la mortalité des veaux pourrait résulter de l'effet bénéfique des acides gras oméga-3 sur la réduction du stress métabolique, améliorant ainsi le bien-être des animaux et la rentabilité des élevages.

Retombées éventuelles pour la médecine humaine

- **Application des connaissances sur les acides gras oméga-3 :** Les résultats de notre étude pourraient être extrapolés à la médecine humaine, fournissant des informations sur les effets bénéfiques potentiels des acides gras oméga-3 dans la gestion du stress métabolique et de la santé générale.

- **Amélioration de la qualité nutritionnelle du colostrum humain :** SI la graine de lin extrudée enrichie en acides gras oméga-3 améliore la qualité du colostrum chez les vaches, des applications similaires pourraient être explorées pour améliorer la qualité du lait maternel chez les femmes.

Animaux impliqués dans l'étude

Essai réalisé sur des :

Animaux malades ☐	Animaux malades pour lesquels l'objet de la recherche est sans rapport avec leur état pathologique ☐	Animaux sains ☒

Espèce : Bovin laitier

Race : Holstein, Montbéliarde, Normande

Essai pilote	OUI ☐	NON ☒
Essai thérapeutique	OUI ☐	NON ☒
Essai randomisé	OUI ☒	NON ☐
Essai prospectif	OUI ☒	NON ☐

Nombre total de sujets prévus et répartition (en séparant les populations de sujets étudiés et les sujets témoins de l'étude) :
Nombre de fermes à inclure : n=40
Au sein de chaque ferme : n=60 vaches laitières → n=30 animaux par saison (n=30 témoin et n=30 essais successivement)
La randomisation se fera en alternant les périodes de supplémentation en graine de lin entre les fermes.
Nombre total : 40x60=
(Voire justification du raisonnement dans la page suivante)

Dans le cas d'un essai thérapeutique, y-a-t-il une perte de chance pour l'animal par rapport au « gold standard » du traitement ? OUI ☐ NON☒

Si vous avez répondu OUI à la question précédente, quel(s) est(sont) le(s) avantage(s) attendus de ce traitement par rapport au gold standard ?

Comment ce projet de recherche prend-il en compte les impératifs éthiques ?

Décrire ci-dessous le protocole expérimental détaillé incluant la justification du nombre d'animaux utilisés, l'identification des points critiques, le classement des procédures selon leur sévérité (*cf* annexe de ce document) et les solutions envisagées. Dans la mesure du possible, adjoindre un diagramme de Gant. Deux pages maximum.

Justification du nombre d'animaux

Nous envisageons de détecter une **différence significative de 2% de mortalité** entre les veaux nés des vaches soumises à notre supplémentation et ceux qui ne le sont pas, sachant que la mortalité moyenne des veaux est actuellement établie à 8% (selon Reproscope, dans les zones de Bretagne, Pays de la Loire et Normandie).
En tenant compte de la taille moyenne des élevages de la région (n=70), ainsi que de la corrélation entre les animaux d'une même exploitation et suivis pendant une même saison (été ou hiver), nous prévoyons d'inclure en moyenne **60 animaux par ferme (30 par groupe)**. Des études antérieures ont rapporté une corrélation intra-classe (ICC) pour la mortalité des veaux de 0,02. Ainsi, en prenant en considération tous les paramètres précédents, **un total de 38 fermes est nécessaire pour atteindre la puissance statistique requise afin de détecter une différence de 2% dans la mortalité des veaux.**

Intervention nutritionnelle

Les vaches gestantes en fonction de leur date de vêlage arriveront dans une conduite imposée au sein de l'élevage.

La randomisation se fera en **alternant** les périodes de supplémentation en graine de lin entre les fermes.

Pendant **5-6 mois**, les éleveurs ajoutent **de la graine de lin Tradilin®** à leurs rations **pour génisses gestantes et vaches taries** à partir de **7 semaines avant** leur date prévue de vêlage **jusqu'au vêlage**, puis pendant les **5-6 mois suivants**, **ils n'en ajoutent pas** (ou vice versa selon l'élevage). Les événements sanitaires des animaux après vêlage (vaches pendant 6 semaines et veaux pendant 3 semaines) seront enregistrés afin de comparer leur fréquence entre les 2 périodes.

Les **veaux** après naissance recevront le colostrum de leur mère et le lait des vaches fraiches vêlées pendant 7 jours.

Intervention sur les animaux

Pour chaque vache inclue dans l'essai : une collecte de **deux échantillons** de **5 mL** de colostrum seront prise au moment du vêlage (J+0) par l'éleveur durant la traite de matin.
Tous les échantillons ainsi prélevés seront congelés dans le but de constituer une bio-collection pour d'éventuelles analyses ultérieures.

Il s'agit donc d'une procédure non-invasive, de gravité « légère ».

Intervention auprès des éleveurs

Un questionnaire serait adressé aux éleveurs contenant des questions sur les facteurs de risque majeurs connues/reconnues permettant d'enregistrer les évènements sanitaires.

Le questionnaire sera en version digitale site web ou papier

Conditions de séparation du veau de sa mère

Ces conditions varient selon les pratiques propres à chaque élevage. Certains éleveurs préfèrent séparer les veaux de leur mère immédiatement après la naissance, tandis que d'autres optent pour une période de contact prolongé allant jusqu'à 24 heures. Dans le cadre de notre étude, nous respecterons la méthode de séparation choisie par chaque éleveur, qu'elle soit immédiate ou différée, tout au long de l'étude. Cette approche permettra d'avoir une estimation non biaisée de la GLE. ~~et aussi d'investiguer l'impact potentiel des différentes méthodes de séparation sur la santé et le bien-être des veaux et de leurs mères.~~

Un document détaillant le contexte de l'étude, les objectifs et le protocole a été rédigé et sera remis aux propriétaires des animaux (les éleveurs) lors de la première visite (Fiche d'information jointe à ce dossier). Les éleveurs souhaitant participer pourront donc prendre une décision éclairée. Une lettre de recueil du consentement éclairé sera donnée à l'éleveur.

Comment votre projet prend-il en compte le respect de la règle des 3R « Remplacer, Réduire, Raffiner » ?

1. Remplacer

- L'étude est spécifique de l'animal cible, on ne peut pas le remplacer.
- La supplémentation alimentaire induira des modifications sur plusieurs métabolismes des animaux cibles. Il ne peut pas être reproduit dans un modèle in vitro.

2. Réduire

- La randomisation entre les périodes de supplémentation permet de réduire les biais potentiels liés à des facteurs inconnus ou non contrôlables qui pourraient influencer les résultats.
- La collecte d'échantillons de colostrum est effectuée au moment du vêlage de manière non-invasive, avec une gravité légère, réduisant ainsi l'impact sur les animaux.
- Le nombre d'animaux par ferme est justifié en prenant en compte la corrélation intra-classe, ce qui permet de réduire la variabilité et d'optimiser la taille de l'échantillon.

3. Raffiner

- La collecte de colostrum s'effectuera par les éleveurs. Les vaches sont habituées à ce geste par leurs éleveurs.
- La répartition des mesures en 30 animaux par saison prend en compte la variation saisonnière, ce qui affine l'analyse.
- La bio-collection d'échantillons de colostrum est congelée en vue d'analyses ultérieures, permettant ainsi d'affiner les résultats par des investigations approfondies, si nécessaire.

En déposant ce dossier pour expertise auprès des experts du CERVO, l'investigateur s'engage à ce qu'aucun animal des troupeaux pédagogiques d'Oniris ne soit inclus dans ce protocole de recherche.

Fait à Nantes, le 15 Février 2024

Signature de l'investigateur principal



Annexe 3. Liste des données à collecter dans l'étude à grande échelle

Données à collecter pour la mesure de la santé	Q1	Site Web	BDD	Q2	Échantillons
Colostrum					x
Troubles de santé					
Tenue de l'inventaire (naissance, mort, vêlage…)			x		
Dossiers de santé des vaches (mammites, maladies métaboliques, etc.)		(x)	x		
Dossiers de santé et de mortalité des veaux		(x)	x		
Cause de la mort du veau ou de la vache		x			

Données à collecter pour la mesure des facteurs de risque/ prévention	Q1	Site Web	BDD	Q2
Logement				
Logement des vaches taries	x	x		
Logement des génisses gestantes	x	x		
Logement des vaches en lactation	x	x		
Lieu de vêlage	x	x		
Logement des veaux	x	x		
Alimentation				
Prise de colostrum yc hygiène	x	x		
Alimentation des veaux yc hygiène et potabilité eau				x
Pratiques sanitaires				
Protocole de tarissement et de traitement préventif des mammites	x	(x)	x	
Prévention spécifique des maladies des veaux et vaches	x	(x)	x	
Protocole d'intervention au vêlage				x
Pratiques de reproduction : chaleurs et IA				x
Statut infectieux du troupeau				X
Nursing des veaux malades				x
Ecornage				x

Annexe 4 : Questionnaire troupeau de l'étude à grande échelle

Questionnaire - Etude PREVEAU

Elevage : **ID :** **Nom de l'éleveur interviewé :**

Date de visite : **Investigateur :**

Thématiques abordées dans le questionnaire

Partie 1 → Logement des vaches taries

Partie 2 → Logement des génisses gestantes

Partie 3 → Logement des vaches en lactation

Partie 4 → Lieu de vêlage

Partie 5 → Logement des veaux

Partie 6 → Pratiques de prise de colostrum

Partie 7 → Vaccination et autre type de prévention spécifique

Partie 8 → Conduite du tarissement

Partie 1 → Logement des vaches taries

Partie 1.1 Saison , date début : date fin :

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Pâture éloignée	**Parcours proche**	**Stabulation libre paillée**	**Stabulation entravée**	**Autre, préciser**
Nom (ou N°) du logement					
Parcours de la vache entre le jour du tarissement et le vêlage (sauf lieu de vêlage)					
Semaine -8					
Semaine -7					
Semaine -6					
Semaine -5					
Semaine -4					
Semaine -3					
Semaine -2					
Semaine -1					
Caractéristiques du logement (si temps)					
Nombre de vaches par case (maxi)					
Surface de couchage de la case					
Cornadis (O/N)					
Barre à l'auge (O/N)					
Fréquence de curage (en j)					
Fréquence de paillage (en j)					
Fréquence de raclage de l'aire d'exercice (en j)					
Fréquence de changement de parcelle[1]					

Zone d'ombre (O/N)					
Accès à l'extérieur (O/N)					

[1] indiquer ici si les vaches taries changent de parcelle ou si les parcelles, utilisées toutes l'année sont remises en état

Selon la saison, compléter les éléments qui ont changé par rapport au tableau précédent ; Si le même logement que précédemment est utilisé, merci de garder la même dénomination, et inutile de le caractériser de nouveau (sauf si changements

Partie 1.2 Saison , date début : date fin :

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Pâture éloignée	**Parcours proche**	**Stabulation libre paillée**	**Stabulation entravée**	**Autre, préciser**
Nom (ou N°) du logement					
Parcours de la vache entre le jour du tarissement et le vêlage (sauf lieu de vêlage)					
Semaine -8					
Semaine -7					
Semaine -6					
Semaine -5					
Semaine -4					
Semaine -3					
Semaine -2					
Semaine -1					
Caractéristiques du logement (si temps)					
Nombre de vaches par case (maxi)					
Surface de couchage de la case					
Cornadis (O/N)					
Barre à l'auge (O/N)					
Fréquence de curage (en j)					
Fréquence de paillage (en j)					

Fréquence de raclage de l'aire d'exercice (en j)					
Fréquence de changement de parcelle[1]					
Zone d'ombre (O/N)					
Accès à l'extérieur (O/N)					

Partie 2 → Logement des génisses gestantes ; ***Si le même logement que précédemment est utilisé, merci de garder la même dénomination, et inutile de le caractériser de nouveau (sauf si changements)***

Partie 2.1 Saison , date début : date fin :

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Pâture éloignée	**Parcours proche**	**Stabulation libre paillée**	**Stabulation entravée**	**Autre, préciser**
Nom (ou N°) du logement					
Parcours de la génisse en fin de gestation jusqu'au vêlage (sauf lieu de vêlage)					
Semaine -8					
Semaine -7					
Semaine -6					
Semaine -5					
Semaine -4					
Semaine -3					
Semaine -2					
Semaine -1					
Caractéristiques du logement					
Nombre de vaches par case (maxi)					
Surface de couchage de la case					
Cornadis (O/N)					
Barre à l'auge (O/N)					
Fréquence de curage (en j)					
Fréquence de paillage (en j)					

Fréquence de raclage de l'aire d'exercice (en j)					
Fréquence de changement de parcelle[1]					
Zone d'ombre (O/N)					
Accès à l'extérieur (O/N)					

[1] indiquer ici si les génisses gestantes changent de parcelle ou si les parcelles, utilisées toutes l'année sont remises en état

Selon la saison, compléter les éléments qui ont changé par rapport au tableau précédent ; Si le même logement que précédemment est utilisé, merci de garder la même dénomination, et inutile de le caractériser de nouveau (sauf si changements)

Partie 2.2 Saison , date début : date fin :

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Pâture éloignée	**Parcours proche**	**Stabulation libre paillée**	**Stabulation entravée**	**Autre, préciser**
Nom (ou N°) du logement					
Parcours de la génisse en fin de gestation jusqu'au vêlage (sauf lieu de vêlage)					
Semaine -8					
Semaine -7					
Semaine -6					
Semaine -5					
Semaine -4					
Semaine -3					
Semaine -2					
Semaine -1					
Caractéristiques du logement					
Nombre de vaches par case (maxi)					
Surface de couchage de la case					
Cornadis (O/N)					
Barre à l'auge (O/N)					
Fréquence de curage (en j)					

Fréquence de paillage (en j)					
Fréquence de raclage de l'aire d'exercice (en j)					
Fréquence de changement de parcelle[1]					
Zone d'ombre (O/N)					
Accès à l'extérieur (O/N)					

[1] indiquer ici si les génisses gestantes changent de parcelle ou si les parcelles, utilisées toutes l'année sont remises en état

Partie 3 → Logement des vaches en lactation

Mettre une croix par colonne

Calendrier d'utilisation du bâtiment	Sept	Oct	Nov	Déc	Jan	Fév	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout
Stabulation utilisée jour et nuit												
Stabulation la nuit seulement												
Pâturage jour et nuit												

Comment les génisses sont familiarisées au logement des vaches en lactation ?

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Stabulation à logettes	**Stabulation à aire paillée**	**Stabulation entravée**	**Autre, préciser**
Nom (ou N°) du logement				
Caractéristiques du logement				
Nombre de vaches (maxi)				
Nombre de places				
Surface totale de couchage				
Cornadis (O/N)				
Barre à l'auge (O/N)				
Fréquence de curage (en j)				
Fréquence de paillage (en j) (ou autre litière)				
Fréquence de raclage de l'aire d'exercice (en j)				
Accès à un parcours extérieur (O/N)				

Partie 4 → Lieu de vêlage

Si le même logement que précédemment est utilisé, merci de garder la même dénomination, et inutile de le caractériser de nouveau (sauf si changements)

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Etable isolée	**Case collective paillée**	**Box de vêlage**	**Parcours proche**	**Pâture éloignée**
Nom (ou N°) du logement					
Fréquence de vêlage dans ce lieu, si besoin selon les périodes de l'année ou parité (vaches ou génisse)					
Période					
Période					
Période					
Période					
Caractéristiques du logement					
Nombre de places					
Nombre de vaches par case (maxi)					
Surface du box ou de la case					
Curage après X vêlages[1]					
Paillage après X vêlages[1]					
Désinfection après X vêlages[1]					

[1]indiquer le nombre de vêlages ayant lieu sans curage ou paillage du lieu de vêlage

Partie 5 → Logement des veaux

Caractéristiques du logement : les informations en gris sont à compléter si le temps le permet

	Niches à veaux	Cases individuelles	Cases collectives *Remplir une colonne par type de case*			Autre, préciser
Nom (ou N°) du logement						
Parcours du veau						
Age des veaux en jours (mini - maxi)						
Caractéristiques du logement						
Placé dans le bâtiment X						
Nombre de niches ou cases						
Nombre de veaux par case (moyen - maxi)						
Surface case (en m²)						
Nature du sol sous la paille						
Fréquence de curage / temps séjour du veau [1]						
Fréquence de curage (en j)						
Fréquence de paillage (en j)						
Différence d'âge maxi intra-case (en j)						
Contact physique possible avec [2]						
Ouverture vers l'extérieur [3]						
Traces d'humidité sur les flancs des veaux						

[1] curages à chaque veau (noté 1), plus fréquent qu'à chaque veau (noté 2) ou moins fréquent (noté 0).

[2] contact physique possible avec des veaux non-sevrés d'une autre case ou avec des animaux autres que veaux non-sevrés. Si oui, préciser espèce, âge, type de production des contacts possibles.

[3]mentionner s'il existe pour cette niche/case une ouverture en fond ou en côté de case donnant sur l'extérieur et à une hauteur de moins de 1,75 m par rapport à la litière de la case.

Confort thermique et ventilation de ces logements des veaux

Lorsque les logements des veaux sont placés dans des bâtiments, il convient de décrire leur structure

Description du bâtiment n° :

Plan au sol du bâtiment

longueur, largeur totale du bâtiment ; indiquer le nord par une flèche ; faire figurer le lieu de couchage des veaux avec identification du type de cases ; si besoin, faire figurer les autres animaux logés sous le même toit

face A

face B face C

face D

Description de la face A du bâtiment

hauteurs des murs ; place et dimensions des ouvertures ; type de protection des ouvertures ; présence de porte souvent ouverte (noté PSO) ou souvent fermée (noté PSF) ; faire figurer le lieu de couchage des veaux s'ils sont à moins de 3 m du mur

Description de la face B du bâtiment

mêmes consignes de description que pour face A

Description de la face C du bâtiment

mêmes consignes de description que pour face A

Description de la face D du bâtiment

mêmes consignes de description que pour face A

Coupe transversale en milieu de bâtiment

position du ou des toits ; position des gouttières ; ouvertures en faîtage ; faces concernées par la coupe ; faire figurer les murs pleins en trait continu et les ouvertures protégées en pointillés ; pas de trait pour les ouvertures non protégées

face ? face ?

Partie 6 → Pratiques de prise de colostrum

Est-ce que l'éleveur a 2 pratiques dominantes selon un critère de décision bien défini ? si oui, quel est ce critère ?

……

Décrire la ou les deux pratiques majoritaires ci-dessous

		Naissance le jour ou ……..	**Naissance la nuit ou ……**
Le veau est **laissé avec la mère** sans vérification de prise colostrale **jusqu'à la prochaine traite puis distribution de colostrum :**	**au seau/ biberon**		
	par drenchage		
Le veau est **laissé avec la mère** et ingère le colostrum **uniquement** par **tétée de sa mère :**	**Sans vérification du timing**		
	Autre :		
Le veau est **enlevé dès que possible et le colostrum est donné :**	**Au seau/ biberon**		
	Par drenchage		
	Sans vérification du timing		
	Dans les premiers 2h de vie		
	Entre 4-6h		
	Entre 6h-8h		
	Entre 8-10h		
	Entre 10h-12h		
Quantité de colostrum à la première prise colostrale	**Si connue :**		
Modalités de nettoyage / désinfection du matériel	**Rinçage à l'eau froide**		
	Rinçage à l'eau chaude		
	Lavage à l'eau savonneuse chaude		
	Désinfection du matériel		
	Stérilisation du matériel		
Nettoyage des trayons de la mère avant tétée ou traite	**OUI / NON**		
Qualité de colostrum	**Non vérifiée / vérifiée**		

Action après vérification	**Décongélation du colostrum si qualité < …**		
	Congélation si qualité > ….		
	Ajustement des volumes		
	…		
Banque de colostrum	**OUI/NON**		
Si OUI, critères :	**Qualité colostrum**		
	Parité de la vache		
	autre		
Si OUI, durée de conservation du colostrum	**< 6 mois**		
	6 mois - 1 an		
	> 1 an		
	non surveillée		
Si OUI, décongélation	**Poche ou Bouteille** **T°** **Durée** **…**		

Partie 7 → Vaccination et autre type de prévention spécifique

Les traitements sont-ils inscrits systématiquement dans le carnet sanitaire ? Si non et si les vaches sont systématiquement toutes vaccinées, alors nous le remplirons dans l'appli, si certaines sont vaccinées alors il faudra ne pas oublier de bien remplir l'information dans la base de données ou dans l'appli. Si oui, bien continuer à le faire.

*** A inscrire dans l'appli**

	Oui toujours	Non jamais	Oui certaines *	Lesquelles ?	Nom du médicament *	Saisie dans le carnet sanitaire
Vaccinez-vous les vaches contre les diarrhées néonatales (coli + virus) du veau ?						
Vaccinez-vous les vaches contre les diarrhées néonatales (crypto) du veau ?						
Vaccinez-vous les vaches contre les maladies respiratoires du veau ?						
Vaccinez-vous les vaches contre les mammites ?						
Donnez-vous du calcium buvable au vêlage aux vaches ?						
drenchage ?						
Utilisez-vous du propylène buvable en début de lactation pour les vaches ?						
Quelle est votre pratique de désinfection du nombril des veaux ?						
…						
…						

Partie 8 → Conduite du tarissement

- Comment faites-vous pour les vaches infectées ? (Antibiotiques, obturateur, les deux, rien)

……

- Pratique d'hygiène : (désinfection avant/après, gants,)

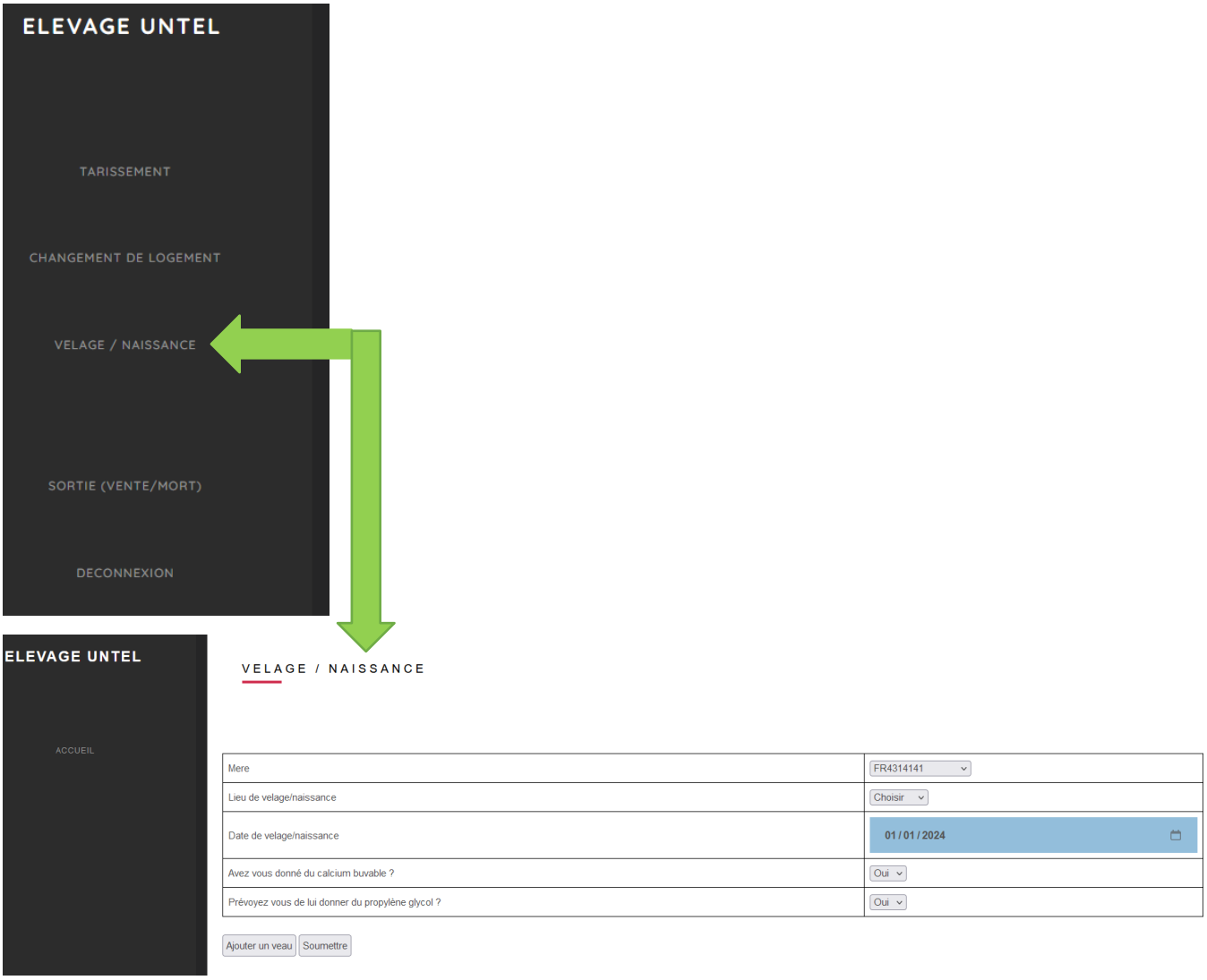
……

Caractéristiques vache (catégories)	**Critères (parité, saison, Cellules, production …)**	**Obturateur**	**Antibiotique**	**Obturateur + antibiotique**	**Autre …**	**Saisie dans le carnet sanitaire**
Saine **Faible productrice**	**CCI/CCT < ….. …** **<…….. kg/j**					**Oui** **Non**

Tarissement	**arrêt brutal**	**1 traite/j pendant :**	**autre :**
Cas majoritaire :	**oui/non**	**…… jours**	
autre :			
…			

Hygiène à l'administration	**Lieu**	**Désinfection des trayons**	**Port de gants**	**Ordre d'administration des trayons**	**Aide d'un conseiller**
		avant	**après**		
Obturateur					
Antibiotique					

Annexe 5 : Capture d'écran du site Web où les éleveurs avaient chacun un compte unique



Remerciements

J’ai fait le choix de placer ces remerciements à la toute fin de ce manuscrit, comme un point d’orgue après trois années d’un travail intense, exigeant, mais passionnant. Si vous êtes arrivé jusqu’ici, vous vous dites sans doute « waw » — et vous avez raison : ce n’était pas simple. Et cela n’aurait certainement pas été possible sans un soutien précieux, venu de multiples horizons. Cette dernière page est donc dédiée à dire merci. Merci.

Je tiens d’abord à exprimer ma profonde gratitude à ma directrice et mon co-directeur de thèse, Nathalie Bareille et Juan Manuel Ariza, pour leur accompagnement, leur confiance, leur patience, et pour m’avoir guidée avec rigueur, bienveillance et intelligence tout au long de ce parcours. Leur soutien scientifique et humain a été fondamental.

Je remercie également chaleureusement les rapporteurs de pré-soutenance, Marion Boutinaud, directrice de recherche à l’INRAE, et Nicolas Rose, directeur de recherche à l’ANSES, pour le temps qu’ils ont consacré à l’évaluation de ce travail.

Je suis honorée d’avoir un jury aussi riche de compétences et de bienveillance, et je remercie par avance chacun(e) de ses membres pour le temps qu’ils consacreront à l’examen de cette thèse. Merci aux examinateurs : German Cano Sacho, directeur de recherche à l’INRAE ; Maria Vazquez Gomez, maîtresse de conférences à AgroParisTech ; Clair-Yves Boquien, chargé de recherche à l’INRAE ; et Aurélien Madouasse, professeur à Oniris VetAgroBio.

Un immense merci à tous les partenaires de cette thèse : les vétérinaires, les éleveurs, les stagiaires, et tous les laboratoires impliqués. Je remercie tout particulièrement Delphine Rousseau pour son travail rigoureux sur le profil lipidique, ainsi que les doctorants et collègues de l’unité BIOEPAR, pour l’entraide quotidienne.

Merci aussi à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à faire vivre cette aventure scientifique et humaine.

Enfin, je souhaite remercier de tout cœur les personnes qui m’ont soutenue au quotidien. Mon papa et mes sœurs, toujours présents malgré la distance, pour leurs appels réguliers, leurs mêmes questions rassurantes chaque jour, comme s’ils pouvaient, de distance, tout réparer. Merci à mes amies et à ma deuxième famille à Nantes, la famille Chirol, qui a su m’entourer avec chaleur et affection. Et un merci tout particulier à mon copain, mon partenaire de vie, pour sa patience, son écoute et son soutien inconditionnel, dans les bons comme dans les moments plus difficiles.

Et à ma maman, mon guide et mon étoile dans les moments sombres, qui veille sur moi et illumine ma vie depuis le ciel — Je te dédie tout.

COLLEGE VEGETAL
DOCTORAL ANIMAL, ALIMENT
PAYS DE LA LOIRE MER, ENVIRONNEMENT

Oniris
VetAgroBio Nantes
ÉCOLE NATIONALE

Titre : Impact des acides gras oméga-3 en période de tarissement sur la santé materno-néonatale en élevage bovin laitier : une approche par épidémiologie nutritionnelle

Mots clés : épidémiologie, nutrition, santé

Résumé : L'objectif principal de cette thèse était double : évaluer par une approche épidémiologique, l'effet d'une supplémentation en graine de lin extrudée, riche en acides gras oméga-3, durant la période de tarissement sur la santé et le métabolisme énergétique maternel et du veau en début de vie, leurs effets sur la composition et la qualité du colostrum et lait transitionnel, ainsi que le transfert des AG n-3 de la ration à la vache jusqu'au veau. Et, concevoir et tester la faisabilité d'une étude interventionnelle randomisée contrôlée d'épidémiologie nutritionnelle.

L'étude prospective à grande échelle n'a pu être menée, mais l'expérience a permis des avancées majeures : élaboration d'un cadre fonctionnel pour les biomarqueurs (exposition, santé, statut), identification des IgG comme biomarqueur prédictif, démonstration du transfert oméga-3 mère-veau, et mise en évidence des limites du colostrum seul pour évaluer la santé du veau. Des pistes alternatives sont proposées : études rétrospectives, espèces ou contextes d'élevage plus adaptés.

Title: Impact of omega-3 fatty acids on maternal and neonatal health in dairy cattle during the dry period: a nutritional epidemiology approach

Keywords: epidemiology, nutrition, health

Abstract: The main objective of this thesis was twofold: to assess, through an epidemiological approach, the effect of supplementation with extruded linseed, rich in omega-3 fatty acids, during the dry period on maternal and neonatal energy metabolism and health, as well as on the composition and quality of colostrum and transition milk, and the transfer of omega-3 fatty acids from the diet to the cow and ultimately to the calf. It also aimed to design and test the feasibility of a randomized controlled nutritional epidemiology study.

Although the large-scale prospective trial could not be carried out, the project led to several major advances: the development of a functional framework for biomarker classification (exposure, health, status), identification of IgG as a predictive biomarker, demonstration of omega-3 maternal-to-calf transfer, and recognition of the limitations of colostrum alone to assess calf health. Alternative strategies are proposed, including retrospective studies and trials in more suitable species or farming systems.