



HAL
open science

Prévalence et rôle pathogènes des astrovirus dans les bronchopneumonies infectieuses chez le veau

Coline Mechin

► **To cite this version:**

Coline Mechin. Prévalence et rôle pathogènes des astrovirus dans les bronchopneumonies infectieuses chez le veau. Médecine vétérinaire et santé animale. 2021. dumas-04000196

HAL Id: dumas-04000196

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04000196v1>

Submitted on 22 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

PREVALENCE ET ROLE PATHOGENE DES ASTROVIRUS DANS LES BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES CHEZ LE VEAU

THESE
pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

MECHIN Coline

Directeur de thèse : M. Gilles MEYER

JURY

PRESIDENT :

M. Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESSEURS :

M. Gilles MEYER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Christelle CAMUS

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

Remerciements :

À mon jury de thèse

À Monsieur Philippe JACQUIET

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en parasitologie et maladies parasitaires

Qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Remerciements sincères.

À Monsieur Gilles MEYER

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse en pathologie des ruminants

Mon directeur de thèse, pour m'avoir proposé ce sujet et m'avoir soutenue et guidée pendant sa réalisation. Merci pour sa confiance et sa patience.

À Madame Christelle CAMUS

Maitre de conférences en biologie cellulaire et moléculaire

Qui me fait l'honneur de participer à ce jury de thèse. Remerciements sincères.

Aux personnes ayant contribué à cette étude :

A Madame Virginie DENIZOT

Vétérinaire conseil au GDS Bretagne antenne du Finistère

Mon maître de stage, pour m'avoir accompagnée sur le terrain et guidée dans la réalisation de ce projet. Merci pour sa bienveillance et son aide précieuse.

A Madame Cécile CAUBET

Pour la réalisation des analyses de laboratoire, remerciements sincères.

A Madame Kenza TOUKMIDINE

Ma partenaire dans la réalisation des prélèvements en Bretagne. Remerciements cordiaux.

Table des matières

AGREMENT SCIENTIFIQUE	3
REMERCIEMENTS :	7
LISTE DES FIGURES	11
LISTE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	15
PARTIE I : LES BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES CHEZ LE VEAU	17
I. DEFINITION, SIGNES CLINIQUES ET IMPORTANCE	17
A. <i>Définition, manifestation clinique</i>	17
B. <i>Importance économique</i>	17
C. <i>Gestion et prévention</i>	18
1. Traitement curatif	18
2. Traitement préventif	18
II. EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RISQUES	19
A. <i>Épidémiologie :</i>	19
B. <i>Facteurs de risques :</i>	19
1. Prédisposition anatomique	20
2. Facteurs individus dépendant	20
3. Facteurs d'environnement	21
4. Facteurs lié à la conduite d'élevage	21
III. LES PRINCIPALES ETIOLOGIES	22
A. <i>Les virus</i>	23
1. Virus syncytial bovin (BRSV)	23
2. Virus Para-influenza 3 (BPI3)	24
3. Coronavirus bovin (BCoV)	24
4. Herpesvirus bovin de type 1 (BoHV-1)	25
5. Virus de la diarrhée virale bovine (BVDV)	26
6. Autres virus	26
B. <i>Les bactéries</i>	26
1. Pasteurelles	27
a) <i>Manheimia haemolytica</i>	27
b) <i>Histophilus somni</i>	28
c) <i>Pastereurella multocida</i>	29
2. Mycoplasmes	30
3. Autres bactéries	30
C. <i>Importance des co-infections</i>	31
1. Le microbiote respiratoire	31
2. Synergie virus-bactérie	32
3. Synergie virus-virus	33
4. Interaction bactérie-bactérie	33
D. <i>La recherche de nouveaux pathogènes</i>	35
1. Les techniques d'identification	35
2. Les « nouveaux » pathogènes respiratoires	36
PARTIE II : FOCUS SUR LES ASTROVIRUS	39
I. DEFINITION, STRUCTURE ET CLASSIFICATION	39
II. ESPECES CIBLES, PASSAGE DE LA BARRIERE INTER-ESPECE	40

III. ROLES PATHOGENES CONNUS	41
A. <i>Maladie digestive</i>	41
B. <i>Maladie respiratoire</i>	41
C. <i>Atteinte neurologique</i>	42
IV. LES ASTROVIRUS AU SEIN DE L'ESPECE BOVINE	42
PARTIE III : ÉTUDE EXPERIMENTALE	45
I. OBJECTIFS	45
II. MATERIEL ET METHODE.....	45
A. <i>Echantillonnage</i>	45
B. <i>Score clinique</i>	46
C. <i>Réalisation des prélèvements</i>	47
1. Ecouvillons nasaux profonds (EN)	47
2. Lavages broncho-alvéolaire (LBA)	48
a) Matériel.....	48
b) Réalisation des prélèvements	48
3. Ecouvillons rectaux (ER)	49
D. <i>Analyses PCR</i>	49
1. Extraction de l'ARN	49
2. Réalisation d'une RT-qPCR en temps réel	50
3. Séquençage et analyse génétique.....	51
III. RESULTATS	51
A. <i>Fréquence des agents pathogènes respiratoires et co-infections</i>	51
1. Prévalence des différents agents infectieux de BPI.....	51
2. Co-infections au sein des élevages bretons	53
3. Co-infection à l'échelle des individus	55
B. <i>Signes cliniques</i>	59
1. Importance des signes cliniques si mono ou poly infection	59
2. Corrélation des signes cliniques et sévérité de l'affection en fonction du pathogène retrouvé.....	63
C. <i>Prévalence et rôle pathogène du BAstrV</i>	64
1. Fréquence de détection du BAstrV chez les individus sains et malades	64
2. Corrélation entre la présence du BAstrV dans les prélèvements respiratoires profonds, supérieurs ou de fèces et les signes cliniques associés	65
3. Astrovirus et co-infection.....	66
IV. DISCUSSION	67
A. <i>Prévalence et association de pathogènes dans les BPI chez le veau</i>	67
B. <i>Implication de l'astrovirus bovin dans le développement de BPI chez le veau</i>	70
C. <i>Limites</i>	71
CONCLUSION	73
BIBLIOGRAPHIE :	75
RESUME	84
ABSTRACT	84

Liste des figures

Figure 1: Pouvoir pathogène des différents agents respiratoires bovins démontré lors d'infection expérimentale (Salem 2018).....	23
Figure 2 : Interactions entre hôte, bactérie et environnement lors de broncho-pneumonie à <i>Mannheimia haemolytica</i> chez les bovins. (Rice et al. 2007)	28
Figure 3 : Les différentes interactions coopératives entre les espèces bactériennes. (Welp, Bomberger 2020)	34
Figure 4: Structure génomique des astrovirus (De Benedictis et al. 2011)	39
Figure 5 : Grille de score utilisée pour établir le score clinique de chaque animal	47
Figure 6 : Matériel utilisé pour la réalisation des LBA	48
Figure 7 : Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes profondes dans les élevages atteints de BPI et les élevages sains	52
Figure 8: Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes supérieures entre les élevages atteints de BPI et les élevages sains	52
Figure 9: Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes profondes des animaux malades de BPI et des animaux non malades, que ces derniers proviennent d'élevages sains ou infectés.....	53
Figure 10: Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes superficielles des animaux malades de BPI et des animaux non malades, que ces derniers proviennent d'élevages sains ou infectés.....	53
Figure 11: Co-infections présentes dans les différents élevages dans les voies respiratoires profondes	54
Figure 12: Co-infections présentes dans les différents élevages dans les voies aériennes supérieures.....	54
Figure 13: Résultats PCR (en Ct) dans les LBA des élevages présentant des signes cliniques de BPI.....	55
Figure 14 : Résultats PCR (en Ct) dans les LBA des élevages ne présentant pas de signes cliniques de BPI	55
Figure 15: Résultats PCR (en Ct) dans les EN des élevages présentant des signes cliniques de BPI.....	56
Figure 16: Résultats PCR (en Ct) dans les EN des élevages ne présentant pas de signes cliniques de BPI	57
Figure 17 : Score clinique moyen des veaux en fonction du nombre de pathogène infectant dans les voies aériennes profondes.	59

Figure 18 : Score clinique moyen des veaux en fonctions du nombre de pathogène infectant dans les voies aériennes supérieures.....	59
Figure 19 : Score clinique moyen des veaux en fonction du pathogène ou de l'association de pathogènes présents dans les voies aériennes profondes.	60
Figure 20 : Score clinique moyen des animaux en fonction du pathogène ou de l'association de pathogènes présent dans les voies aériennes supérieures.	61
Figure 21: Comparaison des scores cliniques en fonction de l'association de pathogènes et de la localisation chez les individus.....	62
Figure 22 : Effet clinique moyen de chacun des pathogènes en fonction de leur localisation supérieure ou profonde.	63
Figure 23: Comparaison de la prévalence du BAstrV dans les voies aériennes supérieures (EN), profondes (LBA) ou dans les fèces (ER)	64
Figure 24 : Score clinique moyen des animaux en fonction de la localisation digestive (ER), aérienne supérieure (EN) ou profonde (LBA) du BAstrV.	65
Figure 25 : Comparaison du score clinique moyen entre les animaux infectés par un ou plusieurs pathogènes et la même association combinée au BAstrV, retrouvé dans les voies aériennes profondes.	66

Liste des acronymes et abréviations

ARN : acide ribonucléique

BAdV : adénovirus bovin

BAstrV : astrovirus bovin

BBE : endothélium bronchique bovin

BCoV: coronavirus bovin

BoHV-1 : herpès-virus bovin de type 1

BPI : bronchopneumonie infectieuse

BPI3 : virus para-influenza bovin de type 3

BRSV : virus syncytial respiratoire bovin

BVDV : virus de la diarrhée virale bovine

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

Ct : cycle de seuil

EN : écouvillon nasal

ER : écouvillon rectal

GMQ : gain moyen quotidien

HAstVs : astrovirus humain

IBR : infectious bovine rhinotracheitis, rhinotrachéite infectieuse bovine

IDV : influenza D virus

IFN : interféron

Ig : immunoglobuline

LBA : lavage broncho-alvéolaire

LPS : lipopolysaccharide

ml : millilitre

OMP : outer membrane proteins : protéines de la membrane externe régulées par le fer

PAstV-4 : astrovirus porcin 4

PCR : réaction de polymérisation en chaîne

PPi : pyrophosphate

RT-PCR : PCR en transcription inverse

RT-qPCR : PCR en transcription inverse quantitative

μl : microlitre

VRSB : virus respiratoire syncytial bovin

Introduction

Les bronchopneumonies infectieuses (BPI) sont des pathologies multifactorielles de l'appareil respiratoire profond chez le veau. Elles associent à la fois la présence d'un ou plusieurs agents infectieux viraux et ou bactériens avec des facteurs de risque environnementaux et individus dépendant. Elles représentent un enjeu sanitaire et économique important en élevage dans le monde entier, aussi bien en atelier laitier qu'en atelier allaitant, en raison des coûts associés à la réduction du gain de poids, du traitement, de la prophylaxie et des taux de morbidité et de mortalité élevés. De par l'impact économique important qu'elles peuvent avoir, les BPI sont des pathologies très étudiées. Les études cherchent à identifier les différents pathogènes impliqués dans leur développement, ainsi que les principaux facteurs d'élevage et individuel pouvant influencer leur apparition.

Les principaux agents étiologiques entraînant le développement de BPI ont été identifiés au cours des dernières années. Parmi eux, on peut citer notamment les bactéries *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* et *Mycoplasma bovis* ainsi que des virus comme le virus respiratoire syncytial bovin, le virus parainfluenza bovin de type 3, le coronavirus bovin et le virus de la diarrhée virale bovine. De nouveaux pathogènes sont néanmoins toujours identifiés dans la sphère respiratoire des bovins grâce aux nouvelles technologies de séquençage génétique. L'implication de ces différents virus dans le développement des signes cliniques de BPI est toujours en étude. Récemment, un nouveau virus a été identifié au niveau pulmonaire chez les jeunes bovins et suspecté d'être impliqué dans le développement de BPI : l'astrovirus bovin (BAstrV). Les astrovirus sont des petits virus à ARN, non enveloppés, que l'on retrouve chez de nombreuses espèces à l'origine de tableaux cliniques multiples : atteinte neurologique, atteinte digestive ou encore atteinte respiratoire.

Cette étude a pour but d'évaluer la prévalence des principaux virus déjà connus comme impliqués dans le développement de BPI chez le veau. Ainsi nous avons étudié les effets cliniques de chaque pathogène pris isolément et des associations entre ces différents pathogènes. Le deuxième objectif est d'étudier la prévalence et le caractère pathogène de l'astrovirus bovin dans le développement de BPI chez le veau.

Ainsi, 52 veaux de différentes races provenant de 9 élevages laitiers et allaitants (3 élevages sains de BPI et 6 élevages atteints de BPI) de la région Bretagne ont été prélevés par lavage broncho-alvéolaire, écouvillonnage nasal et rectal. Chaque animal a été examiné cliniquement pour établir un score clinique, afin d'établir le degré de sévérité de l'infection. Les différents prélèvements ont ensuite été analysés par PCR.

Partie I : Les bronchopneumonies infectieuses chez le veau

I. Définition, signes cliniques et importance

A. Définition, manifestation clinique

Les bronchopneumonies infectieuses (BPI) sont des affections inflammatoires contagieuses de l'appareil respiratoire profond d'origine aérienne le plus souvent. Ce sont des affections plurifactorielles résultant d'interactions complexes entre les infections du tractus respiratoire et les facteurs de risques environnementaux, les facteurs liés à la conduite d'élevage et individus dépendants. Ces facteurs de risque sont généralement à l'origine d'un stress délétère pour le système immunitaire de l'organisme offrant un terrain favorable à une contamination par un ou plusieurs agents infectieux (virus, bactéries, mycobactéries, mycoplasmes, parasites). On parle ainsi de complexe respiratoire bovin (Francoz, Nichols 2017).

Quel que soit le facteur ou l'association de facteurs à l'origine de la BPI, les signes cliniques sont constants. On observe le plus souvent une hyperthermie précoce, associée à une anorexie, un abattement plus ou moins marqué et une tachypnée. On peut également observer du jetage, de la toux, une dyspnée respiratoire associée ou non à des signes de pleurésie (Francoz, Couture 2014).

B. Importance économique

Les BPI sont un problème fréquent et onéreux dans l'industrie bovine, aussi bien en atelier allaitant qu'en atelier laitier. Les pertes économiques sont dues à la mortalité, au retard de croissance et à la baisse de productivité (non vente des animaux ou non-valeur des animaux, baisse de performance de reproduction, baisse de production laitière, baisse de la longévité), aux frais vétérinaires importants, et aux frais de main d'œuvre.

La morbidité de cette pathologie est variable selon les études, avec une morbidité moyenne allant de 6 à 15% au sein des élevages. La mortalité varie, quant à elle, en moyenne entre 5 et 10% (Dabo, Taylor, Confer 2007).

Une étude, s'étant intéressée plus particulièrement au système engraisseur des Pays de la Loire en 2008, a montré un taux de morbidité de 22,8% associé à une perte moyenne de GMQ de 60 à 70g/j pouvant aller jusqu'à 110g/j pour les jeunes bovins les plus affectés. La perte de revenus, calculée par rapport à des élevages avec une faible incidence de la

maladie, représentait une perte annuelle de revenu de 11,4% en cas d'incidence modérée et jusqu'à 26,3% en cas d'incidence forte (Bareille et al. 2008).

C. Gestion et prévention

1. Traitement curatif

Le traitement des BPI chez le veau vise à lutter contre l'inflammation des voies aériennes profondes et traiter ou prévenir les potentielles surinfections bactériennes.

Dans un contexte d'utilisation de plus en plus raisonnée des antibiotiques, la prise en charge et le traitement des BPI est un enjeu important. Historiquement les BPI étaient traitées avec une administration généralisée d'antibiotiques de manière curative ou préventive afin d'éviter la dissémination et la surinfection bactérienne. Cependant, les connaissances actuelles ont montré que les BPI étant des maladies plurifactorielles, l'utilisation prophylactique d'antibiotique serait à l'origine d'une augmentation de l'inefficacité des traitements et d'apparition de bactério-résistance. (Ng et al. 2015) Leur utilisation en antibioprévention est donc aujourd'hui interdite en France.

Des anti-inflammatoires sont également utilisés afin de diminuer ou faire disparaître les signes cliniques et ainsi favoriser la reprise alimentaire et accélérer la reprise de l'état général dans un délai raisonnable (24 à 48h). Cependant leur utilité n'a pas été démontrée, leur utilisation pourrait donc être délétère.

L'efficacité du traitement des BPI repose avant tout sur l'identification du pathogène en cause, la précocité du traitement, le choix raisonné de l'antibiotique vis-à-vis des germes présumés responsables, ainsi que les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des molécules en question.

Le traitement médical des BPI pour être efficace doit toujours être accompagné de l'identification et de la gestion des facteurs de risques, qui permettent d'obtenir au long court de meilleurs résultats pour faire diminuer la prévalence des BPI au sein d'un élevage. (Zaid, Ait Lbacha 2019)

2. Traitement préventif

De nombreux vaccins mono ou multivalents ont été développés contre les différents agents infectieux de BPI connus, aussi bien viraux (IBR, BVD, PI-3, et le BRSV) que bactérien (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* et *Histophilus somni*). Leur efficacité est néanmoins discutée pouvant aller, selon les études, d'un effet protecteur à une absence totale d'effet. Il faut en moyenne une période d'une à trois semaines pour obtenir une

immunité protectrice chez le veau. La principale limite à l'efficacité de la vaccination des jeunes bovins provient de l'interaction avec l'immunité passive transmise par la mère via le colostrum.

La maîtrise des facteurs de risque environnementaux (détaillés plus loin), le respect des bonnes pratiques d'hygiène et le respect des consignes de biosécurité en matière de quarantaine et de séparation des animaux sains / animaux contaminés est également essentielle dans la prévention des BPI. (Zaid, Ait Lbacha 2019)

II. Epidémiologie et facteurs de risques

A. Épidémiologie :

La BPI est la première cause de mortalité chez le veau au sein des élevages naisseurs. Sur cette période, elle est la seconde affection la plus rencontrée derrière les gastro-entérites. Elle touche également les jeunes bovins plus âgés notamment les taurillons dans les ateliers d'engraissement et les jeunes vaches laitières. Elle devient la pathologie la plus fréquente chez les jeunes bovins après le sevrage. Elle touche généralement les veaux âgés de 3 semaines à 6 mois, avec un pic chez les veaux âgés de 4 à 6 semaines.

La contagiosité de la pathologie en fait un enjeu de taille au sein des élevages. 2 à 10% des exploitations bovines seraient touchées par les BPI. Au sein d'un élevage, la maladie atteint en général les bovins par lot. On observe que la maladie touche en général moins de la moitié des lots dans un même élevage et que parmi ceux-ci, 15 à 44% des animaux sont atteints. Les jeunes bovins sont les plus touchés, la prévalence peut atteindre jusqu'à 25% des veaux d'un même troupeau.

Certaines races semblent également prédisposées pour développer des BPI. Les races allaitantes seraient particulièrement concernées par les problèmes respiratoires. Une des raisons suspectées est leur musculature plus imposante, nécessitant des apports en oxygène plus grand et donc un travail d'échange gazeux au niveau pulmonaire plus important. Parmi les races allaitantes, les races Blanc Bleu et Hereford seraient prédisposées au développement de BPI. (Francoz, Couture 2014)

B. Facteurs de risques :

Les BPI sont des affections complexes et multimodales. Elles reposent sur une exposition à différents facteurs de risque et une contamination des voies aériennes profondes par un ou plusieurs pathogènes.

Les facteurs de risque agissent à différents niveaux : ils favorisent la transmission des pathogènes, et augmentent la réceptivité / sensibilité des veaux à l'action des pathogènes (notamment par des effets altérant la réponse immunitaire de l'hôte).

1. Prédisposition anatomique

L'anatomie des poumons des bovins est en grande partie responsable de leur sensibilité aux différentes affections pulmonaires. En effet, les bovins ont une faible capacité d'échange gazeux, due à une faible concentration en capillaires alvéolaires en comparaison aux autres mammifères. Ainsi, ils utilisent en permanence une plus grande part de leur parenchyme pulmonaire pour couvrir leur besoin en oxygène, augmentant l'exposition pulmonaire aux contaminants de l'air, aux substances allergènes et aux substances nocives. De même, le recrutement des macrophages d'origine sanguine est ainsi plus long et limité, diminuant la réponse du système immunitaire face aux infections pulmonaires.

La faible capacité d'échange gazeux chez les bovins les prédispose à développer une acidose respiratoire, à l'origine d'une baisse de la clairance pulmonaire et d'une diminution de la résistance aux infections pulmonaires. Cette faible capacité d'échange gazeux les rend également plus sensibles à l'hypoxie du parenchyme pulmonaire (notamment en cas d'effort physique ou d'altitude) pouvant entraîner une baisse de l'activité de l'ascenseur mucocillaire et donc à une baisse de la barrière naturelle contre les micro-organismes pathogènes. (Veit, Farrell 1978)

Les poumons des bovins sont également fortement compartimentalisés sans ventilation collatérale. Cette absence de ventilation collatérale condamne ainsi tout le parenchyme pulmonaire situé en aval d'une lésion en cas de lésion pulmonaire. Lors de BPI, le maintien d'une respiration fonctionnelle demande alors beaucoup d'énergie, alors même que la capacité respiratoire est déjà limitée. Les mouvements ventilatoires sont alors augmentés, provoquant surexposition et une irritation supplémentaire du parenchyme pulmonaire, propice à la contamination par des agents infectieux. (Francoz, Couture 2014)

2. Facteurs individus dépendant

A la naissance, les veaux ont un système immunitaire immunocompétent mais non totalement fonctionnel : les veaux naissent sans anticorps circulants. Par ailleurs, la réponse immunitaire cellulaire va mettre environ trois mois pour être totalement opérationnelle. L'ingestion du colostrum de la mère par le veau est alors primordiale pour qu'un transfert passif des anticorps maternels, des cytokines pro-inflammatoires et des cellules de présentation de complexes antigène-anticorps au veau nouveau-né ait lieu. Cette prise colostrale est un enjeu essentiel pour l'acquisition d'une protection immunitaire pour le

veau pendant au moins ses 2 à 4 premières semaines de vie. La prise colostrale doit être quantitativement et qualitativement correcte pour assurer une bonne protection de chaque veau. L'absorption du colostrum par les cellules digestives du veau se fait via un récepteur FcRn et par endocytose via des « vacuoles de transport ». La concentration de ces récepteurs à la surface des cellules digestives est maximale dans les 6 à 12 premières heures de vie et décroît ensuite pour disparaître 48 heures après la mise-bas. Pour une prise colostrale optimale, le veau doit donc ingérer le colostrum de la mère ou d'une autre dans les 12 heures suivant la mise bas. La surveillance de l'éleveur à chaque naissance est donc importante : il doit pouvoir intervenir en biberonnant le veau avec un colostrum de synthèse ou d'une autre mère en cas de non prise par le veau. (Chase, Hurley, Reber 2008)

3. Facteurs d'environnement

Parmi les facteurs d'environnement impactant la prévalence des BPI, on retrouve principalement : la température, l'humidité, les courants d'air et l'aération des bâtiments. En effet, le froid va avoir un effet délétère sur le système immunitaire des jeunes bovins. L'humidité et les courants d'air dépendent grandement des systèmes d'aération des bâtiments et donc de la ventilation. Il est important de trouver un équilibre entre une aération efficace et l'absence de courants d'air, favorisant la circulation des pathogènes. L'aération est également un moyen de maîtriser la concentration en ammoniacque dans le bâtiment.

Les facteurs d'environnement sont des facteurs plus ou moins maîtrisables qui dépendent en grande partie de l'architecture même des bâtiments d'élevage. Ils représentent généralement un coût plus important pour leur prise en charge.

4. Facteurs lié à la conduite d'élevage

La conduite d'élevage joue un rôle important dans l'apparition des BPI. Ces facteurs, relativement facilement maîtrisables sont un enjeu clé à maîtriser pour les élevages souffrant d'épisodes récurrents de BPI.

L'allotement et la répartition des animaux au sein des bâtiments est un premier point. En effet, l'allotement des animaux en lui-même entraîne un mélange d'animaux de statuts sanitaires différents, possédant une flore pathogène variée. Il génère également un stress important pour les jeunes bovins, responsable d'une baisse d'immunité chez les veaux. De plus, la proximité entre des lots d'âge différent est un risque pour l'apparition de BPI. Les animaux plus âgés ont généralement développé une immunité contre les principaux pathogènes responsables des BPI, mais peuvent toujours servir de réservoir aux pathogènes et contaminer les individus encore naïfs. La densité des lots a également un impact

important sur la qualité de l'air au sein des bâtiments. Une surpopulation entraîne une augmentation de la quantité de gaz toxiques dans la litière. Par le mouvement des animaux, ces gaz peuvent ensuite se retrouver en suspension dans l'air. Ils sont alors à l'origine d'un ralentissement de l'ascenseur mucociliaire et d'une irritation et une inflammation des voies aériennes superficielles et profondes propices à l'apparition de BPI.

L'alimentation est également un point critique. Le changement d'alimentation est générateur de stress chez les jeunes bovins. En effet, le passage d'une alimentation liquide à une alimentation solide peut entraîner une mobilisation des réserves trop importante. Celle-ci peut alors aboutir à une acidose ruminale pouvant conduire à une acidose métabolique qui diminue la capacité d'ingestion et diminue de ce fait la réponse immunitaire. Une transition alimentaire adaptée doit donc être respectée afin de minimiser les risques. Une bonne alimentation avec une ration équilibrée et une vermifugation adaptée permet de limiter le stress généré par les carences et le parasitisme et donc de favoriser le système immunitaire des animaux.

Le respect des règles d'hygiène, avec un nettoyage et une désinfection entre les différents lots, est également important dans la maîtrise des facteurs de risque, notamment après le passage d'un lot atteint de BPI au sein des bâtiments. L'isolement des animaux atteints par rapport aux animaux sains au sein d'un même lot et le strict respect des consignes de biosécurité en cas d'épizootie permet également de limiter la diffusion des pathogènes au sein de l'élevage. Une période de quarantaine doit également être respectée lors de l'introduction de nouveaux animaux au sein de l'élevage pour éviter la dissémination de pathogènes extérieurs. (Zaid, Ait Lbacha 2019)

III. Les principales étiologies

Malgré la présence de plusieurs facteurs de risque liés à l'environnement, la conduite d'élevage ou l'individu, ce sont les agents pathogènes qui sont responsables des signes cliniques observés chez les veaux lors de BPI. Grâce aux différentes techniques d'identification développées dans les dernières années, de nombreux pathogènes ont pu être mis en évidence comme responsables, seuls ou en association, des signes cliniques de BPI. On les classe souvent en pathogènes majeurs (pouvoir pathogène démontré expérimentalement et fréquence élevée) ou comme mineurs (pouvoir pathogène modéré expérimentalement) (figure 1). Une des questions actuelles concernant les pathogènes mineurs est leur capacité à engendrer la maladie respiratoire quand ils sont associés entre eux.

Sept pathogènes sont les plus couramment identifiés lors de BPI. Il s'agit de trois virus : le virus syntycial bovin (BRISV), le virus Parainfluenza 3 (BPI3) et le coronavirus bovin

(BCoV); et de quatre bactéries: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* et *Mycoplasma bovis*. Cependant, d'autres pathogènes ont pu être mis en évidence comme responsables, directement ou en association, de BPI.

Pouvoir pathogène majeur	Fréquence élevée	<i>Manheimia haemolytica</i> A1, A6 <i>Salmonella</i> spp <i>Mycoplasma bovis</i> VRSB BHV-1 <i>Dictyocaulus viviparus</i>
	Fréquence faible à nulle	BHV-1 <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycoplasma mycoides ssp mycoides</i>
Pouvoir pathogène faible à modéré	Virus : BVDV, Parainfluenza 3 (PI3), Adenovirus 3, coronavirus Bactéries: <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i> <i>Chlamydia psittaci</i> ,	
Pouvoir pathogène mineur ou inconnu	Virus : Réovirus, Rhinovirus, Bredavirus, Influenza virus D Bactéries : <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma dispar</i> <i>ureaplasma diversum?</i> <i>Actinobacillus ligneresii</i> , <i>Aspergillus</i> spp <i>Mycoplasma arginini</i> / <i>M. bovirhinis</i>	

Figure 1: Pouvoir pathogène des différents agents respiratoires bovins démontré lors d'infection expérimentale (Salem 2018)

A. Les virus

1. *Virus syncytial bovin (BRSV)*

Le BRSV est le pathogène respiratoire majeur chez les bovins. Il appartient à la famille des *Pneumoviridae*, genre *orthopneumovirus*. Expérimentalement l'infection par le BRSV à des veaux naïfs entraîne des BPI modérées à sévères, selon le mode d'inoculation et la souche virale utilisée. De plus, c'est un virus très largement répandu au sein de l'espèce bovine et la grande majorité des bovins adultes sont séropositifs au BRSV après 12 mois de vie. Même si le taux de morbidité du virus est élevé, le taux de mortalité du virus reste faible autour de 0,5-1%, sauf dans certains cas où la mortalité peut monter jusqu'à 20%. Les veaux âgés entre 1 et 6 mois sont souvent plus sévèrement affectés par une infection au BRSV que des animaux plus vieux. Chez les jeunes, les formes sévères sont associées à une réponse immunitaire cellulaire inflammatoire exacerbée, avec la libération de nombreuses cytokines pro-inflammatoires spécifiques à l'origine de signes cliniques (fièvres, tachypnée) plus marqués. Chez les animaux plus âgés, la réponse immunitaire est mixte humorale et

cellulaire et les signes cliniques sont souvent moins sévères (bronchiolite obstructive modérée).(Grell et al. 2005)

Le temps d'incubation estimé de ce virus est de 2 à 5 jours. L'infection par le BRSV peut être subclinique. Elle peut ne toucher que les voies aériennes hautes, ou atteindre à la fois les voies aériennes hautes et profondes. Les signes cliniques observés ne sont pas spécifiques du virus et correspondent aux symptômes généraux des BPI. Le virus est détectable au niveau pulmonaire à partir de 2 à 3 jours post-infection et jusqu'à 7 à 10 jours post-infection. Il peut être en lui-même responsable des signes cliniques observés et en plus favoriser l'apparition de surinfections bactériennes secondaires.

Dans les formes sévères, le BRSV est responsable d'un syndrome de détresse respiratoire (veau avec la tête allongée, bouche ouverte, en orthopnée et en dyspnée sévère), fréquemment mortel.

Histologiquement, l'infection par le BRSV est reconnaissable par des lésions de bronchiolite obstructive avec des lumières bronchiolaires partiellement obstruées par une masse fibrocellulaire polypoïde composée de cellules inflammatoires mononucléaires, de neutrophiles, de cellules épithéliales, de fibrine et de cellules syncytiales multinucléées, le tout soutenu par un fin stroma fibrovasculaire. (Sacco et al. 2014)

2. Virus Para-influenza 3 (BPI3)

Le virus Para-influenza 3 bovin (nouvellement nommé bovine respirovirus 3) appartient à la famille des *Paramyxoviridae*, genre *respirovirus*. Le BPI3 est souvent à l'origine de formes subcliniques ou bénignes. Souvent associé à des surinfections virales ou bactériennes notamment à *Mannheimia hemolytica* et *Mycoplasma spp*, il est plutôt considéré comme prédisposant aux infections bactériennes et virales secondaire à l'origine de BPI, que comme pathogène responsable des signes cliniques.

Histologiquement, il est à l'origine de lésions bronchiolytiques typiques contenant des corps d'inclusion intracytoplasmiques et des syncytia à l'origine d'une pneumonie interstitielle pouvant être différenciée de l'infection par le BRSV en utilisant l'immunohistochimie. Il est également responsable d'une destruction partielle de l'ascenseur mucociliaire.(Ellis 2010)

3. Coronavirus bovin (BCoV)

Le Coronavirus bovin appartient à la famille des Coronaviridae. Il possède un tropisme à la fois respiratoire et digestif. Le BCoV se transmet par la voie fécale-orale ou par aérosol. Il infecte les cellules épithéliales des voies respiratoires (les cornets nasaux, la

trachée et les poumons) et des intestins (les villosités de l'intestin grêle et cryptes du gros intestin). Si le lieu de réplication initiale du virus porte encore à débat, les auteurs s'accordent sur le fait que l'excrétion du virus se fait à la fois via les sécrétions nasales et les fèces. En effet, selon les études, les auteurs affirment que la réplication initiale du virus a lieu dans les voies aériennes, protégée par du mucus sécrété en grande quantité et que ce dernier, une fois déglutit, infecte le tractus digestif. (Oma et al. 2016; Saif 2010) Certains auteurs penchent plutôt pour une réplication initiale dans le tractus digestif puis une contamination du système respiratoire via la virémie. (Park et al. 2007)

Au niveau digestif, le BCoV est à l'origine de diarrhée néonatale et de la dysenterie d'hiver chez les adultes. Il affecte tout d'abord le duodénum avant de se répandre à l'ensemble des intestins. Il provoque une atrophie des villosités et des cryptes et autres lésions de la muqueuse à l'origine de la diarrhée observée. (Park et al. 2007; Boileau, Kapil 2010)

Au niveau respiratoire, il provoque la nécrose de l'épithélium alvéolaire, ce qui peut entraîner une hyperplasie compensatoire des pneumocytes de type II, ainsi que l'infiltration de macrophages et de cellules lymphoïdes dans l'interstitium, conduisant au développement d'une pneumonie interstitielle. Au niveau des cornets nasaux et de la trachée, il est également responsable de lésions épithéliales et d'une disparition des cils de l'ascenseur muco-ciliaire. Les lésions causées par le virus peuvent alors favoriser une surinfection, bactérienne notamment. (Oma et al. 2016; Park et al. 2007)

Expérimentalement, l'inoculation de BCoV à des veaux naïfs entraîne des signes cliniques légers de BPI et longtemps ce virus a été considéré comme un pathogène mineur lors de BPI. Toutefois, il est de plus en plus fréquemment détecté dans les prélèvements respiratoires des veaux atteints de BPI, seul ou en association avec d'autres virus/bactéries.

4. Herpesvirus bovin de type 1 (BoHV-1)

L'herpesvirus bovin de type 1 est responsable de la rhinotrachéite infectieuse également appelée IBR (infectious bovine rhinotracheitis). C'est une maladie réglementée et très surveillée en France depuis 2006. Elle est responsable d'une atteinte des voies respiratoires supérieures, mais également d'avortements et de métrite, d'encéphalite chez le veau ou de conjonctivite.

La contamination se fait de proche en proche par voie respiratoire ou génitale. S'en suit alors une phase clinique ou subclinique à l'origine des symptômes. La réaction immunitaire permet de faire cesser les symptômes et l'excrétion virale, mais aboutit à une phase de latence du virus et les animaux infectés deviennent porteurs asymptomatiques.

Ces animaux asymptomatiques sont alors capables de réactiver et de réexcréter le virus en cas de stress ou de traitement médical.

La principale forme d'IBR observée est subclinique et asymptomatique. La forme clinique la plus courante est la forme respiratoire, où le virus est responsable d'une affection des voies respiratoires hautes mais n'est pas considéré comme à lui seul, responsable des signes de BPI observés. Par contre le BoHV-1 induit des lésions sévères de l'appareil respiratoire supérieur et a un effet immunosuppresseur, facilitant les surinfections bactériennes aux pasteurelles. (Yates 1982)

5. Virus de la diarrhée virale bovine (BVDV)

Le virus de la diarrhée virale bovine fait partie de la famille des *Pestiviridae*. Le virus est considéré comme ayant un pouvoir pathogène respiratoire faible en lui-même, mais il est responsable d'une immunosuppression (lymphopénie transitoire sévère) permettant l'apparition de surinfection virale ou bactérienne notamment à *Mannheimia haemolytica*. Lors d'épisode enzootique de BPI, il est le plus fréquemment isolé chez les veaux touchés et est quasiment systématiquement en association avec un autre pathogène bactérien ou viral. (Baker 1995)

6. Autres virus

Plus récemment de nouveaux agents pathogènes ont été mis en évidence dans les voies respiratoires de bovins, présentant des signes cliniques de BPI. L'implication de ces virus dans l'apparition de maladie respiratoire est encore peu renseignée. Ils sont généralement retrouvés en association avec les virus cités précédemment. Parmi eux, on peut citer l'Adénovirus bovin de type 3 (BAdv), le virus de l'Influenza D (IDV), le rhinovirus bovin A et également l'astrovirus bovin (BAstrV). (Ng et al. 2015)

B. Les bactéries

Les différentes bactéries responsables de BPI sont majoritairement regroupées dans deux groupes : les pasteurelles (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*) et les mycoplasmes (*Mycoplasma bovis*). D'autres genres de bactéries peuvent également être retrouvés de manière occasionnelle notamment lors de surinfection bactérienne.

1. Pasteurelles

Parmi la famille des *Pasteurellaceae*, trois bactéries sont fréquemment identifiées lors de BPI chez le veau : *Manheimia haemolytica*, *Histophilus somni* et *Pasteurella multocida*. Leur implication dans le développement de signes cliniques lors de BPI est néanmoins difficile à mettre en évidence. En effet, ces mêmes bactéries sont fréquemment retrouvées dans les voies aériennes hautes des animaux sains (portage sain nasopharyngé).

a) *Manheimia haemolytica*

M. haemolytica est la principale bactérie isolée lors de maladies respiratoires chez les bovins en engraissement. Elle joue un rôle majeur dans l'apparition de BPI enzootique néonatale chez tous les veaux.

M. haemolytica est une bactérie de la flore commensale du nasopharynx. Lors de dépression du système immunitaire, notamment lors d'un stress ou d'une infection pulmonaire par des virus ou des mycoplasmes respiratoires, la réponse immunitaire innée ne parvient pas à freiner la colonisation pulmonaire, et on va observer une stimulation des cytokines pro-inflammatoires et une évation bactérienne des défenses de l'hôte qui peuvent favoriser le développement d'une pneumonie. Les sérotypes A1 et A6 sont cependant les plus fréquemment isolés lors de BPI.

Cette bactérie produit des facteurs de virulence important chez les hôtes infectés. Les facteurs de virulence comprennent : les polysaccharides capsulaires, le lipopolysaccharide (LPS), les adhésines, les protéines de la membrane externe, les protéines de la membrane externe régulée par le fer, les enzymes sécrétées, l'endotoxine et des toxines spécifiques des ruminants : les leucotoxines. Les leucotoxines jouent un rôle central dans l'induction de la pneumonie. On observe en effet une infiltration et une destruction des neutrophiles et d'autres leucocytes induites par ces leucotoxines ce qui entrave la clairance bactérienne et contribue au développement d'une pneumonie fibrineuse ou d'une nécrose des lobes pulmonaires. Le LPS peut agir en synergie avec les leucotoxines, en augmentant ses effets et en contribuant à l'activité endotoxique. (Rice et al. 2007; Srikumaran, Kelling, Ambagala 2007; Singh, Ritchey, Confer 2011)

L'importance de ces différents facteurs de virulence dans la pathogenèse en font les cibles principales de la réponse immunitaire de l'hôte.(Srikumaran, Kelling, Ambagala 2007; Confer, Ayalew 2018)

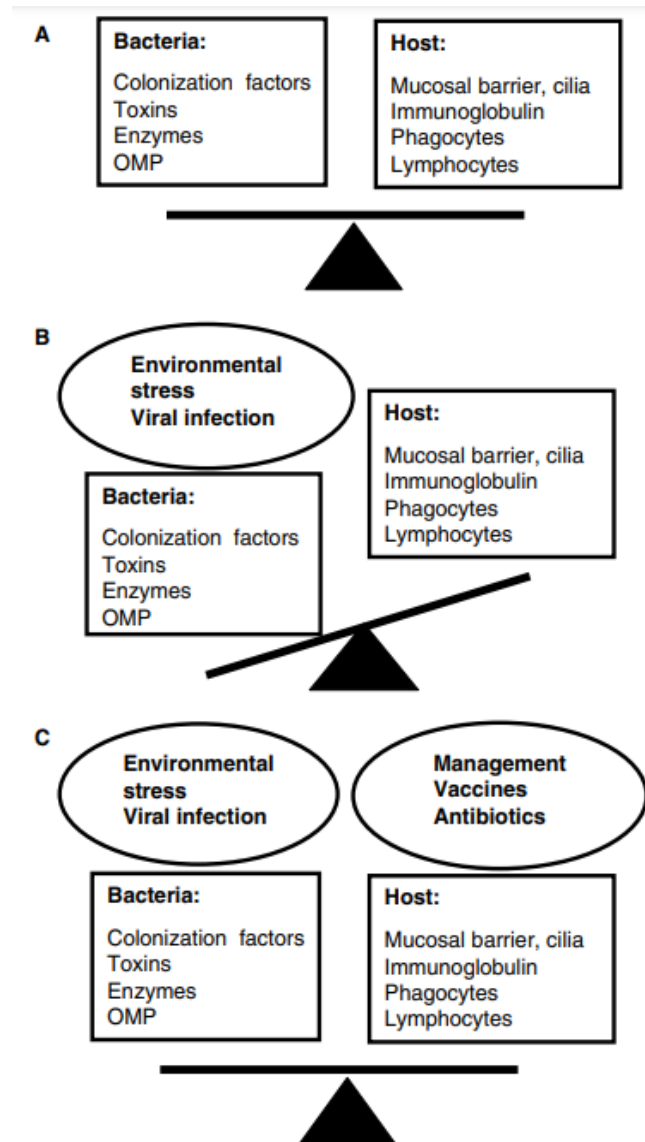


Figure 2 : Interactions entre hôte, bactérie et environnement lors de broncho-pneumonie à *Mannheimia haemolytica* chez les bovins. (Rice et al. 2007)

(A) Homéostasie à l'état commensal ; (B) les facteurs environnementaux font pencher l'équilibre, favorisant la colonisation pulmonaire et la maladie ; (C) les stratégies d'intervention permettent dans certains cas de restaurer l'homéostasie.

OMP : protéines de la membrane externe régulées par le fer

b) *Histophilus somni*

H. somni bien que fréquemment isolée lors de BPI chez le veau, possède un pouvoir pathogène respiratoire moindre que *M. haemolytica*. Il s'agit là encore d'une bactérie commensale de la flore bactérienne du nasopharynx de l'hôte sain qui se développe généralement lors de co-infection par un virus ou une autre bactérie. (Salem 2018) Par contre, cette bactérie est invasive et possède un tropisme large.

En plus d'être un acteur important dans le développement de BPI chez le veau, *H. somni* peut également être à l'origine de septicémies et d'infections de multiples sites systémiques, y compris une infection fulminante du système nerveux central.

Au niveau pulmonaire, *H. somni* stimule l'activité du facteur tissulaire des cellules endothéliales et perturbe les jonctions intercellulaires. Cela a pour effet de renforcer l'activité procoagulante à la surface de l'endothélium et de rendre la monocouche endothéliale plus perméable aux molécules, aux leucocytes et aux cellules. Si les cellules de *H. somni* se disséminent dans la circulation sanguine, elles entraînent fréquemment la formation de thrombus. *H. somni* active également les plaquettes des bovins, qui renforcent l'activité du facteur tissulaire à la surface de l'endothélium. Les recherches en cours visent à déterminer comment l'interaction entre les cellules endothéliales, les plaquettes et les leucocytes peut contribuer à la thrombose. Les leucocytes pourraient notamment contribuer à la formation de thrombus observée chez les bovins infectés. Des travaux antérieurs ont également montré que *H. somni* peut également entraîner l'apoptose de certaines cellules endothéliales bovines, renforçant la destruction du parenchyme pulmonaire notamment. (Behling-Kelly, Rivera-Rivas, Czuprynski 2016)

c) *Pastereurella multocida*

Contrairement aux autres espèces bactériennes du groupe, *P. multocida* est considérée comme ayant un faible pouvoir pathogène seul. C'est un pathogène opportuniste qui profite également d'une dépression du système immunitaire pour proliférer et coloniser les poumons. En effet, les signes cliniques de BPI ne s'observeraient que lors d'une association avec une autre bactérie ou virus. La prévalence de *P. multocida* est cependant importante aussi bien dans les élevages français que dans d'autres pays européens. (Autio et al. 2007; Tessier et al. 2013)

Les mécanismes pathogènes par lesquels ces bactéries peuvent envahir la muqueuse, échapper à l'immunité innée et provoquer une maladie systémique ne sont cependant pas encore clairement identifiés. Les principaux facteurs de virulence identifiés à ce jour sont la capsule et le lipopolysaccharide. La capsule est impliquée dans l'évitement de la phagocytose et de la résistance au système du complément. Le lipopolysaccharide complet serait quant à lui essentiel pour la survie de la bactérie chez l'hôte infecté. D'autres facteurs de virulence ont été identifiés, notamment la toxine de *Pasteurella multocida*, les adhésines de surface putatives et les protéines d'acquisition du fer. Il reste néanmoins encore d'autres facteurs de virulence à identifier, notamment ceux impliqués dans l'attachement initial et l'invasion des cellules hôtes et dans la persistance au sein du parenchyme pulmonaire, environnement relativement pauvre en nutriments et hostile (Harper et al. 2006).

2. *Mycoplasmes*

Chez les bovins, *Mycoplasma bovis* est l'espèce la plus pathogène du tractus respiratoire dans les pays indemnes de péripneumonie contagieuse bovine à *Mycoplasma mycoides*. Il est à l'origine de pneumonie chronique chez les veaux allaitant et laitiers partout dans le monde.

M. bovis est responsable à la fois d'une atteinte pulmonaire mais également de polyarthrites chez les veaux, de mammites, d'infections génitales et d'avortements chez les adultes et d'une réduction de la fertilité in vitro. (Thomas, Mainil, Linden 2003)

L'infection des veaux par *M. bovis* entraîne diverses lésions pulmonaires, notamment une pneumonie caséonécrotique provenant des bronchioles et des bronches. Il existe une persistance à long terme de *M. bovis*. Cette persistance de l'agent pathogène et sa capacité à échapper à la réponse immunitaire spécifique peuvent résulter en partie de la régulation négative locale des mécanismes de présentation de l'antigène et d'une réponse immunitaire humorale inefficace avec la prévalence des anticorps IgG1. (Hermeyer et al. 2012) Certains auteurs suggèrent d'ailleurs que cette baisse locale d'immunité serait davantage à l'origine des signes cliniques observables en favorisant l'apparition de surinfection secondaire, notamment à *P. Multocida*. (Espinasse et al. 1988)

3. *Autres bactéries*

Lors de surinfection bactérienne, un grand nombre de bactéries peut être retrouvées dans les voies aériennes des bovins. Ces bactéries issues le plus souvent du microbiote de l'hôte sont généralement des pathogènes opportunistes se développant suite à une première infection ayant créé un terrain favorable à leur croissance. On peut ainsi isoler des germes du genre *Streptococcus* ou *Coxiella*, voire l'espèce *Trueperella pyogenes*.

Les bactéries du genre *Salmonella* peuvent également être retrouvées dans la sphère respiratoire des jeunes bovins. Elles sont généralement issues d'une dissémination hématogène. Ainsi *Salmonella enterica*, en particulier le serovar Dublin peut être retrouvée dans la sphère respiratoire des bovins et être responsable d'une pleuro-pneumonie fibrineuse. Les *Salmonelles* sont responsables d'une forte mortalité chez les veaux. Leur prévalence est plus importante dans les grandes collectivités (nursérie, atelier d'engraissement).

C. Importance des co-infections

1. Le microbiote respiratoire

Chez les bovins, comme chez tous les mammifères, il existe une flore bactérienne commensale de l'hôte dans les voies aériennes supérieures et basses. Cette flore, acquise dans les premiers mois de vie, est propre à chaque individu et en équilibre avec les défenses immunitaires de l'hôte. Elle est composée d'une communauté diversifiée d'organismes protégés au sein de biofilm, agissant en synergie et constituant une première barrière à l'apparition de pathologie respiratoire en maintenant l'homéostasie de la communauté. En effet, l'arrangement de ces bactéries commensales limite la diffusion des produits extracellulaires afin de restreindre l'accès à des pathogènes concurrents. Elles sécrètent également des peptides antimicrobiens et d'autres molécules permettant d'inhiber la croissance d'autres pathogènes (Gallo 2015).

Ces microbiotes évoluent au fil du temps et sont façonnés par de nombreux facteurs, notamment le microbiote vaginal maternel, l'environnement, l'âge, le régime alimentaire, les antimicrobiens parentéraux et les événements stressants. Le microbiote qui en résulte peut être diversifié et enrichi en bactéries bénéfiques connues qui peuvent fournir une résistance à la colonisation contre les agents pathogènes bactériens ou, au contraire, en agents pathogènes opportunistes qui peuvent prédisposer les bovins aux maladies respiratoires. Un déséquilibre ou une atteinte de cette flore naturelle, notamment lors de l'apparition d'un phénomène inflammatoire ou de la colonisation des voies aériennes par un pathogène primaire, peut causer une prolifération excessive opportuniste d'une des bactéries naturellement présente et entraîner l'apparition d'une maladie respiratoire (Timsit et al. 2020; Pardon, Buczinski 2020).

Le microbiote respiratoire est donc à la fois une protection naturelle de l'hôte ainsi qu'une source de contamination lors de BPI. Il s'agit d'un équilibre fragile dont le comportement est encore mal connu. En effet, notre compréhension de la pathogenèse bactérienne est souvent limitée aux espèces en monoculture. La façon dont les membres d'une communauté interagissent en combinaison est souvent différente et difficile à prévoir en étudiant les espèces individuelles. Lorsque la pathogenèse est étudiée avec l'ajout d'autres espèces ou dans des environnements polymicrobiens, les interactions bactériennes et la gravité de la maladie associée changent parfois (Welp, Bomberger 2020).

Une étude de 2020 s'est intéressée à l'origine d'une potentielle colonisation pulmonaire par les bactéries des voies aériennes supérieures (McMullen et al. 2020). Ils ont ainsi démontré que le microbiote bactérien nasopharyngé est le plus similaire au microbiote bactérien pulmonaire chez les bovins sains et peut donc servir de source primaire de bactéries pour le poumon.

2. Synergie virus-bactérie

La synergie d'infection entre virus et bactéries se traduit par plusieurs mécanismes à la fois spécifiques et non spécifiques.

Dans un premier temps, l'infection par certains virus notamment le BoHV-1 entraîne une lyse généralisée de l'épithélium cilié dans la trachée et les voies aériennes profondes, perturbant la fonction de l'escalator mucociliaire. Cet escalator mucociliaire qui permet naturellement l'élimination des bactéries des voies aériennes supérieures, se retrouve alors inopérant, permettant le dépôt de ces mêmes bactéries dans les alvéoles.

L'importance de certains virus dans l'apparition de BPI se traduit également par l'immunosuppression qu'ils provoquent chez l'individu infecté. Ainsi, le BoHV-1 a plusieurs effets " immunosuppresseurs ", notamment la régulation négative de l'interféron de type 1 (IFN), l'apoptose des leucocytes, notamment des cellules T CD4+, et une réduction de l'expression des molécules du CMH I et II, ce qui entraîne une diminution de l'élimination des cellules infectées par le virus et une réduction de la présentation de l'antigène. Cette immunosuppression va alors permettre la prolifération bactérienne, notamment des bactéries de la flore commensale (Ellis 2009). D'autres virus, comme le BVDV ou le BRSV, sont également à l'origine d'une baisse d'immunocompétence permettant la prolifération bactérienne dans les voies respiratoires profondes (Sudaryatma et al. 2018; Baker 1995).

Parmi les mécanismes plus spécifiques, on peut citer la synergie entre le BoHV-1 et *M. haemolytica*. L'infection par le BoHV-1 entraîne la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, telles que le facteur α de nécrose tumorale, l'interleukine-1 β et l'interféron γ . Celles-ci ont pour effet d'augmenter l'expression de l'intégrine β 2 CD11a/CD18 sur les leucocytes bovins, γ compris les macrophages alvéolaires et les neutrophiles. Or, cette molécule est le récepteur de la leucotoxine de *M. haemolytica*. La liaison accrue de cette toxine aux leucocytes dans le poumon entraîne la mort de ces cellules par apoptose et un cercle vicieux résultant d'une fonction immunitaire compromise et d'une inflammation. (Ellis 2009)

Il a aussi été démontré que le BRSV, quant à lui, est responsable d'une augmentation de l'adhésion de *P. multocida* aux cellules pulmonaires par des mécanismes encore inconnus. L'infection par le BRSV régule aussi à la hausse l'expression du récepteur du facteur d'activation des plaquettes, récepteur de *Streptococcus pneumonia*. Des phénomènes similaires sont observés lors d'une infection par le rhinovirus et le coronavirus, qui régulent à la hausse l'expression de la fibronectine, de la molécule d'adhésion cellulaire liée à l'antigène carcinoembryonnaire et du facteur d'activation des plaquettes sur les cellules épithéliales respiratoires. (Sudaryatma et al. 2018)

3. Synergie virus-virus

S'il existe une synergie entre virus et bactérie, il a été démontré qu'une telle synergie était également possible entre virus.

Ainsi, une pré infection par le BVDV pourrait affecter la régulation de la réponse immunitaire telle qu'elle est modulée par les cellules T régulatrices et altérer l'immunité locale à médiation cellulaire contre les pathogènes respiratoires secondaires. On observe entre autres une inhibition de la réponse des lymphocytes T CD8+ et CD4+ contre le BoHV-1. Les veaux pré-infectés par le BVDV présentent alors des signes cliniques respiratoires modérés et des preuves histopathologiques de pneumonie interstitielle avec des agrégats de cellules mononucléaires lors d'une infection secondaire au BoHV-1. (Risalde et al. 2015)

4. Interaction bactérie-bactérie

Différents types d'interactions existent entre les bactéries, pathogènes ou non, présentes dans les voies respiratoires des bovins. Ces interactions peuvent être positives et mutuellement bénéfiques pour le développement des bactéries ou au contraire négatives et inhiber la croissance bactérienne.

Les associations positives font intervenir des mécanismes de mutualisme, de commensalisme ou de symbiose ou permettent l'échappement à la réaction immunitaire de l'hôte infecté. Il a ainsi été démontré que la plupart des bactéries des genres *Micrococcus*, *Corynebacterium*, et *Staphylococcus* naturellement présents dans la flore respiratoire des bovins étaient bénéfiques à la croissance des pasteurelles (*M. haemolytica*, *P. multocida* et *H. somni*) de manière isolée, in vitro (Corbeil et al. 1985).

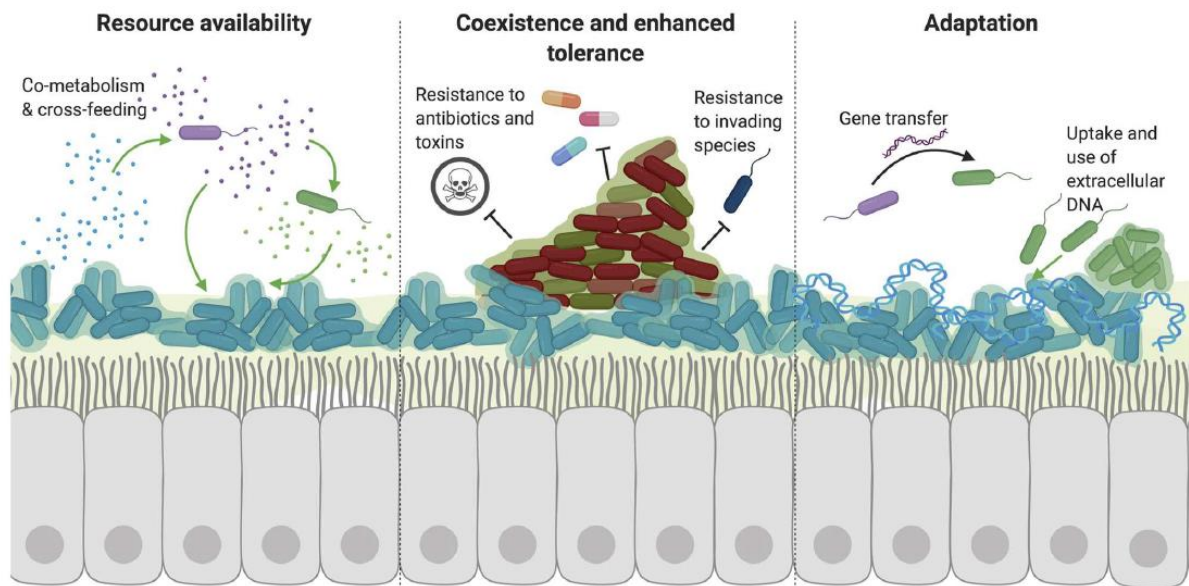


Figure 3 : Les différentes interactions coopératives entre les espèces bactériennes. (Welp, Bomberger 2020)

- (1) Les bactéries bénéficient des ressources libérées ou métabolisées par d'autres espèces. Grâce à des mécanismes tels que le co-métabolisme et l'alimentation croisée, les espèces peuvent utiliser des nutriments complexes qu'elles ne sont pas en mesure de métaboliser ou d'accéder d'elles-mêmes. En outre, les sécrétions produites par une espèce (tels que des sidérophores, des enzymes ou des molécules de signalisation) profitent également aux bactéries voisines en libérant des ressources dans l'environnement extracellulaire.
- (2) La coexistence de plusieurs espèces de bactéries dans un biofilm polymicrobien permet également le partage des ressources et la signalisation inter-espèces en raison de la proximité de ces espèces. Il est important de noter que certaines espèces peuvent protéger d'autres espèces voisines dans un biofilm par une tolérance accrue aux antibiotiques, aux radicaux libres et à d'autres petites molécules toxiques.
- (3) Les interactions avec d'autres espèces entraînent également une adaptation pour améliorer la survie dans l'environnement de l'hôte. L'adaptation se produit par le transfert horizontal de gènes et l'absorption d'ADN bactérien exogène dans l'environnement. La seule présence de cet ADN peut également favoriser la formation de biofilms par incorporation dans la matrice extracellulaire du biofilm.

A contrario, il existe aussi des associations négatives qui s'appuient sur la concurrence pour les ressources, des comportements antagonistes ou de la prédation. Une étude de 2012 a montré un effet inhibiteur de la présence de *P. multocida* sur la croissance de *M. haemolytica*. Cultivées individuellement, ces deux bactéries présentent des caractéristiques de croissance similaires, mais lors de cultures communes, on constate que la charge de *M. haemolytica* est inférieure de 4 ordres de grandeurs comparée à la monoculture. Le mécanisme suspecté est un mécanisme contact-dépendant, car une fine séparation entre les deux cultures permet une croissance normale à *M. haemolytica* (Bavananthasivam et al. 2012).

Une étude plus récente a permis d'évaluer le potentiel des bactéries probiotiques à inhiber la croissance et l'adhésion cellulaire de *M. haemolytica* sérotype 1. Les effets inhibiteurs de huit souches probiotiques (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactococcus lactis* et deux souches de *Paenibacillus polymyxa*) contre *M. haemolytica* ont pu être mis en évidence à l'aide de test d'antagonisme in vitro. Les souches probiotiques ont ensuite été

testées pour leur adhérence aux cellules épithéliales bronchiques bovines (BBE) et leur capacité à déplacer et à concurrencer *M. haemolytica* sur les BBE. Les souches de *Lactobacillus* et *Lactococcus lactis* ont montré une plus grande adhésion aux BBE par rapport à *M. haemolytica* et aux autres probiotiques. Les souches de *P. polymyxa* et *L. acidophilus* ont provoqué la plus grande réduction de l'adhésion de *M. haemolytica*, à la fois par déplacement et par compétition, par rapport aux autres probiotiques. Ces souches probiotiques pourraient ainsi avoir le potentiel de coloniser les voies respiratoires des bovins et d'exercer des effets antagonistes contre *M. haemolytica* sérotype 1. (Amat et al. 2017)

Les bactéries du genre *Lactobacillus* font naturellement partie du microbiote respiratoire des bovins (Holman et al. 2015). Ainsi une modification de leur abondance ou de leur répartition pourrait être à la base d'une croissance des bactéries pathogènes (Salem 2018).

D. La recherche de nouveaux pathogènes

1. Les techniques d'identification

Initialement, la technologie de séquençage de Sanger a eu un grand impact sur l'étude des communautés microbiennes. Actuellement, le rendement du séquençage et la longueur des séquences ont beaucoup changé : on peut ainsi récupérer jusqu'à 96 séquences par cycle avec une longueur moyenne de 650 pb. Cependant, des plateformes peu coûteuses connues sous le nom de technologies de séquençage de nouvelle génération (NGS) sont maintenant capables de séquencer en parallèle des millions de molécules d'ADN avec des rendements et des longueurs de séquence différents ayant un impact positif dans différents domaines. (Escobar-Zepeda, Vera-Ponce de León, Sanchez-Flores 2015; Alves et al. 2018)

La plateforme de séquençage 454 ou "pyroséquençage" est la première de ces technologies ayant révolutionné les domaines de la génomique et de la métagénomique. Elle s'appuie sur un cycle d'addition de nucléotides un par un, où le pyrophosphate (PPi) libéré par la réaction de polymérisation de l'ADN est transformé en un signal lumineux. L'émission lumineuse d'une plaque comportant des millions de micropuits contenant un fragment d'ADN donné est ensuite détectée par la machine et est traduite en séquences de nucléotides avec une valeur de qualité de base associée (Margulies et al. 2005). Cette technologie offrait un rendement plus élevé que le séquençage Sanger à un coût moindre, mais avec des longueurs de lecture plus courtes. Le principal inconvénient de cette technologie est la présence d'insertions et de délétions artificielles. Malgré les avantages que cette technologie a apportés à la métagénomique, elle est maintenant obsolète. (Escobar-Zepeda, Vera-Ponce de León, Sanchez-Flores 2015)

La plateforme Ion Torrent est une technologie analogue à la 454, qui produit un rendement et une longueur de lecture similaires. Le PGM d'Ion Torrent est considéré comme le plus petit potentiomètre existant et peut détecter la variation du potentiel d'hydrogène générée chaque fois qu'un proton est libéré après l'ajout d'un nucléotide dans la réaction de séquençage, qui se produit dans des millions de micropuits (Rothberg et al. 2011). Le rendement maximal de Ion Torrent est largement plus important que le 454 pour un dixième du coût de ce dernier, lui conférant ainsi un net avantage (Whiteley et al. 2012).

Cependant, la réduction de la longueur de lecture en échange de rendements et de taux d'erreur plus élevés est un autre compromis observé dans certaines plateformes, permettant de réduire les coûts de séquençage. C'est le cas notamment de la technologie Illumina, technologie populaire en raison de son faible coût et de son rendement élevé. Cette technique repose sur un séquençage des fragments d'ADN fixés et répartis dans une cellule à écoulement. La réaction de séquençage se produit par l'ajout d'un nucléotide marqué. Lorsque le nucléotide marqué est incorporé et que sa molécule fluorescente est excitée par un laser, le signal est enregistré par la machine. Ensuite, la molécule fluorophore est retirée et le nucléotide suivant peut être incorporé. Les fragments d'ADN peuvent être séquencés d'un côté ou des deux côtés, ce qui donne respectivement un séquençage à une extrémité ou à deux extrémités, avec une longueur de lecture maximale de 300 paires de bases par lecture (Bennett 2004). Le rendement de cette technologie est actuellement le plus élevé parmi les technologies de séquençage de deuxième génération et la rend adaptée au multiplexage de centaines d'échantillons.

Ces technologies sont actuellement les plus utilisées pour les projets métagénomiques, mais le développement du séquençage s'est poursuivi au cours des dernières années, afin de résoudre les biais connus de ces technologies et d'offrir un meilleur compromis entre le rendement, le coût et la longueur de lecture. À l'heure actuelle, les technologies de séquençage dites de troisième génération, telles que PacBio RS de Pacific Bioscience ou Oxford Nanopore, qui sont des technologies à molécule unique et en temps réel, ont permis de réduire le biais d'amplification ainsi que le problème de la faible longueur de lecture. La réduction du temps et des coûts offerte par ces technologies est également un atout précieux. Cependant, le taux d'erreur est plus élevé par rapport aux autres technologies, mais il peut être corrigé si la profondeur de séquençage est suffisamment élevée. (Escobar-Zepeda, Vera-Ponce de León, Sanchez-Flores 2015)

2. Les « nouveaux » pathogènes respiratoires

De nombreuses études ont donc eu recours aux techniques de métagénomique présentées plus haut pour identifier les virus présents au sein du système respiratoire profonds des bovins et leur implication dans les BPI. Les derniers virus découverts impliqués

dans le développement des BPI chez le veau sont notamment l'Adénovirus bovin (BAdV), le virus de l'influenza D (IDV) et l'astrovirus bovin (BAstrV).

L'adénovirus bovin, bien qu'identifié depuis longtemps dans la sphère respiratoire des bovins, n'a que récemment été considéré comme impliqué dans le développement de BPI. En effet, dès 2004, une étude réalisée en Finlande, met en évidence sa prévalence lors de BPI. La prévalence dans les troupeaux Finlandais testés était alors de 83% (Härtel et al. 2004). En 2015, Ng et al ont démontré une association significative entre la présence du BAdV et le développement de BPI chez les veaux laitiers (Ng et al. 2015). Une étude plus récente réalisée en Chine a également permis de montrer une prévalence de 78,7% sur le territoire chinois. La souche de virus prélevée a ensuite été inoculée à des souris pour observer les lésions histopathologiques provoquées. Ces observations ont révélé une inflammation exsudative du parenchyme pulmonaire avec un grand nombre d'érythrocytes et de cellules inflammatoires, notamment des neutrophiles, infiltrés dans les alvéoles et dans la lumière bronchiolaire au 3ème jour. Les lésions inflammatoires se sont progressivement atténuées à partir du 9ème jour, et seule une hyperémie a été constatée dans les capillaires des parois alvéolaires.

L'influenza D a quant à lui été fortement étudié ces dernières années en France. Il a d'abord été isolé aux USA en 2011 et mis en évidence pour la première fois comme virus circulant sur le territoire français en 2014 (Ducatez, Pelletier, Meyer 2015). Le virus est présent sur l'ensemble du territoire avec une prévalence moyenne de 47,2% chez les bovins avec une variation de 31 à 71% en fonction de la région (Oliva et al. 2019). Cette différence selon les régions est d'ailleurs probablement plus corrélée à la différence des systèmes de productions étudiés (laitier, allaitant, engraissement) qu'à la localisation en elle-même. L'étude avance également qu'avant 2014, le virus avait une prévalence de 4,5% en France. La forte différence de séropositivité observée aujourd'hui suggère que ce virus émergent se répand à grande vitesse dans nos élevages. La pathogénicité de l'IDV a été étudiée en 2019, grâce à une étude ayant permis d'inoculer le virus de l'IDV à 8 veaux naïfs. L'étude a alors mis en évidence que le virus colonisait à la fois les voies respiratoires supérieures et inférieures, induisant une bronchopneumonie modérée avec des lésions restreintes de pneumonie interstitielle (Salem et al. 2019). L'IDV apparaît donc comme ayant une pathogénicité modérée dans les BPI mais très probablement un niveau de transmission élevé. Il pourrait alors être également considéré comme cofacteur de BPI. Plus récemment une seconde étude a montré que la co-infection de veaux naïfs avec IDV et *M. bovis* augmentait les signes cliniques respiratoires, par rapport aux mono-infections à IDV ou *M. bovis* (article en cours de soumission), confirmant le rôle de cofacteur respiratoire pour ce virus.

En 2015, l'étude de Ng et al a également permis de mettre en évidence, pour la première fois, la présence dans la sphère respiratoire des bovins d'un astrovirus. La

fréquence de détection de ce virus chez les veaux malades était de 8%, contre 0% chez les veaux sains ne permettant pas d'obtenir une différence significative entre les deux groupes. Plus récemment, une autre étude a permis de mettre en évidence que le BAstrV était le quatrième virus le plus répandu dans le virome pulmonaire lors de BPI (Zhang et al. 2020). Bien que l'étude n'ait pas permis de mettre en évidence d'association statistiquement significative avec l'apparition de pneumonie, le BAstrV est connu pour être à l'origine d'autres pathologies chez les bovins (encéphalite notamment), et est fréquemment identifié dans les fèces des animaux. D'autre part, le BAstrV était souvent retrouvé en association avec d'autres pathogènes (parvovirus, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *H. somni* ou *M. bovis*). Les auteurs évoquent donc la possibilité d'une synergie avec d'autres virus et bactéries, responsable des symptômes observés lors de bronchopneumonie.

Partie II : Focus sur les Astrovirus

I. Définition, structure et classification

Les *Astroviridae* sont un groupe de petits virus à ARN non enveloppés, dotés d'une capsidie icosaédrique de 27-30 nm de diamètre. Leur nom provient du mot grec « astron », qui désigne l'aspect caractéristique en forme d'étoile à cinq ou six branches observées au microscope électronique. Ils ont été identifiés pour la première fois par microscopie électronique en 1975 chez des enfants souffrant de diarrhée. (Appleton, Higgins 1975; Madeley, Cosgrove 1975)

Chaque virus contient un génome à ARN linéaire, non segmenté et de sens positif d'environ 6800-7900 pb. Le génome contient une séquence non traduite 5'-UTR, trois séquences de lecture ouvertes ORF (ORF1a, ORF1b, ORF2), une séquence non traduite 3'-UTR et une queue polyA permettant la réplication virale. Après le dépôt du génome viral dans le cytoplasme, l'ORF1a est immédiatement traduite en une polyprotéine qui est ensuite clivée pour former plusieurs protéines non structurales. La traduction de la polyprotéine non structurale ORF1b codant pour l'ARN polymérase ARN dépendante résulte du décalage du cadre ribosomal 1 par combinaison d'une séquence glissante et d'une épingle à cheveux structurelle en aval. L'ORF2 est traduite à partir de l'ARN subgénomique transcrit à partir d'un promoteur interne dans le brin négatif. Elle code pour une polyprotéine qui subit un clivage protéolytique permettant la formation des protéines de capsidie structurales matures. (Tse et al. 2011; De Benedictis et al. 2011)

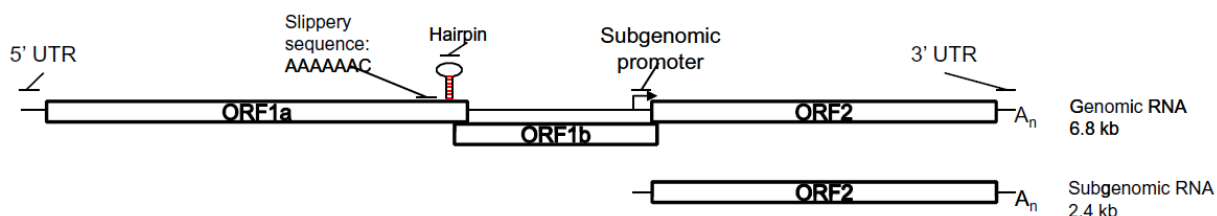


Figure 4: Structure génomique des astrovirus (De Benedictis et al. 2011)

Bien que leur longueur varie d'un membre à l'autre de la famille des *Astroviridae*, l'architecture du génome des astrovirus est similaire.

Les membres de la famille des *Astroviridae* sont classés en deux genres : *Avastrovirus* ou *Mamastrovirus*, qui infectent respectivement les oiseaux et les mammifères. Les astrovirus sont connus pour leur association avec des maladies diarrhéiques chez différents animaux, bien que certaines espèces puissent provoquer des maladies extra-intestinales.

Ces dernières années, de nombreux nouveaux astrovirus ont été découverts chez l'homme et chez les animaux. Il est intéressant de constater que les astrovirus présentent de

plus en plus d'événements de recombinaison, ce qui contribue à accroître la variabilité génétique de ce groupe de virus. Une grande variété d'espèces infectées, la diversité génétique évidente des virus et l'apparition d'événements de recombinaison indiquent ou impliquent soit une transmission inter-espèces et une adaptation ultérieure du virus à de nouveaux hôtes, soit la co-infection d'un même hôte par différents astrovirus. Cela peut également favoriser l'émergence de nouveaux astrovirus infectant des animaux ou ayant un potentiel zoonotique. (De Benedictis et al. 2011; Tse et al. 2011)

II. Espèces cibles, passage de la barrière inter-espèce

Compte tenu de la nature de leur ARN polymérase ARN-dépendante, qui est sujette aux erreurs de polymérisation lors de la réplication du génome, les astrovirus, et les virus à ARN de manière plus générale, ont une tendance à une forte variabilité génétique due à l'introduction de mutations. La variabilité génétique a été décrite dans presque toutes les espèces d'astrovirus suffisamment examinées. Elle peut être induite par des substitutions nucléotidiques synonymes ou non-synonymes, ces dernières étant soumises à une pression de sélection positive ou négative plus forte. Les données recueillies sur les astrovirus suggèrent des pressions et des contraintes évolutives pour une sélection dans différentes régions génomiques. Par exemple, les régions de la protéine de capsid des astrovirus exposées à la pression immunitaire et aux changements environnementaux, telles que les épitopes prédits ou les sites d'interaction avec les cellules hôtes, sont soumises à une sélection positive et à des changements de codons. En outre, il est de plus en plus évident que des événements de recombinaison génétiques se produisent dans les astrovirus, ce qui contribue à une variabilité génétique accrue. Une question majeure est donc de savoir si un astrovirus animal peut se recombiner avec un astrovirus humain et provoquer une maladie humaine ou faciliter la transmission zoonotique ainsi que l'émergence et la propagation de nouveaux virus dans la population humaine ou animale.

La grande variété d'espèces infectées, la diversité génétique évidente du virus et l'occurrence d'événements de recombinaison suggèrent ainsi la transmission inter-espèces et l'adaptation ultérieure du virus à de nouveaux hôtes et/ou la co-infection du même hôte par différents astrovirus. Des ancêtres communs putatifs et des transmissions inter-espèces anciennes ont été suggérés entre les espèces aviaires et les mammifères et parmi les mammifères, à une époque plus récente, entre les moutons et les visons, ou les guépards et les chats. La transmission inter-espèces a également été suggérée parmi les espèces aviaires. Après la transmission inter-espèces, les virus se sont adaptés aux nouveaux hôtes en se diversifiant génétiquement.

À ce jour, la liste des espèces animales susceptibles d'être infectées par des astrovirus s'est étendue à 22 espèces ou familles animales, parmi lesquelles, des animaux

domestiques, synanthropiques et sauvages, des oiseaux et des mammifères vivants aussi bien dans des environnements terrestres qu'aquatiques. (De Benedictis et al. 2011)

III. Rôles pathogènes connus

Compte tenu de la forte variabilité génétique des *Mamastrovirus* et de leur capacité à passer la barrière inter-espèce, il est intéressant de connaître les rôles pathogènes de ces virus chez les différentes espèces qu'ils sont capables d'infecter.

A. Maladie digestive

Historiquement, les astrovirus ont été décrits pour la première fois chez des enfants souffrant de diarrhée (Madeley, Cosgrove 1975). Il a ensuite été montré que l'HAstVs touche majoritairement les jeunes enfants, les individus immunodéprimés et les personnes âgées.

L'implication de cette famille de virus dans l'apparition de troubles digestifs a ensuite pût être démontrée chez de nombreuses espèces. Ainsi, les *Mamastrovirus* sont capables d'infecter la plupart de nos espèces domestiques. Ils ont été mis en relation avec l'apparition de troubles digestifs de type gastro-entérite, avec comme principal symptôme de la diarrhée. Les jeunes semblent souvent plus touchés que les adultes dans la plupart des espèces cibles. Les principales espèces touchées par la maladie digestive causée par les astrovirus sont l'Homme, le porc, le chat, le chien, le cerf élaphe, le guépard, le chevreuil, le mouton et le bovin (De Benedictis et al. 2011).

B. Maladie respiratoire

Le tropisme de l'astrovirus n'est cependant pas cantonné à un tropisme digestif. En effet, une étude humaine de 2008 en Taiwan (Lin et al. 2008) montrait que la moitié des patients infectés par un astrovirus et présentant des signes de gastro-entérite plus ou moins marqués présentaient également une atteinte des voies respiratoires, qui se manifestait par une toux et une rhinorrhée.

Le séquençage métagénomique d'écouillons nasaux prélevés sur des porcelets présentant une maladie respiratoire aiguë inexplicée dans deux installations de l'Oklahoma (USA) réalisé en 2016 a permis d'identifier un nouveau génotype d'astrovirus porcine 4 (PAstV-4) (Padmanabhan, Hause 2016). Une prévalence de 21 % a été retrouvée dans les écouillons nasaux et 19 % dans les écouillons fécaux. Les niveaux d'ARN du PAstV-4 étaient significativement plus élevés dans les écouillons nasaux, suggérant un possible tropisme respiratoire du virus.

Une étude de 2018 sur des cerfs de Virginie ayant présentés des signes de pneumonie suivis d'une mort soudaine aux Etats-Unis, reporte l'identification d'un astrovirus au sein des tissus pulmonaires. L'astrovirus en question a été identifié comme un recombinant de deux astrovirus bovins précédemment identifiés au Japon. (Wang et al. 2018)

C. Atteinte neurologique

Une étude de 2010 chez l'Homme a démontré l'implication de l'HastVs dans le développement d'une encéphalite chez un enfant immunodéprimé. L'hypothèse principale des auteurs serait une dissémination systémique à partir du tube digestif ou d'une autre source de contamination, ayant pu causer cette infection, posant ainsi la question d'une véritable spécificité de localisation du virus (Quan et al. 2010). D'autres études ont démontrés l'apparition de paralysie flasque chez des enfants immunodéprimés suite à une infection par un astrovirus humain, montrant ainsi un tropisme du virus non seulement pour le tube digestif mais également pour d'autres localisations tel le système nerveux central (Shaukat et al. 2014; Wunderli et al. 2011).

Par la suite, le rôle pathogène des astrovirus au niveau du système nerveux central a pu être mis en évidence chez d'autres espèces. Une étude de 2010 au Danemark a permis d'établir l'implication d'un astrovirus dans le développement du syndrome de tremblement du vison (tremblements, démarche titubante et ataxie) (Blomström et al. 2010).

En 2017, une étude en Hongrie sur une épidémie touchant des porcelets post-sevrages présentant entre autres des signes cliniques de paraplégie postérieure et un taux de mortalité élevé associé à une encéphalomyélite et une nécrose neurale, a réussi à identifier l'implication de l'astrovirus porcin de type 3. Le virus a été identifié par RT-PCR et hybridation *in situ* dans des échantillons de cerveau et de moelle épinière. Parmi les tissus testés par RT-PCR quantitative, les charges virales les plus élevées ont été détectées dans le tronc cérébral et la moelle épinière. L'ARN viral était principalement détecté dans les neurones, en particulier dans le tronc cérébral, le cervelet (cellules de Purkinje) et la moelle épinière cervicale. L'astrovirus était généralement indétectable dans les fèces mais présent dans les échantillons respiratoires, indiquant une possible infection respiratoire.

IV. Les astrovirus au sein de l'espèce bovine

Le premier isolat d'astrovirus bovin a été signalé en Angleterre en 1978 dans un prélèvement fécal. L'astrovirus a été considéré comme avirulent, car les veaux sains, infectés expérimentalement sont restés cliniquement normaux, bien que des études pathologiques

sur les veaux infectés n'aient pas été réalisées (Woode, Bridger 1978). Il a été conclu à l'issue des premières études sur ce virus, que dans des conditions naturelles, le BAstrV ne semble pas être directement associé à une maladie diarrhéique sévère chez les veaux (Bridger, Hall, Brown 1984; Woode, Bridger 1978; Tse et al. 2011; Woode et al. 1984)

La prévalence de l'astrovirus au sein de l'espèce bovine est controversée. Une première étude de 1984 suggère que le BAstrV pouvait être excrété par 60 à 100 % des veaux dans les fermes aux États-Unis (Bridger, Hall, Brown 1984). Plus récemment, seuls 5 écouvillons rectaux (2,4 %) prélevés sur des bovins adultes asymptomatiques se sont révélés positifs pour l'infection par le BAstrV lors d'une étude portant sur 209 bovins à Hong-Kong (Tse et al. 2011).

L'implication des astrovirus dans le développement d'atteinte neurologique a également été démontrée chez l'espèce bovine. En effet, un astrovirus bovin (BAstrV-NeuroS1), phylogénétiquement apparenté à un astrovirus ovin, a été identifié au sein du tissu cérébral d'un jeune bouvillon croisé présentant un début aigu de maladie neurologique (Li et al. 2013). Dans cette même étude, une analyse rétrospective de 32 cas d'encéphalites bovines d'étiologie inconnue, 3 autres animaux infectés ont été détectés par PCR et hybridation in situ. L'ARN viral était limité au système nerveux et détecté dans le cytoplasme des neurones affectés dans la moelle épinière, le tronc cérébral et le cervelet. Au microscope, les lésions étaient constituées d'une nécrose neuronale étendue, de microgliose et de manchons périvasculaires, distribuées préférentiellement dans la matière grise et les plus graves dans le cervelet et le tronc cérébral, avec une intensité croissante vers le bas de la moelle épinière.

Au niveau respiratoire, des études récentes ont permis de mettre en évidence la présence du virus dans la sphère respiratoire profonde des bovins (Ng et al. 2015; Zhang et al. 2020).

L'étude de Ng et al était une étude prospective visant à caractériser le virome respiratoire de jeunes bovins présentant des symptômes de BPI (Ng et al. 2015). Après un séquençage profond, un assemblage de novo et des recherches de similarité de séquences de protéines traduites, de nombreux virus connus et non caractérisés auparavant ont été identifiés. Parmi ceux-ci le génome d'un astrovirus non caractérisé auparavant a été complètement séquencé. Ainsi, quatre animaux (8 %) du groupe symptomatique étaient positifs pour l'astrovirus bovin BSRI1. L'ARN de l'astrovirus n'a été détecté chez aucun des 50 animaux asymptomatiques. Les valeurs P résultantes étaient cependant non significatives à 0,117.

Plus récemment, Zhang et al ont réalisé un séquençage viromique à haut débit, des cultures bactériennes, des PCR en temps réel ciblées et des examens histologiques sur 130 poumons de bovins atteints de pneumonie provenant de l'Ouest canadien afin d'explorer les

associations de micro-organismes avec différents types de pneumonie. Dans cette étude, le BAstrV était le quatrième virus le plus répandu dans le virome pulmonaire de la pneumonie (5 %) sans montrer pour autant d'association statistiquement significative avec un type particulier de pneumonie. De plus, étant donné que tous les cas positifs au BAstrV contenaient également des parvovirus, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *H. somni* ou *M. bovis*, les auteurs formulaient l'hypothèse que le BAstrV entre en synergie avec d'autres virus et bactéries pour aggraver les symptômes de BPI.

Une étude de 2020 sur le cheptel breton français a permis d'établir une méthode RT-qPCR afin de détecter le BAstrV respiratoire grâce à des prélèvements réalisés sur des veaux atteints de signes cliniques de pathologies respiratoire (Duchemin 2020). Aucune implication du virus au niveau du développement de pathologie respiratoire n'avait pu être mise en évidence mais le virus avait été amplifié dans de nombreux LBA issus de veaux présentant des signes cliniques de BPI alors qu'il n'avait pas été possible d'amplifier le virus dans les élevages contrôles sains. Un travail de terrain a également été effectué dans le but de prélever d'autres veaux malades et de séquencer en partie le virus, afin d'étudier son génome et de le comparer aux différentes séquences de BAstrV déjà enregistrées dans les banques de données à travers le monde. Ces différentes séquences provenaient de lieux différents, ainsi que de bovins présentant des pathologies différentes. Finalement, il semblerait que les séquences les plus apparentées dépendent plutôt du tropisme du virus isolé (digestif, neurologique, respiratoire) plutôt que du lieu de prélèvement.

Partie III : Étude expérimentale

I. Objectifs

L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence et l'association des principaux agents pathogènes responsables de BPI chez les veaux en Bretagne. Elle visait également à établir une corrélation entre les signes cliniques observés et la présence de certains pathogènes ou de leur association dans les voies aériennes superficielles et profondes.

En s'appuyant sur les précédentes études ayant montré la présence du BAstrV dans les voies respiratoires superficielles et profondes des jeunes bovins, un deuxième objectif était de démontrer sa présence dans l'appareil respiratoire superficiel et profond, ainsi que son implication dans le développement de signes cliniques de BPI. Il a également été possible d'étudier sa prévalence entre des animaux sains et des animaux malades et sa localisation dans chaque cas (tractus digestif ou respiratoire).

II. Matériel et méthode

A. Echantillonnage

La présence du virus a été recherchée chez des veaux âgés de 1 à 24 semaines, dans des élevages atteints de BPI et dans des élevages sains, à la fois dans l'appareil respiratoire haut, par écouvillonnage nasal, dans l'appareil respiratoire bas, par lavage broncho alvéolaire et également dans le système digestif des veaux, par écouvillonnage rectal. Les élevages ont été prélevés dans une zone géographique d'environ 100km sur les départements du Finistère, des Côtes d'Armor et du Morbihan. Aucune distinction de race n'a été faite. Cet échantillonnage faisait partie d'un projet de recherche sur la santé des veaux (projet Healthy Calf, INRAE), il n'est en rien représentatif de la population des jeunes bovins, ni même des conditions épidémiologiques observées lors de BPI.

Pour le choix des élevages, des critères d'inclusion ont été fixés tels que :

- Élevages malades :
 - Veaux (âge : 0 à 4-5 mois) avec des signes cliniques d'atteinte de l'appareil respiratoire profond (BPI sur le lot ou plusieurs animaux)
 - Évolution aiguë (<3-4 jours), pour favoriser la détection du virus
 - Incidence : au moins 3 animaux présentant des signes cliniques de moins de 3-4 jours, pour être dans un contexte infectieux
 - Signes cliniques : hyperthermie > 40°C ou hyperthermie >39,5°C avec de la toux, un jetage et/ou tachypnée, des bruits respiratoires renforcés voire surajoutés. Ces

signes cliniques sont caractéristiques des BPI, sans permettre de distinguer un agent pathogène spécifique.

- Élevages non malades :
 - Veaux normo thermes sans signes cliniques respiratoires.
 - Mêmes caractéristiques zootechniques que les veaux malades, provenant d'élevages différents mais dans la même zone géographique.

Dans chaque élevage considéré comme atteint de BPI, 3 à 5 veaux présentant des signes cliniques ont été prélevés, ainsi que 2 veaux ne présentant pas de signes cliniques au moment du prélèvement. Un suivi des signes cliniques à 7 jours a permis de vérifier que les animaux sains lors du prélèvement à J0 demeuraient asymptomatiques une semaine plus tard.

Ont été exclus de l'étude les animaux considérés comme malades depuis plus de 5 jours au moment du prélèvement. Il est en effet admis qu'après 5 jours, on perd en sensibilité pour la détection des virus VRSB, BPI3 et BCoV. Nous n'avons pas de données pour le BAstrV.

B. Score clinique

Pour chaque animal, un score clinique a été déterminé en s'appuyant sur des critères tels que la toux, la présence de jetage, la température rectale, la fréquence respiratoire, le comportement alimentaire, ainsi que le comportement général (voir figure 5).

La note clinique maximale obtenue par un veau d'un élevage sain (3) a ensuite été considérée comme la note limite entre un animal symptomatique et un animal asymptomatique, permettant de distinguer trois groupes : les animaux sains au sein d'élevage sain (score clinique ≤ 3), les animaux asymptomatiques au sein d'élevage malades (score clinique ≤ 3), les animaux malades au sein d'élevage malades (score clinique > 3).

Symptôme	Détails	Note associée	Symptôme	Détails	Note associée		
Température rectale	<39°C	0	Toux				
	39-40°C	2		<i>Fréquence</i>	Absente	0	
	40,1-40,9°C	4			Modérée	1	
	≥41°C	6			Fréquente	2	
Fréquence respiratoire	<30 mpm	0		<i>Intensité</i>	Absente	0	
	30-40 mpm	2			Moyenne	1	
	41-60 mpm	4			Forte	2	
	61-80 mpm	6			Refus alimentaire	Absent	0
	>80 mpm	8				Partiel	1
Jetage	Absent	0		Total	2		
	Séromuqueux	1	Comportement	Normal	0		
Mucopurulent	2	Léger abattement		1			
Dyspnée	Absente	0		Très abattu /décubitus	2		
	Présente	2					

Figure 5 : Grille de score utilisée pour établir le score clinique de chaque animal

C. Réalisation des prélèvements

Un écouvillon nasal profond (EN), un lavage broncho-alvéolaire (LBA) et un écouvillonnage rectal (ER) ont systématiquement été réalisés sur chaque veau, en sélectionnant 3 à 6 veaux par lot.

1. Écouvillons nasaux profonds (EN)

- Contention des veaux en position debout au cornadis ou en l'empêchant de reculer, tête bloquée à l'horizontale en enroulant un bras autour
- Écouvillonnage profond dans chaque narine en frottant l'écouvillon sur la muqueuse nasale jusqu'à la rosée sanguine
- Tige coton transférée dans un tube préalablement rempli de 2 mL de PBS stérile

- Tige coupée de manière à pouvoir refermer le tube.
- Conservation des tubes à -80°C

2. Lavages broncho-alvéolaire (LBA)

a) Matériel

- Tubes plastiques transparents vicryl alimentaires de deux dimensions : diamètre 6 et 12 mm avec un repère à 35-50 cm sur le tube le plus large et à 1 mètre sur le plus fin
- Anesthésiques locaux : xylocaïne 5% nébuliseur et 2% pommade visqueuse
- NaCl 0,9%
- Seringues de 50 mL
- Tubes Falcon de 50 mL
- Gants à usage unique et blouses

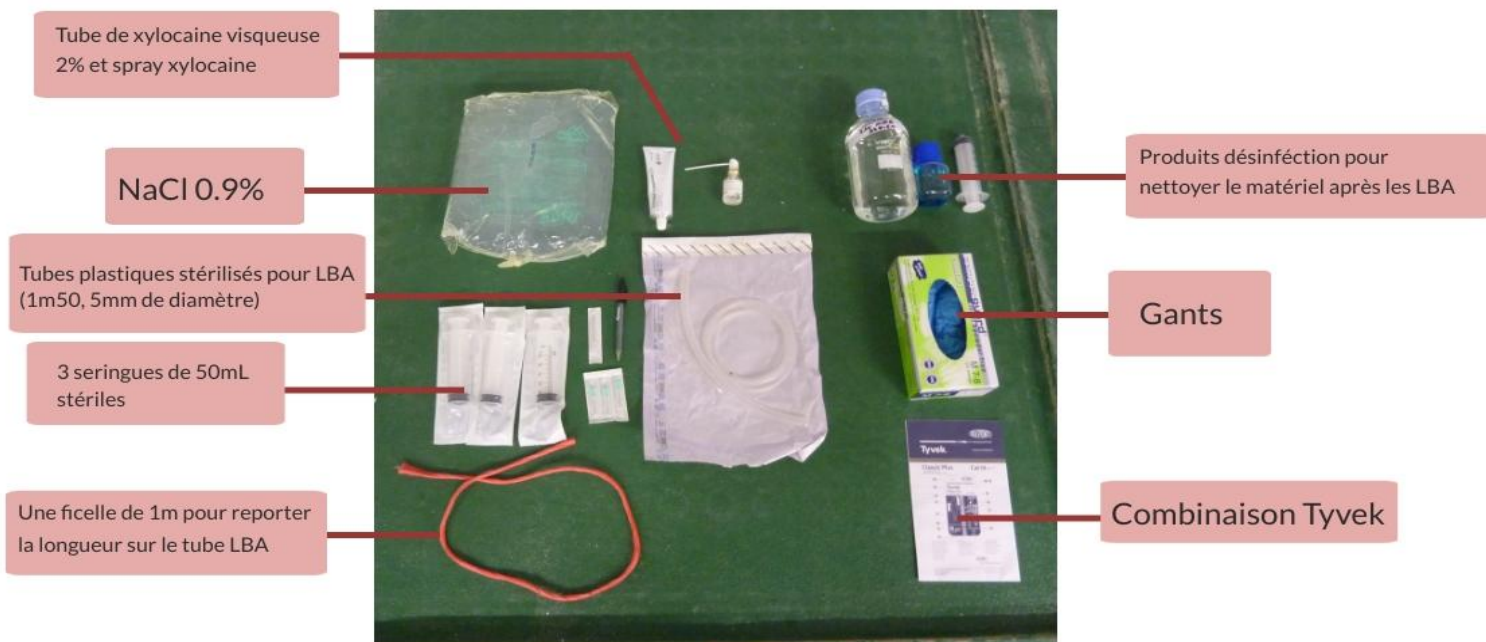


Figure 6 : Matériel utilisé pour la réalisation des LBA

b) Réalisation des prélèvements

Les LBA ont été réalisés de la manière suivante :

- Mise en place de deux paires de gants avant le début d'opération
- Pré anesthésie locale du veau en appliquant deux pressions de xylocaïne 5% nébuliseur au fond de chaque narine

- Matériel préparé le temps de l'effet de l'anesthésie : un kit de deux tubes plastiques stériles, 2 seringues remplies de 50 mL de NaCl 0,9%, le tube de pommade de xylocaïne visqueuse 2%
- Contention du veau position debout, au cornadis ou en l'empêchant de reculer
- Application de xylocaïne visqueuse 2% pour recouvrir l'extrémité du gros tube
- Contention de la tête du veau (en l'enroulant avec le bras) et pénétration du gros tube (via l'extrémité avec la xylocaïne) dans la narine droite ou gauche, animal tête droite ou légèrement tendue vers le haut
- Une fois arrivé jusqu'au larynx (sensation d'arrêt de progression du tube), passage dans la trachée sur 10 cm (déclenchement d'une toux de l'animal).
- Vérification que le tube soit bien dans la trachée en confirmant, au nez ou à l'oreille, l'expiration (souffle d'air concordant avec l'expiration de l'animal, odeur neutre...).
- Retrait de la première paire de gant, passage du petit tube dans le gros en le descendant dans l'appareil respiratoire jusqu'au repère (1 mètre).
- Envoi d'une première seringue de 50 mL de manière régulière et ré-aspiration immédiate.
- Lavage refait avec la deuxième seringue.
- Transfert du produit des seringues dans un tube Falcon de 50 mL (si un tube est rouge (présence de sang) ou que le contenu des deux seringues n'était pas similaire (possible contamination par passage dans l'œsophage) le contenu des deux seringues n'était pas mélangé).
- Conservation des LBA à -80°C.

3. Ecouvillons rectaux (ER)

- Contention des veaux en position debout au cornadis
- Écouvillonnage en frottant l'écouvillon sur la muqueuse rectale
- Tige coton transférée dans un tube préalablement rempli de 2 mL de PBS
- Tige coupée de manière à pouvoir refermer le tube.
- Conservation des tubes à -80°C

D. Analyses PCR

1. Extraction de l'ARN

L'ARN a été extrait à partir des ER, des EN et des LBA en utilisant le kit Nucleospin RNA virus (Macherey-Nagel) selon le protocole indiqué par le fabricant. L'ARN est conservé à -80°C.

2. Réalisation d'une RT-qPCR en temps réel

Une première RT-qPCR one-step sur les ARN extraits a permis de réaliser un premier screening pour vérifier si des échantillons étaient positifs pour le BAstrV, selon les recommandations du kit iTaq Universal SYBR Green One-Step (Biorad). La séquence utilisée comme amorce sens est 5'-TGTGGGTCAAACCTGAGAAAG-3' et celle utilisée comme amorce antisens est 5'-GATTGGATGGTACTGGCTGATAG-3' (à une concentration de 10 µM chacune). Ces amorces ont été dessinées sur la base de la séquence génomique obtenue lors d'une étude antérieure (voir chapitre résultats). Un volume final de 10 µL a été préparé pour cette RT-qPCR consistant en 5 µL de tampon iTaq mix, 0,125 µL de iScript enzyme, 0,25 µL d'amorce sens, 0,25 µL d'amorce antisens, 3,375 µL d'eau et 1 µL d'ARN.

Le protocole de RT-PCR a été réalisé sur appareil LightCycler 96 (Roche diagnostics) en une première étape de rétrotranscription d'ARN en ADNc à 50°C pendant 10 minutes, suivie de 40 cycles d'amplification en deux étapes (10s à 95°C pour dénaturer le double brin d'ADN et 40s à 60°C pour l'hybridation des amorces sur l'ADNc).

Une analyse de la courbe du point de fusion a ensuite été faite dans le but d'étudier la spécificité des produits amplifiés afin de vérifier leur pertinence.

Finalement, une PCR conventionnelle a été faite sur les échantillons positifs en RT-qPCR dans le but d'amplifier une séquence plus longue de 500 pb qui correspond à l'ORF1b (RdRp RNA dependent RNA polymerase) dans le but de séquencer le fragment. Pour cela, nous avons utilisé le kit One Step RT-PCR (Qiagen) en sélectionnant les amorces du gène ORF1b suivantes : 5'-GAGTTTGATTGGACTCGCTTTG-3' pour l'amorce sens et 5'-CTTCTCAGGATTGGATG GTACTG-3' pour l'amorce antisens. Un volume total de 25 µL a été préparé pour cette PCR conventionnelle consistant en 11 µL d'eau, 5 µL de tampon du kit, 1 µL de dNTPs, 1 µL d'amorce sens et 1 µL d'amorce antisens (concentration de 10 µM), 1 µL d'enzyme et 5 µL d'ARN (quantité pour un échantillon).

La rétrotranscription d'ARN a été faite à 50°C pendant 30 minutes, suivie de 15 minutes de dénaturation à 95°C. L'amplification a été réalisée en 40 cycles de trois étapes : 30s à 95°C pour la dénaturation, puis 30s à 60°C pour appairer les amorces sur les séquences spécifiques et 60s à 72°C pour l'élongation. Enfin, 5 minutes à 72°C pour finir l'élongation des produits amplifiés.

Les produits amplifiés ont été visualisés sur gel d'agarose 1%, selon la taille (en présence d'un marqueur de poids moléculaire). L'ADN amplifié (produit à la taille attendue sur gel) a ensuite été extrait du gel et selon les recommandations du kit « NucleoSpin gel and PCR clean-up » (Macherey- Nagel).

3. Séquençage et analyse génétique

Les produits amplifiés et purifiés ont été envoyés à séquencer à GATC, pour un séquençage classique en méthode Sanger. Les séquences obtenues ont fait l'objet d'un alignement de séquences avec le logiciel MEGA-X avec ClustalW en utilisant deux séquences, la séquence génomique du BAstrV respiratoire obtenue lors d'une précédente étude et une séquence génomique suisse obtenue d'un cas d'encéphalite chez un bovin (ref MK0970099.1). Un arbre phylogénique a finalement été généré grâce à MEGA-X avec la méthode maximum Likelihood (Valeur de Bootstrap comme analyse statistique: 500).

III. Résultats

Au total, 10 élevages ont été sélectionnés : 3 ont été considérés comme sains, les 7 autres possédaient des animaux présentant des signes cliniques de BPI. Dans chaque élevage, 3 à 5 veaux ont été prélevés pour un total de 52 veaux prélevés. L'âge des veaux prélevés est compris entre 9 jours et 5 mois et demi.

Lors de l'étude, les prélèvements étaient envoyés par voie postale au fur et à mesure de leur réalisation pour effectuer les PCR. Certains échantillons de l'un des envois ont malheureusement été perdus lors de leur transport. Certains résultats de l'élevage 4 sont donc manquants.

A. Fréquence des agents pathogènes respiratoires et co-infections

1. Prévalence des différents agents infectieux de BPI

Dans les voies aériennes profondes des veaux, le principal agent infectieux retrouvé aussi bien dans les élevages sains que dans les élevages atteints de BPI est *P. multocida* (respectivement 75,8% et 83,3% de prévalence) (figure 7). Le BAstrV est le deuxième agent le plus retrouvé dans les voies aériennes profondes dans les deux types d'élevage (33,3% de prévalence dans les élevages sains et 30,3% de prévalence dans les élevages atteints). On observe ensuite une distinction entre les deux types d'élevage. Dans les élevages sains, les troisièmes pathogènes les plus courants sont le VRSB (25,0%) et le BCoV (25,0%) et en dernier *M. haemolytica* (16,7%). Dans les élevages atteints, le troisième agent pathogène le plus représenté est le BCoV (21,2%) puis *M. haemolytica* (12,1%), on retrouve ensuite à des niveaux plus faibles des pathogènes qui ne sont pas retrouvés au sein des élevages sains : *M. bovis* (9,1%), *H. somni* (9,1%) et enfin le BPI3 (6,1%).

Dans les voies aériennes supérieures, le principal agent pathogène retrouvé aussi bien dans les élevages sains qu'atteints reste *P. multocida* (75% chez les deux) (figure 8). On

observe ensuite une différence de prévalence des agents infectieux entre les élevages sains et les élevages avec des animaux présentant des signes de BPI. En effet, dans les élevages sains, le deuxième pathogène le plus souvent identifié est le BAstrV (41,7%) puis viennent *M. haemolytica* et le BCoV (25% tous les deux) et enfin le VRSB (8,3%). Dans les élevages atteints de BPI, le deuxième pathogène le plus retrouvé dans les voies aériennes hautes est le BCoV (40,0%) puis le BAstrV (27,5%), *M. haemolytica* (17,5%), puis *H. somni* et les *M. bovis* (tous deux à 10,0%) et enfin le BPI3 (5,0%).

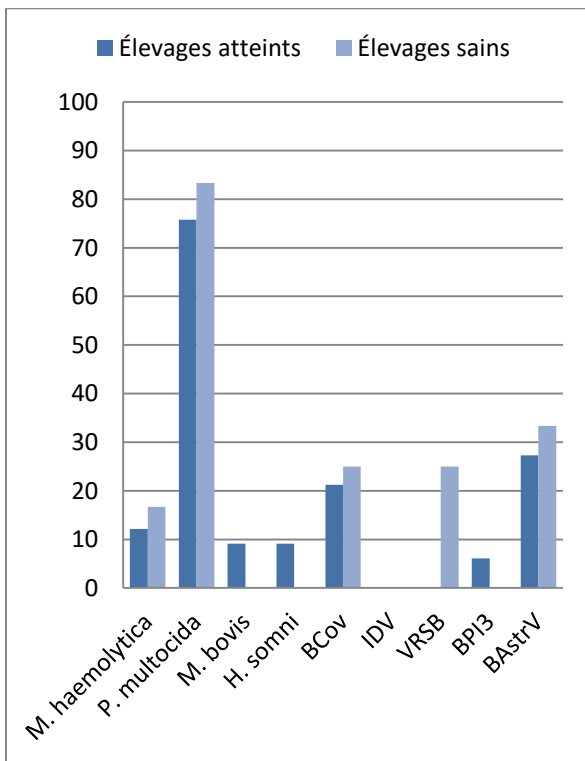


Figure 7 : Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes profondes dans les élevages atteints de BPI et les élevages sains

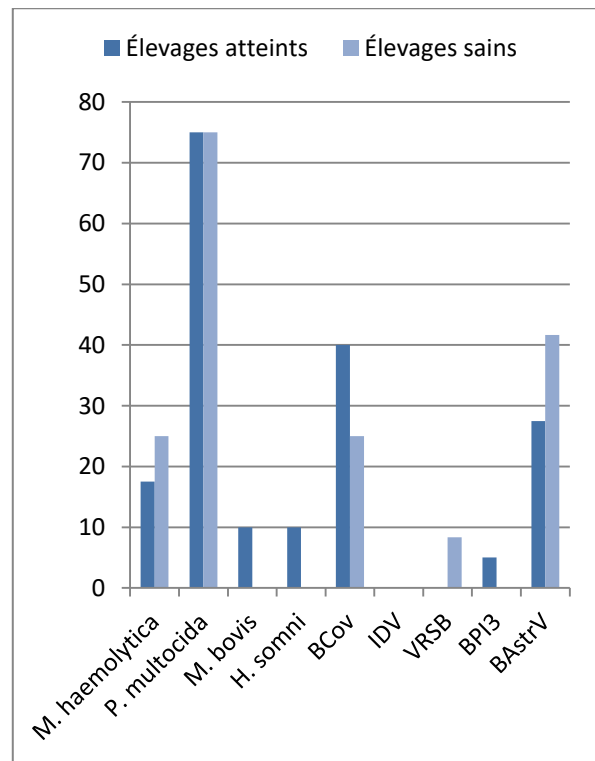


Figure 8 : Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes supérieures entre les élevages atteints de BPI et les élevages sains

Si on s'intéresse ensuite à la prévalence des différents agents pathogènes entre les animaux non malades, c'est-à-dire présentant un score clinique inférieur ou égal à 3, et les animaux malades, c'est à dire présentant un score clinique supérieur ou égal à 4, on constate que la prévalence individuelle des pathogènes chez les animaux non malades ne suit pas la prévalence des élevages sains (figure 9 et 10).

Dans les voies aériennes profondes, le pathogène le plus souvent retrouvé est *P. multocida* chez les animaux aussi bien chez les individus malades et ceux non malades (respectivement 70,0% et 86,4%). Chez les animaux non malades, on retrouve ensuite le BCoV (31,8%), puis le BAstrV (22,7%), le VRSB (13,6%) et *M. haemolytica* (13,6%). On trouve ensuite *M. bovis* (4,5%) et *H. somni* (4,5%) qui n'étaient pas présents au sein des élevages ne présentant pas de signes de BPI. Chez les animaux malades, le deuxième pathogène le plus

couramment retrouvé est le BAstrV (35,0%), puis le BCoV (13,0%), *M. haemolytica* (13,0%) et enfin *M. bovis*, *H. somni* et BPI3 (tous trois à 9,0%).

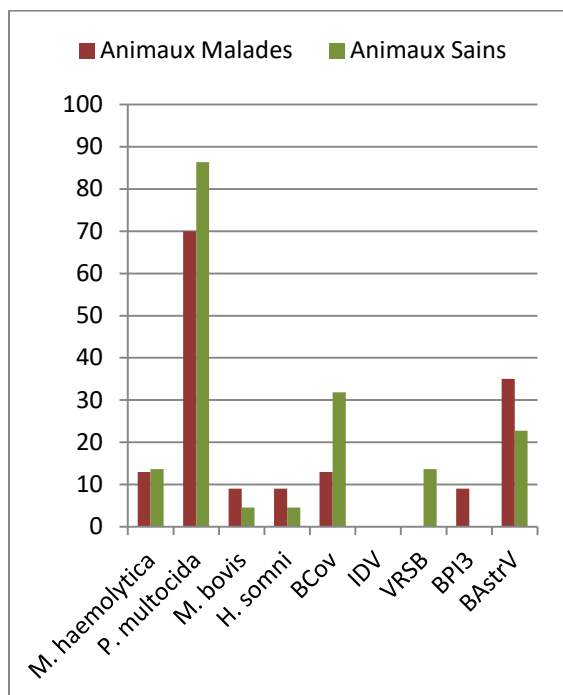


Figure 9: Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes profondes des animaux malades de BPI et des animaux non malades, que ces derniers proviennent d'élevages sains ou infectés.

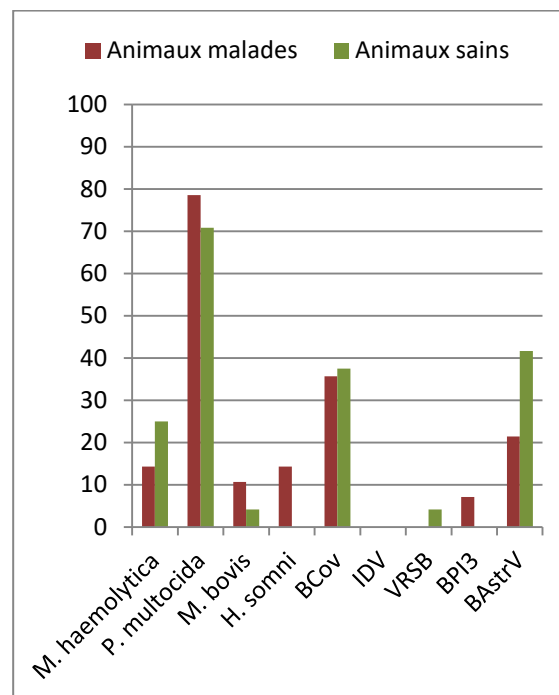


Figure 10: Prévalence des principaux agents de BPI dans les voies aériennes superficielles des animaux malades de BPI et des animaux non malades, que ces derniers proviennent d'élevages sains ou infectés.

Parmi les élevages sains, 2 veaux (16,7%) ne présentaient aucun pathogène identifiable dans les voies aériennes profondes et l'un d'eux ne présentait pas non plus de pathogène identifiable dans les voies aériennes supérieures (8,3%). Parmi les élevages atteints, 3 veaux (9,1%) ne présentaient pas de pathogène identifiable dans les voies aériennes profondes, mais tous présentaient des pathogènes dans les voies aériennes supérieures. Ces trois veaux présentaient néanmoins un score clinique allant de 5 à 10. La différence observée entre les élevages sains et atteints de BPI n'est cependant pas statistiquement significative.

2. Co-infections au sein des élevages bretons

Si on s'intéresse aux différentes co-infections à l'échelle des élevages, on remarque qu'au sein des élevages atteints de BPI, on ne retrouve pas les mêmes co-infections d'un élevage à l'autre (figure 11 et 12). On remarque également qu'il ne semble pas y avoir d'association préférentielle entre les différents pathogènes aussi bien dans les élevages atteints de BPI que dans les élevages sains.

	Élevage	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
Élevages atteints de BPI	1		X							
	2		X		X					X
	3		X	X						X
	4		X			X				X
	5	X				X				X
	6		X	X		X			X	X
	7		X			X				X
Élevages sains	8	X	X							
	9		X			X		X		X
	10	X	X							X

Figure 11: Co-infections présentes dans les différents élevages dans les voies respiratoires profondes

Dans les voies aériennes profondes (figure 11), on retrouve dans les élevages atteints entre 1 et 5 pathogènes. Dans les élevages sains, on trouve entre 2 et 4 pathogènes.

	Élevage	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
Élevages atteints de BPI	1		X							
	2		X		X	X				X
	3		X	X						X
	4	X				X				X
	5		X			X				X
	6		X	X		X			X	X
	7		X			X				X
Élevages sains	8	X								
	9		X			X		X		X
	10	X	X							X

Figure 12: Co-infections présentes dans les différents élevages dans les voies aériennes supérieures

Dans les voies aériennes supérieures (figure 12), on retrouve dans les élevages atteints entre 1 et 5 pathogènes. Dans les élevages sains, on trouve entre 1 et 4 pathogènes.

On ne trouve pas de différence significative, au niveau du nombre de pathogènes présents, entre les élevages atteints et les élevages sains.

3. Co-infection à l'échelle des individus

	Veaux	SC	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
1	t-997	7	0	21,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-998	5	0	25,4	0	0	0	0	0	0	0
	t-999	13	0	29,8	0	0	0	0	0	0	0
2	t-991	9	0	29,6	0	28,4	0	0	0	0	35
	t-992	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	t-993	2	0	29,3	0	29,4	0	0	0	0	0
	t-994	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	t-995	10	0	30,0	0	33,6	0	0	0	0	0
	t-996	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	042	7	0	35,0	0	0	0	0	0	0	0
	088	7	0	31,0	0	0	0	0	0	0	35
	105	0	0	37,1	0	0	0	0	0	0	0
	106	0	0	26,4	0	0	0	0	0	0	0
	t-988	16	0	29,1	26,8	0	0	0	0	0	36
	t-989	7	0	34,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-990	9	0	29,0	28,7	0	0	0	0	0	33
4	t-982	2	0	26,8	0	0	23,9	0	0	0	0
5	045	8	30,6	0	0	0	0	0	0	0	0
	138	4	30,0	0	0	0	32,7	0	0	0	39
	t-967	3	0	0	0	0	30,2	0	0	0	0
	t-968	7	27,0	0	0	0	0	0	0	0	32
	t-969	4	26,2	0	0	0	32,3	0	0	0	0
6	t-961	6	0	25,3	0	0	0	0	0	33,1	0
	t-962	4	0	36,0	0	0	29,2	0	0	34,7	38
	t-963	5	0	35,1	0	0	0	0	0	0	0
	t-964	2	0	23,3	21,3	0	36,8	0	0	0	38
	t-965	2	0	30,2	0	0	0	0	0	0	0
7	t-946	0	0	35,6	0	0	0	0	0	0	0
	t-947	2	0	34,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-948	4	0	29,7	0	0	0	0	0	0	38
	t-949	8	0	25,4	0	0	0	0	0	0	37
	t-950	3	0	25,3	0	0	29,9	0	0	0	0
	t-951	6	0	30,6	0	0	0	0	0	0	0

Figure 13: Résultats PCR (en Ct) dans les LBA des élevages présentant des signes cliniques de BPI
SC : score clinique.

	Veaux	SC	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
8	t-970	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	t-971	0	36,4	34,7	0	0	0	0	0	0	0
	t-972	0	0	36,3	0	0	0	0	0	0	0
9	t-952	0	0	36,9	0	0	34,1	0	25,5	0	34
	t-953	0	0	25,1	0	0	35,3	0	20,4	0	35
	t-954	0	0	24,5	0	0	0	0	36,5	0	0
	t-955	2	0	21,1	0	0	24,2	0	0	0	21
10	t-956	0	0	30,6	0	0	0	0	0	0	0
	t-957	1	0	30,5	0	0	0	0	0	0	35
	t-958	3	35,8	34,0	0	0	0	0	0	0	0
	t-959	1	0	26,0	0	0	0	0	0	0	0
	t-960	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figure 14 : Résultats PCR (en Ct) dans les LBA des élevages ne présentant pas de signes cliniques de BPI
SC : score clinique

Dans les voies aériennes profondes des élevages atteints de BPI, 14 individus (42,4%) présentent une mono-infection et 16 individus (48,5%) présentent une co-infection de 2 à 4 pathogènes (figure 13). Dans les élevages sains, 3 individus (25,0%) présentent une mono-infection et 7 individus (58,3%) présentent une co-infection de 2 à 4 pathogènes (figure 14).

	Veaux	SC	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
1	t-997	7	0	23,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-998	5	0	26,2	0	0	0	0	0	0	0
	t-999	13	0	27,8	0	0	0	0	0	0	0
2	t-991	9	0	28,5	0	30,7	0	0	0	0	0
	t-992	6	0	28,0	0	29,7	36,8	0	0	0	0
	t-993	2	0	31,1	0	0	0	0	0	0	0
	t-994	10	0	28,3	0	28,2	0	0	0	0	0
	t-995	10	0	27,3	0	0	36,2	0	0	0	0
	t-996	5	0	0	0	30,4	0	0	0	0	0
3	042	7	0	26,4	0	0	0	0	0	0	0
	088	7	0	0	0	0	0	0	0	0	38
	105	0	0	37,0	0	0	0	0	0	0	0
	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	34
	t-988	16	0	30,8	0	0	0	0	0	0	36
	t-989	7	0	30,0	31,7	0	0	0	0	0	0
	t-990	9	0	28,4	31,9	0	0	0	0	0	29
4	t-981	1	29,9	0	0	0	34,2	0	0	0	35
	t-982	2	27,1	0	0	0	27,4	0	0	0	35
	t-983	6	28,4	0	0	0	22,7	0	0	0	27
	t-984	6	25,3	0	0	0	22,9	0	0	0	0
	t-985	18	27,8	0	0	0	27,0	0	0	0	0
	t-986	3	30,7	0	0	0	26,9	0	0	0	34
	t-987	15	31,9	0	0	0	29,0	0	0	0	25
5	045	8	0	26,5	0	0	0	0	0	0	37
	138	4	0	24,9	0	0	0	0	0	0	0
	t-966	5	0	23,7	0	0	36,3	0	0	0	0
	t-967	3	0	29,5	0	0	32,8	0	0	0	0
	t-968	7	0	26,6	0	0	30,5	0	0	0	0
	t-969	4	0	25,5	0	0	26,8	0	0	0	0
6	t-961	6	0	28,2	33,5	0	0	0	0	25,7	0
	t-962	4	0	34,3	0	0	26,3	0	0	0	0
	t-963	5	0	29,6	0	0	0	0	0	30,1	0
	t-964	2	0	31,9	31,3	0	0	0	0	0	38
	t-965	2	0	27,2	0	0	28,7	0	0	0	0
7	t-946	0	0	30,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-947	2	0	28,8	0	0	0	0	0	0	0
	t-948	4	0	25,7	0	0	0	0	0	0	0
	t-949	8	0	24,9	0	0	0	0	0	0	0
	t-950	3	0	28,5	0	0	33,0	0	0	0	0
	t-951	6	0	30,6	0	0	0	0	0	0	0

Figure 15: Résultats PCR (en Ct) dans les EN des élevages présentant des signes cliniques de BPI
SC : score clinique

	Veaux	SC	<i>M. haemolytica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>M. bovis</i>	<i>H. somni</i>	BCoV	IDV	VRSB	BPI3	BAstrV
8	t-970	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	t-971	0	34,8	0	0	0	0	0	0	0	0
	t-972	0	31,1	0	0	0	0	0	0	0	35
9	t-952	0	0	29,3	0	0	17,8	0	0	0	34
	t-953	0	0	23,1	0	0	29,5	0	19,1	0	0
	t-954	0	0	24,4	0	0	0	0	0	0	34
	t-955	2	0	22,5	0	0	20,0	0	0	0	20
10	t-956	0	0	27,6	0	0	0	0	0	0	0
	t-957	1	0	26,3	0	0	0	0	0	0	0
	t-958	3	33,5	31,1	0	0	0	0	0	0	0
	t-959	1	0	29,2	0	0	0	0	0	0	35
	t-960	2	0	27,2	0	0	0	0	0	0	0

Figure 16: Résultats PCR (en Ct) dans les EN des élevages ne présentant pas de signes cliniques de BPI
SC : score clinique

Dans les voies aériennes supérieures des élevages atteints de BPI, 15 individus (37,5%) présentent une mono-infection et 25 individus (62,5%) présentent une co-infection de 2 à 3 pathogènes (figure 15). Dans les élevages sains, 4 individus (33,3%) présentent une mono-infection dans les voies aériennes superficielles et 7 individus (58,0%) présentent une co-infection de 2 à 3 pathogènes (figure 16).

Au sein de l'élevage 1, tous les individus ne présentent que des mono-infections à *P. multocida* aussi bien dans les voies aériennes superficielles que profondes.

Au sein de l'élevage 2, trois animaux présentent une co-infection à *P. multocida* et *H. somni* dans les voies aériennes profondes. Le BAstrV a également été détecté chez l'un de ces trois individus en quantité assez faible. Aucun pathogène n'a été identifié dans les LBA chez les trois autres veaux de l'élevage. Cependant dans les EN, on constate que *P. multocida* et *H. somni* ont été identifiés chez la plupart des individus. Le BCoV a également été identifié dans les voies aériennes superficielles chez deux individus. Le BAstrV n'a cependant pas été retrouvé dans les voies aériennes supérieures.

Pour ce qui est de l'élevage 3, *P. multocida* a été identifiée dans les voies aériennes profondes chez tous les individus. Une co-infection à *M. bovis* et le BAstrV a été trouvée chez deux individus, un troisième veau présentait également le BAstrV. Dans les voies aériennes superficielles, les mêmes pathogènes sont retrouvés chez différents individus. *P. multocida* n'est cependant pas retrouvée dans les voies aériennes supérieures chez tous les veaux.

Au sein de l'élevage 4, le seul LBA ayant pu être analysé (perte des prélèvements lors de l'envoi de ceux-ci) montre une co-infection à *P. multocida* et au BCoV. Dans les voies aériennes supérieures, *M. haemolytica* et le BCoV ont été retrouvés chez tous les individus, le BAstrV a également été identifié chez cinq veaux.

Dans l'élevage 5, dans les voies aériennes profondes, deux veaux présentent des mono-infections à *M. haemolytica* ou au BCoV, un présente une co-infection de *M.*

haemolytica et de BAstrV, un une co-infection de *M. haemolytica* et du BCoV et le dernier présente une association des trois pathogènes. Dans les voies aériennes supérieures, *P. multocida* a été identifié chez tous les individus, le BCoV chez quatre veaux (66,6%) mais *M. haemolytica* n'a pas été retrouvée. Le BAstrV a également été identifié chez un veau en association avec *P. multocida*.

Au sein de l'élevage 6, *P. multocida* est identifiée chez tous les animaux dans les voies aériennes profondes et superficielles. Dans les voies aériennes profondes, un individu présente une co-infection avec *M. bovis*, le BCoV et le BAstrV. *M. bovis* et le BAstrV sont également retrouvés dans les voies aériennes supérieures chez cet individu. Un deuxième veau présente une co-infection avec le BCoV, le BPI3 et le BAstrV dans le LBA, mais seul le BCoV est retrouvé dans les voies aériennes superficielles. Un des individus présente une co-infection avec le BPI3 dans les voies aériennes profondes, que l'on identifie également dans ses voies respiratoires superficielles. *M. bovis* a également été identifiée dans les voies aériennes superficielles chez cet individu. Le BCoV et le BPI3 ont également été identifié séparément dans les voies aériennes superficielles chez deux autres veaux.

Dans l'élevage 7, *P. multocida* a également été identifiée chez tous les individus aussi bien dans les voies aériennes supérieures que profondes. Le BAstrV a été identifié chez deux veaux dans les voies aériennes profondes, mais n'a pas été retrouvé dans les voies aériennes supérieures. Le BCoV a été identifié chez un individu dans l'appareil respiratoire supérieur et profond.

Au sein de l'élevage 8, élevage non atteint de BPI, aucun pathogène n'a été identifié dans les voies aériennes superficielles, ni profondes chez un veau. *P. multocida* a été identifiée dans les voies respiratoires profondes chez les deux autres individus, l'un d'eux présentait également *M. haemolytica*. Dans les voies respiratoires superficielles, *M. haemolytica* a été identifiée chez ces deux individus.

Au sein de l'élevage 9, *P. multocida* a été identifiée chez tous les individus dans les voies respiratoires supérieures et profondes. Chez deux veaux, le BCoV, le VRSB et le BAstrV ont également été identifiés dans les LBA. Un animal présentait le BCoV et le BAstrV et le dernier ne présentait que le VRSB en plus, dans les voies aériennes profondes. Les trois veaux chez lesquels ont été identifiés le BCoV et le BAstrV dans les LBA, présentaient ces mêmes virus dans les voies aériennes supérieures. Le VRSB a été identifié dans les voies aériennes supérieures chez un seul des veaux, qui était positif dans les voies aériennes profondes.

Dans l'élevage 10, un individu ne présentait aucun pathogène dans les voies aériennes profondes. *P. multocida* a été identifiée dans les LBA chez tous les autres individus. *M. haemolytica* a été identifiée chez un individu dans les voies aériennes profondes et supérieures. Le BAstrV a été identifié chez un veau dans les voies respiratoires

profondes et chez un autre dans les voies respiratoire superficielles. Dans les voies aériennes superficielles, *P. multocida* a été identifiée chez tous les individus.

B. Signes cliniques

1. Importance des signes cliniques si mono ou poly infection

Parmi les élevages atteints, un élevage (élevage n°2) possédait des animaux assez fortement symptomatiques, pour lesquels aucun pathogène n'a pu être identifié. La figure 17 présente le score clinique moyen des animaux en fonction du nombre de pathogènes identifiés dans leurs voies respiratoires profondes. Ainsi, lorsqu'aucun pathogène n'est identifié dans les voies aériennes profondes, on observe un score clinique moyen proche des mono-infections ou des co-infections à deux agents pathogènes. Le score clinique moyen le plus élevé est obtenu lors de co-infection à trois agents pathogènes dans les voies respiratoires supérieures. Une co-infection de quatre agents pathogènes semble aboutir à un score clinique moyen plus bas. La différence de score clinique selon le nombre de pathogènes infectants n'est cependant pas significative (p value $>0,05$)

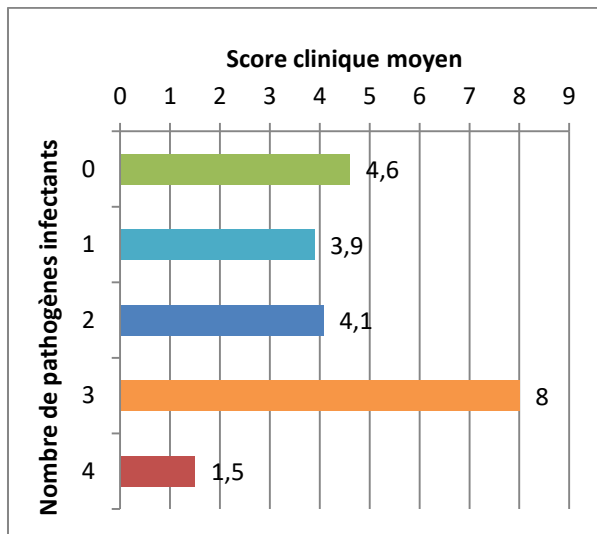


Figure 17 : Score clinique moyen des veaux en fonction du nombre de pathogènes infectant les voies aériennes profondes.

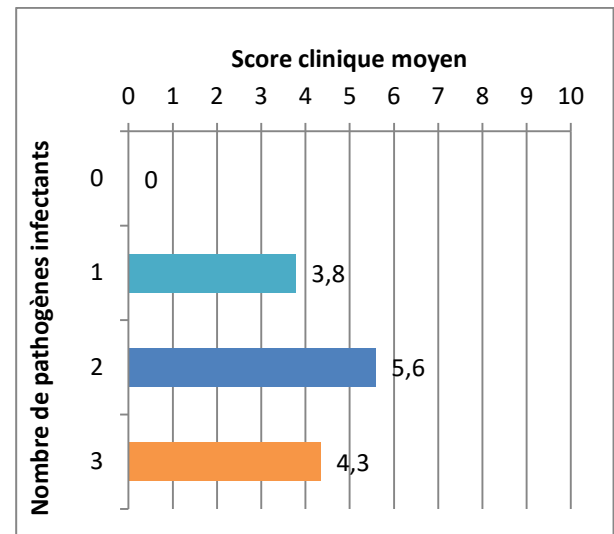


Figure 18 : Score clinique moyen des veaux en fonctions du nombre de pathogènes infectant les voies aériennes supérieures.

La figure 18 présente le score clinique moyen des animaux en fonction du nombre de pathogènes identifiés dans les voies aériennes supérieures. On constate alors que lorsqu'aucun pathogène n'est identifié dans les voies respiratoires supérieures, on observe un score clinique moyen de 0. En cas de mono-infection ou co-infection à trois agents pathogènes, les scores cliniques moyens sont inférieurs à une co-infection à deux agents pathogènes. Là encore, il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes (p value $>0,05$).

Nous nous sommes ensuite intéressés au score clinique des animaux en fonction du type de mono-infection ou de co-infection présent chez les animaux.

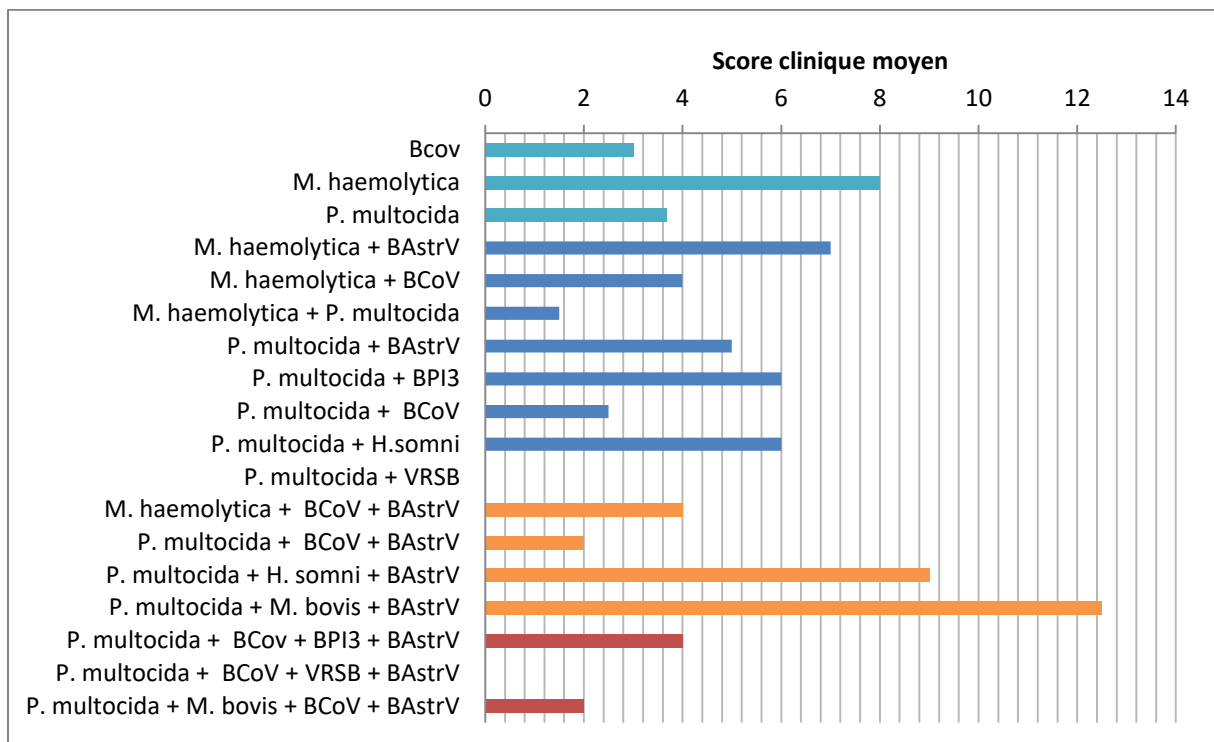


Figure 19 : Score clinique moyen des veaux en fonction du pathogène ou de l'association de pathogènes présents dans les voies aériennes profondes.

La figure 19 présente le score clinique moyen obtenu par les animaux en fonction du pathogène ou des associations de pathogènes retrouvés dans leurs voies aériennes profondes. On peut ainsi constater que selon le pathogène ou l'association de pathogènes infectant, le score clinique moyen des animaux pour un même nombre de pathogènes infectant est très variable.

Lorsque l'on s'intéresse aux mono-infections, le score clinique moyen obtenu lors d'une infection à *M. haemolytica* est plus élevé que lorsque l'on retrouve le BCoV seul, ou *P. multocida* seule.

De même, l'association de *M. haemolytica* avec le BAstrV entraîne un score clinique plus élevé lors d'une association de deux pathogènes. Vient ensuite *P. multocida* avec le BPI3 et *P. multocida* avec *H. somni*, puis *P. multocida* avec le BAstrV et en dernier *P. multocida* avec le BCoV et *M. haemolytica* avec *P. multocida*. Dans notre étude, *P. multocida* associée au BRSV n'a pas donné de signes cliniques.

Lors d'association de trois pathogènes, l'association de *P. multocida* avec le BAstrV et *M. bovis* ou de *P. multocida* avec le BAstrV et *H. somni* sont les associations provoquant les signes cliniques les plus marqués. L'association du BCoV, du BAstrV avec *P. multocida* ou *M. haemolytica* semble entraîner des signes cliniques moins importants.

Enfin, lors d'association de quatre pathogènes dans les voies aériennes profondes, on remarque des signes cliniques moins importants de manière générale. L'association de *P. multocida* avec le BCoV, le VRSB et le BAstrV n'a pas donné lieu à des signes cliniques, alors que l'association de *P. multocida* avec le BCoV, le BPI3 et le BAstrV a donné un score clinique moyen de 4 et l'association de *P. multocida*, *M. bovis*, BCoV et BAstrV donne un score clinique moyen de 2.

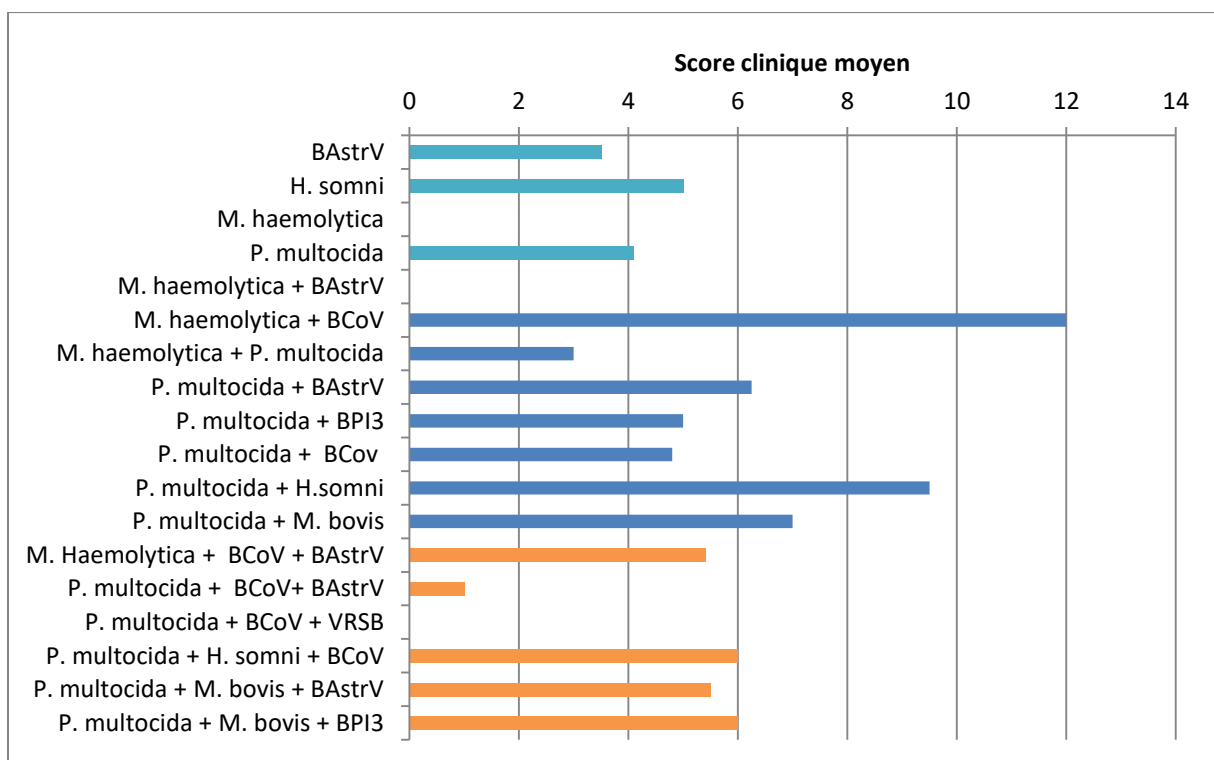


Figure 20 : Score clinique moyen des animaux en fonction du pathogène ou de l'association de pathogènes présent dans les voies aériennes supérieures.

La figure 20 présente le score clinique moyen obtenu par les animaux en fonction du pathogène ou de l'association de pathogènes identifié dans les EN.

Lors de mono-infection, on remarque un score clinique proche entre les différents pathogènes (*BAstrV*, *H. somni* et *P. multocida*) et relativement peu élevé, seul *M. haemolytica* se démarque par un score clinique moyen nul.

Si l'on s'intéresse aux associations de deux pathogènes, on remarque une forte variation au niveau des scores cliniques observés en fonction de l'association de pathogènes présente, allant de nul, pour l'association de *M. haemolytica* et du *BAstrV*, à 12 pour une association de *M. haemolytica* et du *BCoV*.

En ce qui concerne les associations à trois pathogènes, les scores cliniques sont similaires et proches d'un score moyen de 6, sauf pour l'association de *P. multocida*, du *BCoV* et du *BAstrV* et celle de *P. multocida*, du *BCoV* et du *VRSB*, où les scores cliniques moyens sont bien moins importants (respectivement 1 et 0).

On retrouve ainsi souvent, mais pas systématiquement, les mêmes associations de pathogènes dans les voies respiratoires hautes et les voies respiratoires profondes.

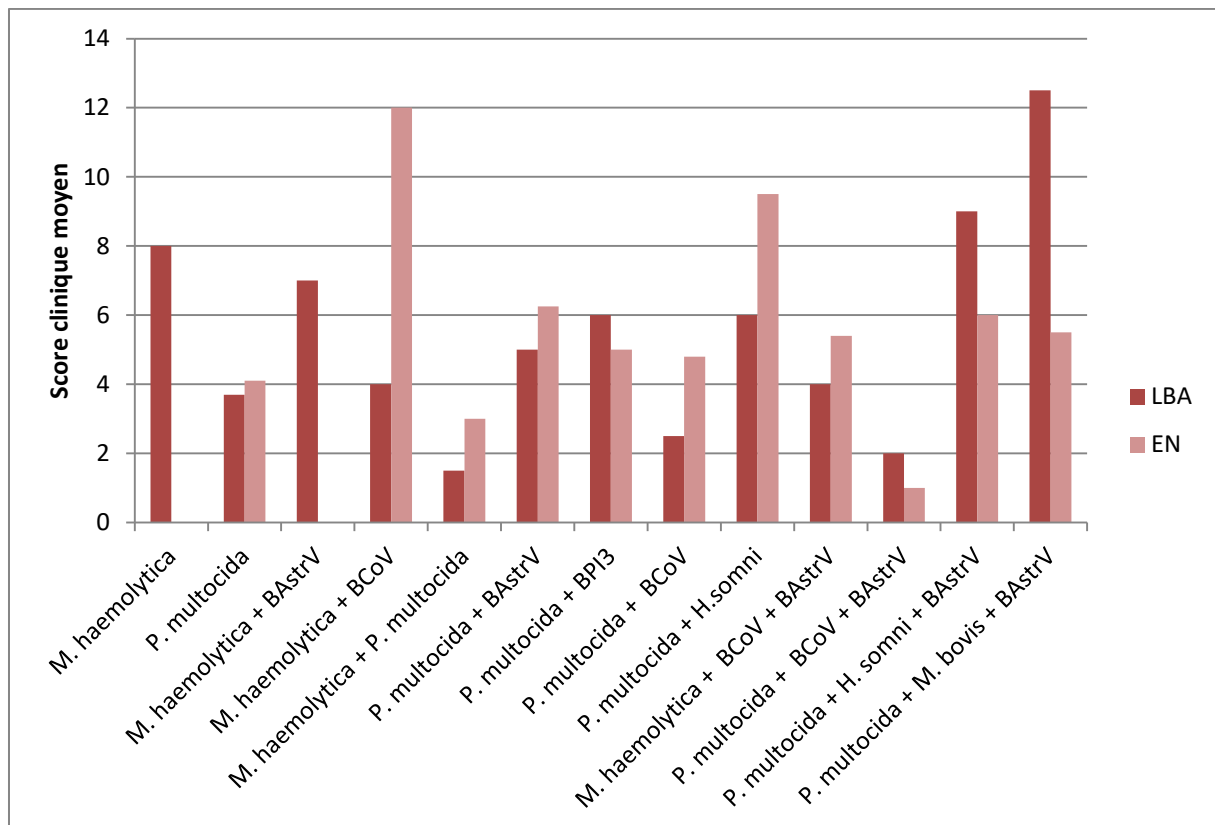


Figure 21: Comparaison des scores cliniques en fonction de l'association de pathogènes et de la localisation chez les individus

La figure 21 présente une comparaison des scores cliniques obtenus en fonction de l'association de pathogènes identifiée, selon la localisation profonde ou superficielle. On constate qu'une même association n'entraîne pas les mêmes signes cliniques selon qu'elle est retrouvée dans les voies aériennes profondes ou superficielles.

On observe ainsi que les scores cliniques sont assez proches pour la plupart des associations, qu'elles soient retrouvées dans les voies aériennes profondes ou superficielles, exceptées dans certains cas.

Ainsi, si *M. haemolytica* retrouvée dans les LBA entraîne un score clinique moyen de 8, lorsqu'elle est retrouvée isolée dans les voies aériennes hautes, le score clinique est de 0. De la même façon, le score clinique de l'association entre *M. haemolytica* et le BAstrV est bien plus important lorsque l'association est retrouvée dans les voies aériennes profondes, que lorsqu'elle est retrouvée dans les voies aériennes supérieures. Il en est de même pour les associations de *P. multocida*, *H. somni* et le BAstrV et l'association de *P. multocida*, *M. bovis* et le BAstrV.

Cependant, pour ce qui est de l'association de *M. haemolytica* avec le BCoV ou encore de celle de *P. multocida* et *H. somni*, le score clinique est plus élevé lorsqu'elles sont identifiées dans les voies respiratoires supérieures, par rapport aux voies aériennes profondes.

2. Corrélation des signes cliniques et sévérité de l'affection en fonction du pathogène retrouvé

La figure 22 présente le score clinique moyen des individus pour chaque pathogène identifié, en fonction de la localisation dans les voies aériennes profondes ou superficielles.

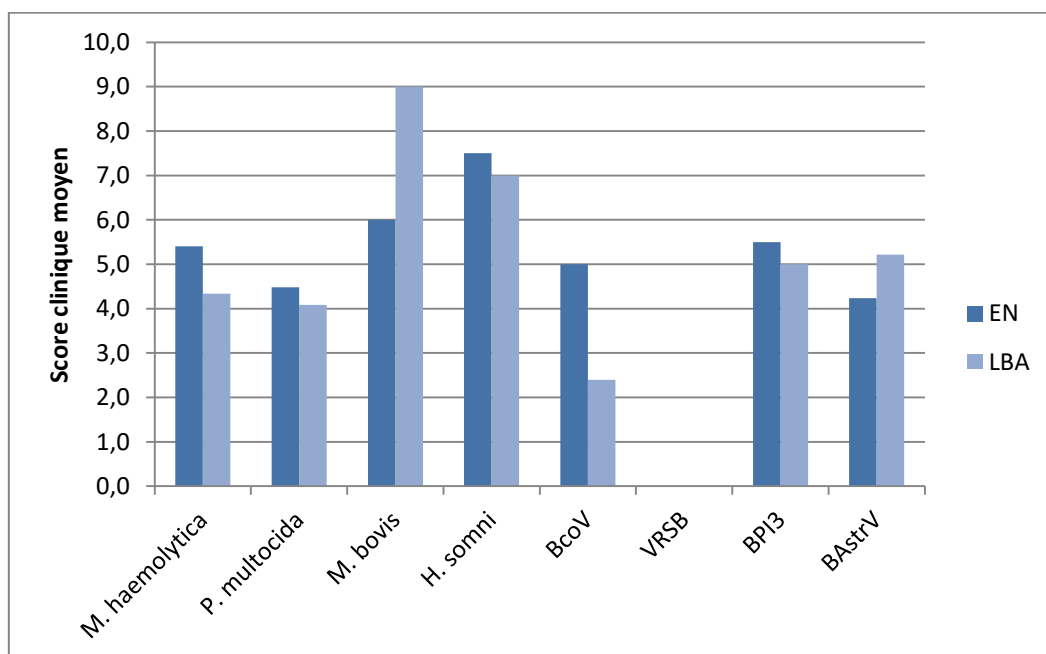


Figure 22 : Effet clinique moyen de chacun des pathogènes en fonction de leur localisation supérieure ou profonde.

On remarque que *M. bovis* et *H. somni* sont à l'origine des scores cliniques les plus élevés, qu'ils soient identifiés dans les voies aériennes supérieures ou profondes. Le score clinique moyen le plus élevé est obtenu lorsque *M. bovis* est identifiée dans les voies aériennes profondes chez les veaux. Chez tous les pathogènes, excepté *M. bovis* et le BAstrV, le score clinique moyen est plus élevé lorsque que le pathogène est identifié dans les voies aériennes supérieures, comparé à une identification dans les voies aériennes profondes.

C. Prévalence et rôle pathogène du BAstrV

1. Fréquence de détection du BAstrV chez les individus sains et malades

Le BAstrV a été le virus le plus fréquemment détecté, avec le BCoV, chez 39 veaux sur les 45 veaux pour lesquels nous avons pu tester les EN, LBA et prélèvements de fèces, soit une prévalence de 86,7%. Il a été détecté dans tous les élevages étudiés, sur au moins un des sites de prélèvement (EN, LBA ou ER).

Quand on compare les animaux malades aux individus sains, on constate une fréquence de détection plus importante dans les prélèvements respiratoires profonds (LBA), chez les individus atteints de BPI. En revanche, la fréquence de détection est plus importante chez les individus non malades pour les prélèvements issus de l'appareil respiratoire hauts (EN) ou les prélèvements de fèces.

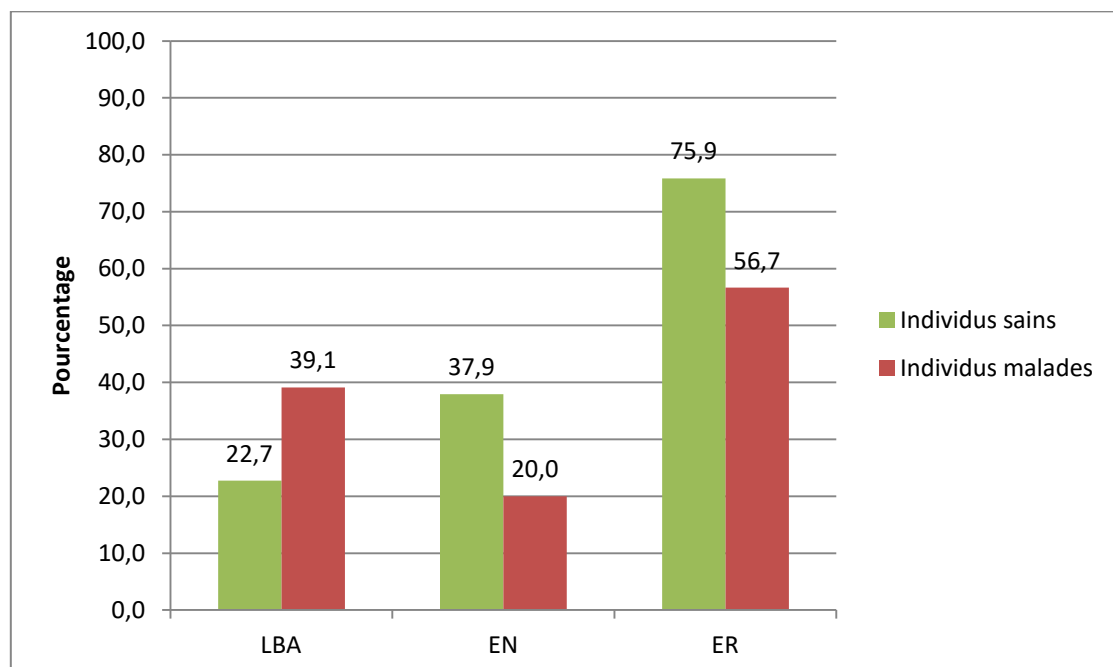


Figure 23: Comparaison de la prévalence du BAstrV dans les voies aériennes supérieures (EN), profondes (LBA) ou dans les fèces (ER)

2. Corrélation entre la présence du BAstrV dans les prélèvements respiratoires profonds, supérieurs ou de fèces et les signes cliniques associés

Parmi les 39 veaux identifiés comme porteurs du BAstrV, 19 (49%) n'étaient positifs que dans les fèces, 2 veaux (5,1%) n'étaient positifs qu'au niveau des cavités nasales et 4 veaux (10,3%) uniquement dans les voies aériennes profondes. Chez 4 veaux (10,3%) le virus a été retrouvé à la fois dans les ER et les EN. On observe une prévalence identique pour une détection commune dans les ER et les LBA. Un seul veau (2,6%) était porteur du virus à la fois dans les cavités nasales et les voies aériennes profondes. Les 5 veaux restants (12,8%) portaient le virus dans les trois types de prélèvements.

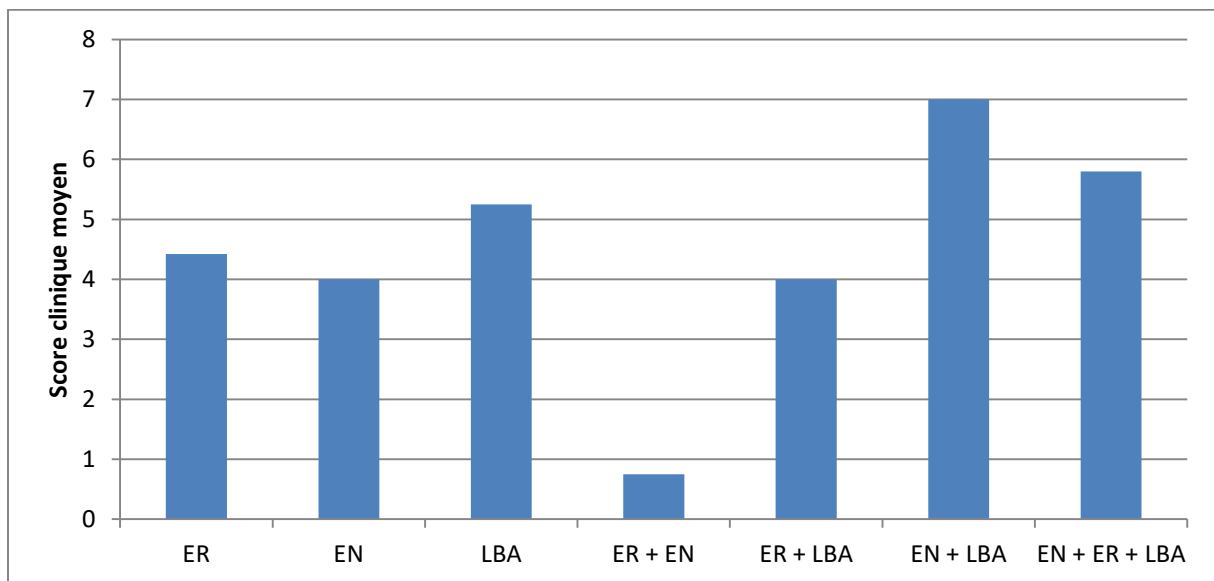


Figure 24 : Score clinique moyen des animaux en fonction de la localisation digestive (ER), aérienne supérieure (EN) ou profonde (LBA) du BAstrV.

La figure 24 présente le score clinique moyen des individus en fonction de la localisation du BAstrV. On constate un score clinique plus élevé lors d'une infection concomitante des voies aériennes supérieures et profondes. On remarque également que les scores cliniques les plus élevés sont associés à une identification du virus dans le LBA.

En comparant le score clinique moyen des animaux lorsque le virus est identifié dans les voies aériennes profondes (indépendamment de son identification dans les voies aériennes supérieures ou dans les fèces) et lorsqu'il n'y est pas présent, on constate effectivement que le score clinique est plus élevé lorsque le virus est présent dans le LBA (score clinique moyen respectivement de 5,6 et 3,8).

3. Astrovirus et co-infection

Dans les voies aériennes supérieures, le BAstrV a été retrouvé associé aux bactéries *M. haemolytica*, *P. multocida*, et *H. somni* et au virus BCoV.

Dans les voies aériennes profondes, le BAstrV a été identifié en association avec les bactéries *M. haemolytica*, *P. multocida*, *H. somni* et *M. bovis* et les virus BCoV, VRSB et BPI3.

Aucune association du virus avec le VRSB n'a été mise en évidence.

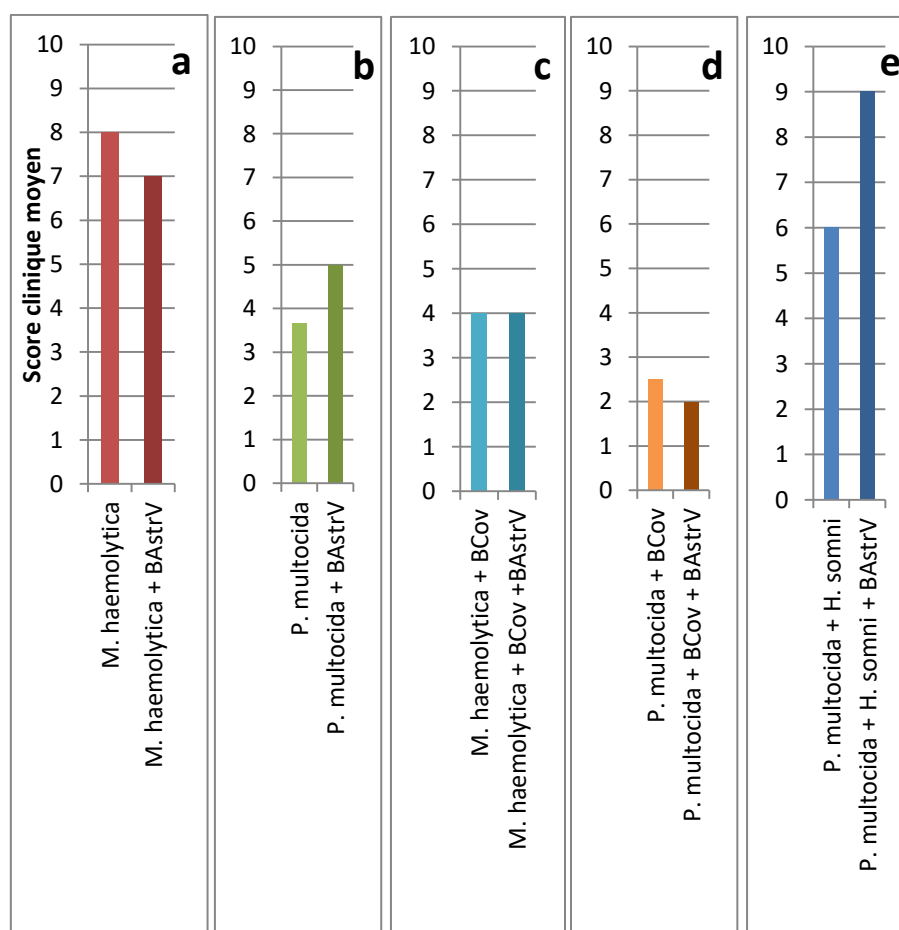


Figure 25 : Comparaison du score clinique moyen entre les animaux infectés par un ou plusieurs pathogènes et la même association combinée au BAstrV, retrouvé dans les voies aériennes profondes.

La figure 25 présente une comparaison entre le score clinique moyen obtenu lors d'une infection à un ou plusieurs pathogènes et le score clinique moyen avec les mêmes pathogènes associés au BAstrV dans les voies aériennes profondes.

On constate que les associations du BAstrV avec *M. haemolytica* (a) ou avec *M. haemolytica* et le BCoV (c) ou avec *P. multocida* et le BCoV (d) entraînent un score clinique moyen identique ou inférieur à celui du pathogène seul.

En revanche, les associations du BAstrV avec *P. multocida* seule (b) ou avec *P. multocida* et *H. somni* (e), entraînent un score clinique moyen plus élevé.

IV. Discussion

A. Prévalence et association de pathogènes dans les BPI chez le veau

Lors de notre étude, le virus de l'IDV n'a été identifié chez aucun des individus testés. Une étude de 2015 en France avait trouvé une prévalence de 4,5% du virus sur 134 échantillons testés, issus de veaux présentant des signes cliniques de BPI (Ducatez, Pelletier, Meyer 2015). Par ailleurs, une étude sérologique menée en France avait montré que l'IDV circule largement sur le territoire, avec cependant des différences de prévalence sérologique (entre 39,6% et 70%) entre les régions (Oliva et al. 2019). Pour la Bretagne, la prévalence était de 45,2% pour la période 2014-2018. L'absence d'identification de l'IDV lors de notre étude pourrait être expliquée principalement par un échantillonnage trop faible. L'absence du virus dans nos fermes très localisées ne peut cependant être exclue.

Il est surprenant de constater que le VRSB, agent étiologique considéré comme possédant un pouvoir pathogène majeur lors de BPI chez le veau, a uniquement été identifié chez des veaux issus d'un élevage cliniquement sain de BPI. De plus, le virus du VRSB a été démontré comme étant largement répandu au sein de la population bovine (Grell et al. 2005). Par contre sa circulation est saison et année dépendante, probablement liée aux conditions climatiques. L'identification du VRSB chez des animaux cliniquement non malades n'est pas surprenante, l'infection par ce virus étant symptomatique que sur une proportion modérée d'animaux. En revanche elle indique la présence du virus et sa circulation dans certains élevages. Cette circulation est probablement limitée, car étonnamment nous n'avons pas pu détecter le virus sur des animaux atteints de BPI. Une autre explication pourrait porter sur la qualité de la conservation et de l'envoi de nos prélèvements, ayant pu causer une dégradation de l'ARN. Il est bien connu que le VRSB est un virus fragile qui se dégrade rapidement.

Les prévalences des différents agents pathogènes identifiés lors de notre étude et dans les études préalablement publiées sont très variables en fonction de la localisation de ces études et de l'année de recherche (Gagea et al. 2006; Saif 2010; Mahmood et al. 2017; Zhang et al. 2020). On retrouve malgré tout une forte prévalence de *P. multocida* compatible avec sa présence, de manière commensale, au niveau du nasopharynx des bovins. Sa détection fréquente dans les prélèvements respiratoires profonds est plus intrigante, cette bactérie étant plus considérée comme peu pathogène, quand elle est identifiée seule. Dans notre étude, mis à part l'élevage 1, elle est systématiquement détectée avec d'autres virus ou bactéries. Dans l'élevage 1, elle est associée à un score clinique moyen de 4, suggérant

que cette bactérie, seule, peut quand même entraîner des formes cliniques respiratoires modérées.

Il est également intéressant de constater que malgré sa forte fréquence de détection lors de notre étude, *P. multocida* n'a été identifiée chez aucun veau dans un élevage. Cependant, tous les individus de cet élevage étaient porteurs de *M. haemolytica* dans les voies respiratoires supérieures ou profondes à des quantités relativement importantes (Ct<35). Cette observation est cohérente avec le fait qu'il existe une compétition au niveau de la croissance de *P. multocida* et de *M. haemolytica* (Bavananthasivam et al. 2012). Ainsi, chez les individus porteurs de *P. multocida*, *M. haemolytica* était rarement identifiée ou dans des quantités faibles (Ct>35).

Enfin, concernant *P. multocida*, sa détection par PCR repose sur l'ARN 16S, alors que pour les autres bactéries des gènes spécifiques sont amplifiés. Se pose alors la question d'un défaut de spécificité de cette valence *P. multocida*, qui pourrait accidentellement augmenter le nombre de positifs. Si on enlève la valence *P. multocida* dans notre étude on retrouve assez fréquemment des associations uniquement entre virus chez les veaux atteints de BPI, ce qui suggère la possibilité que des co-infections par des virus dont le pouvoir pathogène est qualifié de modéré (hors VRSB) peuvent être responsables de BPI. En l'état, dans notre étude, les scores cliniques restent cependant inférieurs à ceux observés lors d'association entre virus et bactéries, notamment quand *M. haemolytica* est impliquée. Ce pan de la recherche sur les associations de virus respiratoires est encore peu développé chez les bovins.

Parmi les virus, c'est le BCoV qui a été le plus fréquemment détecté par PCR. Ces résultats confirment les données antérieures obtenues en France (Gadanhó 2020) ou dans d'autres études bibliographiques (Gagea et al. 2006; Saif 2010; Mahmood et al. 2017; Zhang et al. 2020). Le BCoV est un virus dont le pouvoir pathogène respiratoire est indéniable mais pour lequel on ne sait pas encore s'il est capable d'induire des BPI sévères seul ou en association avec d'autres agents pathogènes. Les données d'infections expérimentales et les données épidémiologiques (associations très fréquentes) suggèrent plutôt la deuxième hypothèse.

Enfin la présence de *H. somni*, *M. bovis* et du BPI3 a été prouvée de manière plus anecdotique dans nos élevages. *M. bovis* est un pathogène respiratoire dont la présence est plus fréquemment observée dans les élevages de veaux de boucherie et moins dans nos élevages naisseurs laitiers. *H. somni* est une bactérie clairement démontrée comme agent pathogène respiratoire majeur des BPI aux USA mais plutôt dans les élevages d'engraissement de jeunes bovins. Sa prévalence en Europe est encore peu connue même si elle est couramment détectée chez les jeunes bovins d'engraissement.

Le prélèvement de veaux asymptomatiques, dans les élevages atteints, nous a permis de constater que de manière générale, la flore pathogène au sein de ces élevages est partagée entre tous les individus de l'élevage et ne définit pas forcément un état symptomatique. En effet, de nombreux individus ont été identifiés comme porteurs de co-infections d'agents pathogènes dits majeurs et présentent pourtant un score clinique faible. La cinétique d'infection peut ainsi être mise en cause. Les veaux asymptomatiques porteurs d'agents pathogènes pouvaient représenter un stade précoce d'infection. Cela permet de mettre en évidence l'importance de ne pas exclure les animaux asymptomatiques lors de la recherche diagnostique d'agents pathogènes lors de BPI. Cependant, le contrôle clinique effectué à 7 jours post-prélèvement a permis de contrôler l'absence de signes cliniques chez les animaux considérés comme asymptomatiques dans ces élevages. Nous avons ainsi constaté que tous les veaux considérés comme asymptomatiques au moment du prélèvement demeuraient à des scores cliniques inférieurs ou égaux à 3 lors du contrôle à 7 jours. Nous pouvons donc nous interroger sur la période d'incubation nécessaire au développement de signes cliniques des agents de BPI. On peut également mettre en cause le caractère multifactoriel des BPI avec une influence de la génétique ou de facteurs individuels (stress, parasitisme,...) qui affectent l'immunité individuelle et permet ou non le développement de symptômes.

La cinétique d'infection peut également être à l'origine de la découverte d'animaux avec des scores cliniques très élevés, chez qui aucun pathogène n'a pu être identifié. Le remodelage tissulaire et les lésions pulmonaires lors d'infection sévère peuvent aussi être à l'origine d'une faible détection des pathogènes présents.

Nous avons également pu mettre en évidence qu'une localisation différente de l'agent pathogène ou de l'association d'agents pathogènes n'entraîne pas les mêmes signes cliniques. Contrairement à ce qui aurait pu être supposé, le score clinique le plus élevé n'est pas systématiquement associé à une présence des pathogènes dans les voies aériennes profondes. On peut ainsi supposer que les différents pathogènes possèdent des territoires d'action et des tropismes différents à l'origine des signes cliniques et des lésions. La présence d'autres agents pathogènes non identifiés lors de cette étude ne peut pas non plus être exclue.

Étonnement nous avons trouvé moins d'association d'agents pathogènes dans les voies respiratoires supérieures que les voies profondes. Cela est surprenant car on pourrait imaginer que les défenses physiques hautes (mucus, appareil ciliaire...) aient pu filtrer ou bloquer une partie des agents pathogènes présents dans les cavités nasales. D'un autre côté, la présence de nombreuses co-infections dans les poumons pourrait également être le signe d'un déséquilibre de la flore locale, résultant de l'état pro-inflammatoire chez les individus atteints.

In fine, il faut bien considérer nos résultats comme des indicateurs pour une base de discussion, le faible nombre d'élevages et de veaux testés ne permet pas de conclure et de généraliser à la population bovine.

B. Implication de l'astrovirus bovin dans le développement de BPI chez le veau

Notre étude cherchait à démontrer l'implication en association ou non du BAstrV dans le développement de BPI chez le veau. Les résultats obtenus tendent à montrer que ce virus est largement répandu dans la sphère respiratoire des bovins aussi bien symptomatiques qu'asymptomatiques (prévalence respective de 35% et 22,7% dans les voies aériennes profondes). Nous avons aussi mis en évidence une prévalence plus importante du virus dans les voies respiratoires profondes chez les individus atteints de BPI par rapport aux individus cliniquement sains, permettant de suspecter une implication de ce dernier dans le développement clinique des BPI.

Si la présence du BAstrV a été démontrée dans tous les types de prélèvements (EN, LBA, ER) chez les veaux de l'étude, les individus chez qui le virus était identifié dans les LBA présentaient un score clinique plus élevé que les individus porteurs du virus dans un autre type de prélèvement. Le score clinique moyen maximal a été observé lorsque le virus était identifié à la fois dans les voies respiratoires profondes et supérieures.

Notre étude a permis de mettre en évidence que le virus pouvait être retrouvé en association, aussi bien dans les voies aériennes supérieures que profondes avec d'autres virus ou bactéries (*P. multocida*, *M. haemolytica*, *M. bovis*, *H. somni*, BPI3, BCoV, VRSB). Une association avec les bactéries *P. multocida* et *H. somni* semble entraîner un score clinique plus élevé chez les individus atteints, que lorsque que ces deux mêmes bactéries sont retrouvées isolées, laissant suspecter la possibilité d'une synergie virus-bactérie pouvant aggraver les signes cliniques observés. L'association du virus avec *M. haemolytica* ou avec le virus du BCoV n'a pas montré d'aggravation des signes cliniques. L'effet de l'association du BAstrV avec *M. bovis* ou avec le VRSB n'a pas pu être évalué, ces deux pathogènes n'ayant pas été retrouvés dans les mêmes associations.

Notre étude ne nous a pas permis d'observer d'association avec le virus de l'IDV, ce dernier n'ayant pas été identifié chez les veaux testés. Un échantillonnage plus important ou une étude d'une région géographique différente aurait pu permettre de conclure quant à une potentielle synergie ou concurrence entre les deux agents pathogènes.

En l'état des résultats, la présence du BAstrV dans les voies respiratoires profondes pourrait être corrélée à des signes cliniques respiratoires chez le veau. Toutefois le faible

nombre d'élevages et de veaux testés, et l'absence de tests statistiques incite à des études supplémentaires pour définir l'imputabilité clinique respiratoire de ce virus chez le veau.

C. Limites

Bien que cette étude ait porté sur plus d'une cinquantaine de veaux, notre échantillon reste faible pour établir s'il existe une différence significative entre la population symptomatique et asymptomatique. Les tests statistiques réalisés, lorsqu'ils étaient possibles, n'ont ainsi pas permis de mettre en évidence de différences significatives entre les groupes étudiés. Ce faible échantillonnage a également été accentué par la perte de données lors de leur transport.

Le score clinique observé lors de notre étude a été imputé à la présence des pathogènes identifiés. Cependant, seuls 8 pathogènes respiratoires ont été testés lors de nos prélèvements et l'implication d'autres virus ou bactérie dans l'apparition des signes cliniques ne peut être exclue.

Il est également important de noter que lors de leur identification par PCR, de nombreux pathogènes ont été identifiés à des cycles de seuil supérieur à 35 cycles. La quantité de virus ou de bactéries présente dans l'échantillon est alors faible et l'interprétation de la présence de l'agent pathogène et de son implication à des quantités aussi infimes est alors difficile.

Conclusion

Notre étude avait pour but d'évaluer la fréquence des principaux virus déjà connus comme impliqués dans le développement de BPI, et d'évaluer celle d'un nouveau virus potentiellement impliqué dans le développement de cette maladie : le BAstrV. *P. multocida* est le principal agent pathogène retrouvé chez tous les individus indépendamment du fait qu'ils soient symptomatiques ou non. Le BCoV ainsi que *M. haemolytica* ont également été retrouvés avec une forte prévalence chez les individus atteints de BPI. De nombreuses associations entre les différents pathogènes ont pu être mises en évidence, aussi bien dans les voies aériennes superficielles que profondes.

L'étude du score clinique associé à l'identification des différentes associations suggère que des affections combinant 3 pathogènes dans les voies aériennes profondes entraîneraient un score clinique plus élevé et seraient donc plus délétères pour l'individu. Cependant le type de pathogène infectant semble également avoir une implication sur le score clinique observé, suggérant là encore l'importance de synergie d'infection virus-bactérie, bactérie-bactérie ou virus-virus.

Selon notre recherche, le BAstrV est le deuxième agent le plus présent dans les voies aériennes profondes aussi bien chez les animaux malades que non malades avec cependant une prévalence plus importante chez les animaux malades. Notre étude suggère également que l'association du BAstrV avec d'autres agents pathogènes comme *P. multocida* ou *H. somni* entraîne des signes cliniques plus sévères qu'une infection isolée par un de ces pathogènes.

Enfin, il n'a pas été possible de conclure quant à une différence significative entre les groupes infectés et les groupes sains. Une étude de plus grande envergure, sur une population de plus grand effectif, avec des profils d'élevages différents et dans une zone géographique plus vaste est à envisager pour approfondir ces observations.

Bibliographie :

ALVES, Luana de Fátima, WESTMANN, Cauã Antunes, LOVATE, Gabriel Lencioni, SIQUEIRA, De, VIANA, Guilherme Marcelino, BORELLI, Tiago Cabral et GUAZZARONI, María-Eugenia, 2018. Metagenomic Approaches for Understanding New Concepts in Microbial Science. *International Journal of Genomics* [en ligne]. 23 août 2018.

AMAT, S., SUBRAMANIAN, S., TIMSIT, E. et ALEXANDER, T. W., 2017. Probiotic bacteria inhibit the bovine respiratory pathogen *Mannheimia haemolytica* serotype 1 in vitro. *Letters in Applied Microbiology*. mai 2017. Vol. 64, no. 5, p. 343-349. DOI 10.1111/lam.12723.

APPLETON, H. et HIGGINS, P.G., 1975. VIRUSES AND GASTROENTERITIS IN INFANTS. *The Lancet*. juin 1975. Vol. 305, no. 7919, p. 1297. DOI 10.1016/S0140-6736(75)92581-7.

AUTIO, T., POHJANVIRTA, T., HOLOPAINEN, R., RIKULA, U., PENTIKÄINEN, J., HUOVILAINEN, A., RUSANEN, H., SOVERI, T., SIHVONEN, L. et PELKONEN, S., 2007. Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary Microbiology*. 31 janvier 2007. Vol. 119, no. 2-4, p. 256-265. DOI 10.1016/j.vetmic.2006.10.001.

BAKER, John C, 1995. The Clinical Manifestations of Bovine Viral Diarrhea Infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1 novembre 1995. Vol. 11, no. 3, p. 425-445. DOI 10.1016/S0749-0720(15)30460-6.

BAREILLE, N, SEEGER, H, DENIS, G, QUILLET, JM et ASSIÉ, S, 2008. Impact technique et économique des troubles respiratoires des jeunes bovins lors de l'engraissement. *Rencontres Rech Ruminants*. 2008. No. 1, p. 77-80.

BAVANANTHASIVAM, Jegarubee, DASSANAYAKE, Rohana P., KUGADAS, Abirami, SHANTHALINGAM, Sudarvili, CALL, Douglas R., KNOWLES, Donald P. et SRIKUMARAN, Subramaniam, 2012. Proximity-dependent inhibition of growth of *Mannheimia haemolytica* by *Pasteurella multocida*. *Applied and Environmental Microbiology*. septembre 2012. Vol. 78, no. 18, p. 6683-6688. DOI 10.1128/AEM.01119-12.

BEHLING-KELLY, Erica, RIVERA-RIVAS, Jose et CZUPRYNSKI, Charles J., 2016. Interactions of *Histophilus somni* with Host Cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2016. Vol. 396, p. 71-87. DOI 10.1007/82_2015_5010.

BENNETT, Simon, 2004. Solexa Ltd. *Pharmacogenomics*. juin 2004. Vol. 5, no. 4, p. 433-438. DOI 10.1517/14622416.5.4.433.

BLOMSTRÖM, Anne-Lie, WIDÉN, Frederik, HAMMER, Anne-Sofie, BELÁK, Sándor et BERG, Mikael, 2010. Detection of a Novel Astrovirus in Brain Tissue of Mink Suffering from Shaking Mink Syndrome by Use of Viral Metagenomics. *Journal of Clinical Microbiology*. décembre 2010. Vol. 48, no. 12, p. 4392-4396. DOI 10.1128/JCM.01040-10.

BOILEAU, Mélanie et KAPIL, Sanjay, 2010. Bovine Coronavirus Associated Syndromes. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1 mars 2010. Vol. 26, no. 1, p. 123-146. DOI 10.1016/j.cvfa.2009.10.003.

BRIDGER, J. C., HALL, G. A. et BROWN, J. F., 1984. Characterization of a calici-like virus (Newbury agent) found in association with astrovirus in bovine diarrhea. *Infection and Immunity*. janvier 1984. Vol. 43, no. 1, p. 133-138. DOI 10.1128/iai.43.1.133-138.1984.

CHASE, Christopher C. L., HURLEY, David J. et REBER, Adrian J., 2008. Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. mars 2008. Vol. 24, no. 1, p. 87-104. DOI 10.1016/j.cvfa.2007.11.001.

CONFER, Anthony W. et AYALEW, Sahlu, 2018. Mannheimia haemolytica in bovine respiratory disease: immunogens, potential immunogens, and vaccines. *Animal Health Research Reviews*. 2018. Vol. 19, no. 2, p. 79-99. DOI 10.1017/S1466252318000142.

CORBEIL, L B, WOODWARD, W, WARD, A C, MICKELSEN, W D et PAISLEY, L, 1985. Bacterial interactions in bovine respiratory and reproductive infections. *Journal of Clinical Microbiology*. mai 1985. Vol. 21, no. 5, p. 803-807.

DABO, S. M., TAYLOR, J. D. et CONFER, A. W., 2007. Pasteurella multocida and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*. décembre 2007. Vol. 8, no. 2, p. 129-150. DOI 10.1017/S1466252307001399.

DE BENEDICTIS, Paola, SCHULTZ-CHERRY, Stacey, BURNHAM, Andrew et CATTOLI, Giovanni, 2011. Astrovirus infections in humans and animals - molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*. octobre 2011. Vol. 11, no. 7, p. 1529-1544. DOI 10.1016/j.meegid.2011.07.024.

DUCATEZ, Mariette F., PELLETIER, Claire et MEYER, Gilles, 2015. Influenza D Virus in Cattle, France, 2011–2014. *Emerging Infectious Diseases* [en ligne]. février 2015. Vol. 21, no. 2. [Consulté le 14 septembre 2021]. DOI 10.3201/eid2102.141449.

DUCHEMIN, Amandine, 2020. *Les astrovirus chez les bovins: détection et caractérisation d'isolats respiratoires lors de bronchopneumonies infectieuses*. 2020.

ELLIS, John A., 2009. Update on viral pathogenesis in BRD. *Animal Health Research Reviews*. décembre 2009. Vol. 10, no. 2, p. 149-153. DOI 10.1017/S146625230999020X.

ELLIS, John A., 2010. Bovine parainfluenza-3 virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. novembre 2010. Vol. 26, no. 3, p. 575-593. DOI 10.1016/j.cvfa.2010.08.002.

ESCOBAR-ZEPEDA, Alejandra, VERA-PONCE DE LEÓN, Arturo et SANCHEZ-FLORES, Alejandro, 2015. The Road to Metagenomics: From Microbiology to DNA Sequencing Technologies and Bioinformatics. *Frontiers in Genetics*. 17 décembre 2015. Vol. 6. DOI 10.3389/fgene.2015.00348.

ESPINASSE, J, LEVRIER, B, ALZIEU, J.P, PAPAGEORGIOU, C, BEGUIN, J.C et VAN GOOL, F, 1988. Bronchopneumonies infectieuses enzootiques (BPIE) des veaux d'élevage. Rôle des

pasteurelles et de *Mycoplasma bovis* dans la maladie naturelle. *Bull. Acad. Vét de France*. 1988. No. 61, p. 319-326.

FRANCOZ, David et COUTURE, Yvon, 2014. *Manuel de médecine des bovins*. Paris: Editions Med'com. ISBN 978-2-35403-186-2.

FRANCOZ, David et NICHOLS, Sylvain, 2017. *Guide pratique des maladies du veau*. ISBN 978-2-35403-243-2.

GADANHO, Marion, 2020. *Étude de la variabilité génétique des coronavirus respiratoires et digestifs en élevages bovins*. 2020.

GAGEA, Mihai I., BATEMAN, Kenneth G., VAN DREUMEL, Tony, MCEWEN, Beverly J., CARMAN, Susy, ARCHAMBAULT, Marie, SHANAHAN, Rachel A. et CASWELL, Jeff L., 2006. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* janvier 2006. Vol. 18, no. 1, p. 18-28. DOI 10.1177/104063870601800104.

GALLO, Richard L., 2015. S. epidermidis Influence on Host Immunity: More Than Skin Deep. *Cell Host & Microbe*. 11 février 2015. Vol. 17, no. 2, p. 143-144. DOI 10.1016/j.chom.2015.01.012.

GRELL, Susanne N., RIBER, Ulla, TJORNEHOJ, Kristen, LARSEN, Lars E. et HEEGAARD, Peter M.H., 2005. Age-dependent differences in cytokine and antibody responses after experimental RSV infection in a bovine model. *Vaccine*. 16 mai 2005. Vol. 23, no. 26, p. 3412-3423. DOI 10.1016/j.vaccine.2005.01.094.

HÄRTEL, H, NIKUNEN, S, NEUVONEN, E, TANSKANEN, R, KIVELÄ, S-L, AHO, P, SOVERI, T et SALONIEMI, H, 2004. Viral and Bacterial Pathogens in Bovine Respiratory Disease in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*. décembre 2004. Vol. 45, no. 4, p. 193-200. DOI 10.1186/1751-0147-45-193.

HERMEYER, Kathrin, BUCHENAU, Inka, THOMASMEYER, Anne, BAUM, Berit, SPERGSER, Joachim, ROSENGARTEN, Renate et HEWICKER-TRAUTWEIN, Marion, 2012. Chronic pneumonia in calves after experimental infection with *Mycoplasma bovis* strain 1067: Characterization of lung pathology, persistence of variable surface protein antigens and local immune response. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 4 février 2012. Vol. 54, no. 1, p. 9. DOI 10.1186/1751-0147-54-9.

HOLMAN, Devin B., MCALLISTER, Tim A., TOPP, Edward, WRIGHT, André-Denis G. et ALEXANDER, Trevor W., 2015. The nasopharyngeal microbiota of feedlot cattle that develop bovine respiratory disease. *Veterinary Microbiology*. 22 octobre 2015. Vol. 180, no. 1-2, p. 90-95. DOI 10.1016/j.vetmic.2015.07.031.

LI, Linlin, DIAB, Santiago, MCGRAW, Sabrina, BARR, Bradd, TRASLAVINA, Ryan, HIGGINS, Robert, TALBOT, Tom, BLANCHARD, Pat, RIMOLDI, Guillermo, FAHSBENDER, Elizabeth, PAGE, Brady, PHAN, Tung Gia, WANG, Chunlin, DENG, Xutao, PESAVENTO, Patricia et DELWART,

Eric, 2013. Divergent Astrovirus Associated with Neurologic Disease in Cattle - Volume 19, Number 9—September 2013 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. . septembre 2013. Vol. 19, no. 9, p. 1385-1392. DOI 10.3201/eid1909.130682.

LIN, Hc, KAO, Cl, CHANG, Ly, HSIEH, Yc, SHAO, Pl, LEE, Pi, LU, Cy, LEE, Cy et HUANG, Lm, 2008. Astrovirus gastroenteritis in children in Taipei. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* [en ligne]. avril 2008. Vol. 107, no. 4.

MADELEY, C.R. et COSGROVE, B.P., 1975. VIRUSES IN INFANTILE GASTROENTERITIS. *The Lancet*. juillet 1975. Vol. 306, no. 7925, p. 124. DOI 10.1016/S0140-6736(75)90020-3.

MAHMOOD, F, KHAN, A, HUSSAIN, R, KHAN, Ia, ABBAS, Rz, ALI, Hm et YOUNUS, M, 2017. Patho-bacteriological investigation of an outbreak of Mycoplasma bovis infection in calves - Emerging stealth assault. *Microbial pathogenesis* [en ligne]. juin 2017.

MARGULIES, Marcel, EGHOLM, Michael, ALTMAN, William E., ATTIYA, Said, BADER, Joel S., BEMBEN, Lisa A., BERKA, Jan, BRAVERMAN, Michael S., CHEN, Yi-Ju, CHEN, Zhoutao, DEWELL, Scott B., DU, Lei, FIERRO, Joseph M., GOMES, Xavier V., GOODWIN, Brian C., HE, Wen, HELGESEN, Scott, HO, Chun He, IRZYK, Gerard P., JANDO, Szilveszter C., ALENQUER, Maria L.I., JARVIE, Thomas P., JIRAGE, Kshama B., KIM, Jong-Bum, KNIGHT, James R., LANZA, Janna R., LEAMON, John H., LEFKOWITZ, Steven M., LEI, Ming, LI, Jing, LOHMAN, Kenton L., LU, Hong, MAKHIJANI, Vinod B., MCDADE, Keith E., MCKENNA, Michael P., MYERS, Eugene W., NICKERSON, Elizabeth, NOBILE, John R., PLANT, Ramona, PUC, Bernard P., RONAN, Michael T., ROTH, George T., SARKIS, Gary J., SIMONS, Jan Fredrik, SIMPSON, John W., SRINIVASAN, Maithreyan, TARTARO, Karrie R., TOMASZ, Alexander, VOGT, Kari A., VOLKMER, Greg A., WANG, Shally H., WANG, Yong, WEINER, Michael P., YU, Pengguang, BEGLEY, Richard F. et ROTHBERG, Jonathan M., 2005. Genome Sequencing in Open Microfabricated High Density Picoliter Reactors. *Nature*. 15 septembre 2005. Vol. 437, no. 7057, p. 376-380. DOI 10.1038/nature03959.

MCMULLEN, Christopher, ALEXANDER, Trevor W., LÉGUILLETTE, Renaud, WORKENTINE, Matthew et TIMSIT, Edouard, 2020. Topography of the respiratory tract bacterial microbiota in cattle. *Microbiome*. 10 2020. Vol. 8, no. 1, p. 91. DOI 10.1186/s40168-020-00869-y.

NG, Tf, KONDOV, No, DENG, X, VAN EENENNAAM, A, NEIBERGS, HI et DELWART, E, 2015. A metagenomics and case-control study to identify viruses associated with bovine respiratory disease. *Journal of Virology*. 4 mars 2015. Vol. 89, no. 10, p. 5340-5349. DOI 10.1128/jvi.00064-15.

OLIVA, Justine, EICHENBAUM, Amit, BELIN, Jade, GAUDINO, Maria, GUILLOTIN, Jean, ALZIEU, Jean-Pierre, NICOLLET, Philippe, BRUGIDOU, Roland, GUENEAU, Eric, MICHEL, Evelyne, MEYER, Gilles et DUCATEZ, Mariette F., 2019. Serological Evidence of Influenza D Virus Circulation Among Cattle and Small Ruminants in France. *Viruses*. 5 juin 2019. Vol. 11, no. 6, p. 516. DOI 10.3390/v11060516.

OMA, Veslemøy Sunniva, TRÅVÉN, Madeleine, ALENIUS, Stefan, MYRMEL, Mette et STOKSTAD, Maria, 2016. Bovine coronavirus in naturally and experimentally exposed calves;

viral shedding and the potential for transmission. *Virology Journal*. 2016. Vol. 13. [Consulté le 22 août 2021]. DOI 10.1186/s12985-016-0555-x.

PADMANABHAN, A et HAUSE, Bm, 2016. Detection and characterization of a novel genotype of porcine astrovirus 4 from nasal swabs from pigs with acute respiratory disease. *Archives of virology* [en ligne]. septembre 2016. Vol. 161, no. 9. [Consulté le 4 octobre 2021]. DOI 10.1007/s00705-016-2937-1.

PARDON, Bart et BUCZINSKI, Sébastien, 2020. Bovine Respiratory Disease Diagnosis: What Progress Has Been Made in Infectious Diagnosis? *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. juillet 2020. Vol. 36, no. 2, p. 425-444. DOI 10.1016/j.cvfa.2020.03.005.

PARK, S. J., KIM, G. Y., CHOY, H. E., HONG, Y. J., SAIF, L. J., JEONG, J. H., PARK, S. I., KIM, H. H., KIM, S. K., SHIN, S. S., KANG, M. I. et CHO, K. O., 2007. Dual enteric and respiratory tropisms of winter dysentery bovine coronavirus in calves. *Archives of Virology*. 2007. Vol. 152, no. 10, p. 1885-1900. DOI 10.1007/s00705-007-1005-2.

QUAN, Phenix Lan, WAGNER, Thor A., BRIESE, Thomas, TORGERSON, Troy R., HORNIG, Mady, TASHMUKHAMEDOVA, Alla, FIRTH, Cadhla, PALACIOS, Gustavo, BAISRE-DE-LEON, Ada, PADDOCK, Christopher D., HUTCHISON, Stephen K., EGHOLM, Michael, ZAKI, Sherif R., GOLDMAN, James E., OCHS, Hans D. et LIPKIN, W. Ian, 2010. Astrovirus encephalitis in boy with X-linked agammaglobulinemia. *Emerging Infectious Diseases*. juin 2010. Vol. 16, no. 6, p. 918-925. DOI 10.3201/eid1606.091536.

RICE, J. A., CARRASCO-MEDINA, L., HODGINS, D. C. et SHEWEN, P. E., 2007. Mannheimia haemolytica and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*. décembre 2007. Vol. 8, no. 2, p. 117-128. DOI 10.1017/S1466252307001375.

RISALDE, M. A., MOLINA, V., SÁNCHEZ-CORDÓN, P. J., ROMERO-PALOMO, F., PEDRERA, M. et GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C., 2015. Effects of Preinfection With Bovine Viral Diarrhea Virus on Immune Cells From the Lungs of Calves Inoculated With Bovine Herpesvirus 1.1. *Veterinary Pathology*. 1 juillet 2015. Vol. 52, no. 4, p. 644-653. DOI 10.1177/0300985814551579.

ROTHBERG, Jonathan M., HINZ, Wolfgang, REARICK, Todd M., SCHULTZ, Jonathan, MILESKI, William, DAVEY, Mel, LEAMON, John H., JOHNSON, Kim, MILGREW, Mark J., EDWARDS, Matthew, HOON, Jeremy, SIMONS, Jan F., MARRAN, David, MYERS, Jason W., DAVIDSON, John F., BRANTING, Annika, NOBILE, John R., PUC, Bernard P., LIGHT, David, CLARK, Travis A., HUBER, Martin, BRANCIFORTE, Jeffrey T., STONER, Isaac B., CAWLEY, Simon E., LYONS, Michael, FU, Yutao, HOMER, Nils, SEDOVA, Marina, MIAO, Xin, REED, Brian, SABINA, Jeffrey, FEIERSTEIN, Erika, SCHORN, Michelle, ALANJARY, Mohammad, DIMALANTA, Eileen, DRESSMAN, Devin, KASINSKAS, Rachel, SOKOLSKY, Tanya, FIDANZA, Jacqueline A., NAMSARAEV, Eugeni, MCKERNAN, Kevin J., WILLIAMS, Alan, ROTH, G. Thomas et BUSTILLO, James, 2011. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*. 20 juillet 2011. Vol. 475, no. 7356, p. 348-352. DOI 10.1038/nature10242.

SACCO, R. E., MCGILL, J. L., PILLATZKI, A. E., PALMER, M. V. et ACKERMANN, M. R., 2014. Respiratory Syncytial Virus Infection in Cattle. [en ligne]. 2014. [Consulté le 18 août 2021].

SAIF, Linda J., 2010. Bovine Respiratory Coronavirus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. juillet 2010. Vol. 26, no. 2, p. 349-364. DOI 10.1016/j.cvfa.2010.04.005.

SALEM, Elias, HÄGGLUND, Sara, CASSARD, Hervé, CORRE, Tifenn, NÄSLUND, Katarina, FORET, Charlotte, GAUTHIER, David, PINARD, Anne, DELVERDIER, Maxence, ZOHARI, Siamak, VALARCHER, Jean-François, DUCATEZ, Mariette et MEYER, Gilles, 2019. Pathogenesis, Host Innate Immune Response, and Aerosol Transmission of Influenza D Virus in Cattle. SCHULTZ-CHERRY, Stacey (éd.), *Journal of Virology*. avril 2019. Vol. 93, no. 7.

SALEM, Elias, 2018. Bronchopneumonies infectieuses des jeunes bovins: de la complexité du microbiome aux particularités évolutives et cliniques de virus respiratoires encore méconnus. . 2018.

SHAUKAT, Shahzad, ANGEZ, Mehar, ALAM, Muhammad Masroor, JEBBINK, Maarten F, DEIJS, Martin, CANUTI, Marta, SHARIF, Salmaan, DE VRIES, Michel, KHURSHID, Adnan, MAHMOOD, Tariq, VAN DER HOEK, Lia et ZAIDI, Syed Sohail Zahoor, 2014. Identification and characterization of unrecognized viruses in stool samples of non-polio acute flaccid paralysis children by simplified VIDISCA. *Virology Journal* [en ligne]. 12 août 2014. Vol. 11. DOI 10.1186/1743-422X-11-146.

SINGH, K., RITCHEY, J. W. et CONFER, A. W., 2011. Mannheimia haemolytica: bacterial-host interactions in bovine pneumonia. *Veterinary Pathology*. mars 2011. Vol. 48, no. 2, p. 338-348. DOI 10.1177/0300985810377182.

SRIKUMARAN, Subramaniam, KELLING, Clayton L. et AMBAGALA, Aruna, 2007. Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal Health Research Reviews*. décembre 2007. Vol. 8, no. 2, p. 215-229. DOI 10.1017/S1466252307001326.

SUDARYATMA, Putu Eka, NAKAMURA, Kimika, MEKATA, Hirohisa, SEKIGUCHI, Satoshi, KUBO, Meiko, KOBAYASHI, Ikuo, SUBANGKIT, Mawar, GOTO, Yoshitaka et OKABAYASHI, Tamaki, 2018. Bovine respiratory syncytial virus infection enhances Pasteurella multocida adherence on respiratory epithelial cells. *Veterinary Microbiology*. juillet 2018. Vol. 220, p. 33-38. DOI 10.1016/j.vetmic.2018.04.031.

TESSIER, V, ROY, O, AUDEVAL, C et RIDREMONT, B, 2013. Maladies respiratoires des veaux non sevrés. Prévalence des agents pathogènes selon l'âge des veaux et comparaison de deux types de prélèvements. *Journée Natl des GTV*. 2013. No. 831, p. 6.

THOMAS, A, MAINIL, J et LINDEN, A, 2003. Mycoplasma bovis: synthèse des connaissances actuelles. *Ann. Méd. Vét.* 2003. p. 23-39.

TIMSIT, Edouard, MCMULLEN, Chris, AMAT, Samat et ALEXANDER, Trevor W., 2020. Respiratory Bacterial Microbiota in Cattle: From Development to Modulation to Enhance

Respiratory Health. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. juillet 2020. Vol. 36, no. 2, p. 297-320. DOI 10.1016/j.cvfa.2020.03.001.

TSE, Herman, CHAN, Wan-Mui, TSOI, Hoi-Wah, FAN, Rachel Y. Y., LAU, Candy C. Y., LAU, Susanna K. P., WOO, Patrick C. Y. et YUEN, Kwok-Yung, 2011. Rediscovery and genomic characterization of bovine astroviruses. *Journal of General Virology*. 1 août 2011. Vol. 92, no. 8, p. 1888-1898. DOI 10.1099/vir.0.030817-0.

VEIT, H. P. et FARRELL, R. L., 1978. The anatomy and physiology of the bovine respiratory system relating to pulmonary disease. *The Cornell Veterinarian*. octobre 1978. Vol. 68, no. 4, p. 555-581.

WANG, Leyi, SHEN, Huigang, ZHENG, Ying, SCHUMACHER, Loni et LI, Ganwu, 2018. Astrovirus in White-Tailed Deer, United States, 2018 - Volume 26, Number 2—February 2020 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. *Emerging Infectious Diseases journal*. 2018. [Consulté le 30 septembre 2021]. DOI 10.3201/eid2602.190878.

WELP, Allison L. et BOMBERGER, Jennifer M., 2020. Bacterial Community Interactions During Chronic Respiratory Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 14 mai 2020. Vol. 10. DOI 10.3389/fcimb.2020.00213.

WHITELEY, Andrew S., JENKINS, Sasha, WAITE, Ian, KRESOJE, Nina, PAYNE, Hugh, MULLAN, Bruce, ALLCOCK, Richard et O'DONNELL, Anthony, 2012. Microbial 16S rRNA Ion Tag and community metagenome sequencing using the Ion Torrent (PGM) Platform. *Journal of Microbiological Methods*. octobre 2012. Vol. 91, no. 1, p. 80-88. DOI 10.1016/j.mimet.2012.07.008.

WOODE, G. N. et BRIDGER, J. C., 1978. Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. *Journal of Medical Microbiology*. novembre 1978. Vol. 11, no. 4, p. 441-452. DOI 10.1099/00222615-11-4-441.

WOODE, G. N., POHLENZ, J. F., GOURLEY, N. E. et FAGERLAND, J. A., 1984. Astrovirus and Breda virus infections of dome cell epithelium of bovine ileum. *Journal of Clinical Microbiology*. mai 1984. Vol. 19, no. 5, p. 623-630. DOI 10.1128/jcm.19.5.623-630.1984.

WUNDERLI, Werner, MEERBACH, Astrid, GUENGOER, Tayfun, BERGER, Christoph, GREINER, Oliver, CADUFF, Rosmarie, TRKOLA, Alexandra, BOSSART, Walter, GERLACH, Daniel, SCHIBLER, Manuel, CORDEY, Samuel, MCKEE, Thomas Alexander, BELLE, Sandra Van, KAISER, Laurent et TAPPAREL, Caroline, 2011. Astrovirus Infection in Hospitalized Infants with Severe Combined Immunodeficiency after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *PLOS ONE*. 11 novembre 2011. Vol. 6, no. 11, p. e27483. DOI 10.1371/journal.pone.0027483.

YATES, W D, 1982. A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Canadian journal of comparative medicine*. 1 juillet 1982. Vol. 46, no. 3, p. 225-263.

ZAID, Zouagui et AIT LBACHA, Hicham, 2019. Les bronchopneumonies infectieuses enzootiques (BPIE) des bovins : Approche curative et préventive. 20 mars 2019.

ZHANG, Maodong, HILL, Janet E., GODSON, Dale L., NGELEKA, Musangu, FERNANDO, Champika et HUANG, Yanyun, 2020. The pulmonary virome, bacteriological and histopathological findings in bovine respiratory disease from western Canada. *Transboundary and Emerging Diseases*. mars 2020. Vol.67, no.2, p.924-934. DOI 10.1111/tbed.13419.

NOM: MÉCHIN

PRÉNOM: COLINE

TITRE : PREVALENCE ET ROLE PATHOGENE DES ASTROVIRUS DANS LES BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES CHEZ LE VEAU.

Résumé

Les bronchopneumonies infectieuses (BPI) sont des pathologies multifactorielles chez le veau et représentent un enjeu sanitaire et économique important. Cette étude a pour but d'évaluer la prévalence des principaux virus impliqués dans le développement de BPI chez le veau et notamment la prévalence et l'implication d'un virus récemment identifié au niveau pulmonaire chez le veau : l'astrovirus bovin (BAstrV). Ainsi, 52 veaux de différentes races, provenant de 9 élevages de la région Bretagne, ont été prélevés par lavage broncho-alvéolaire, écouvillonnage nasal et rectal. Chaque animal a été examiné cliniquement afin d'établir un score clinique. Les différents prélèvements ont ensuite été analysés par PCR. Nous avons ainsi mis en évidence que le BAstrV était le deuxième pathogène le plus présent dans les voies aériennes profondes aussi bien chez les animaux malades que non malades, avec cependant une prévalence plus importante chez les animaux malades. Notre étude suggère également que l'association du BAstrV avec d'autres pathogènes comme *P. multocida* ou *H. somni* entraîne des signes cliniques plus importants qu'une infection isolée par un de ces pathogènes.

MOTS-CLÉS : BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES, ASTROVIRUS, BOVIN

.....

TITLE : PREVALENCE AND PATHOGENIC ROLE OF ASTROVIRUSES IN BOVINE RESPIRATORY DISEASE IN CALVES

Abstract

Bovine respiratory disease (BRD) in calves is a multifactorial disease and represents an important health and economic issue. The aim of this study was to assess the prevalence of the main viruses involved in the development of BRD in calves, and in particular the prevalence and involvement of a recently identified virus in the lungs of calves: bovine astrovirus (BAstrV). Thus, 52 calves of different breeds from 9 farms in the Bretagne region (France) were sampled by bronchoalveolar lavage, nasal and rectal swabbing. Each animal was clinically examined in order to establish a clinical score. The various samples were then analysed by PCR. We found that BAstrV was the second most prevalent pathogen in the deep airways in both sick and non-diseased animals with a higher prevalence in sick animals. Our study also suggests that the association of BAstrV with other pathogens such as *P. multocida* or *H. somni* leads to increased clinical signs than an isolated infection by one of these pathogens.

KEY WORDS: BOVINE RESPIRATORY DISEASE, ASTROVIRUSES, BOVINE