



HAL
open science

Vaccination contre les entérites néonatales : effet de la supplémentation oligo-minérale par voie injectable sur la réponse vaccinale

Annaëlle Pichon

► **To cite this version:**

Annaëlle Pichon. Vaccination contre les entérites néonatales : effet de la supplémentation oligo-minérale par voie injectable sur la réponse vaccinale. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-04021054

HAL Id: dumas-04021054

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04021054v1>

Submitted on 9 Mar 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.

VACCINATION CONTRE LES ENTERITES NEONATALES : EFFET DE LA SUPPLEMENTATION OLIGO-MINERALE PAR VOIE INJECTABLE SUR LA REPONSE VACCINALE

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

**PICHON Annaëlle, Sandrine,
Marie**

Directeur de thèse : M. Gilles FOUCRAS

JURY

PRESIDENT :
M. Renaud MAILLARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :
M. Gilles FOUCRAS
M. Romain VOLMER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur 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**, *Zootéchnie*
- 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*

A Monsieur le Professeur Renaud Maillard

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des ruminants

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Hommages respectueux

A Monsieur le Professeur Gilles Foucras

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie des ruminants

Pour m'avoir proposé ce sujet de thèse et guidée dans son élaboration.

Pour ses conseils, sa patience, et la confiance accordée.

Mes sincères remerciements

A Monsieur le Docteur Romain Volmer

Maître de Conférences en Microbiologie et Infectiologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Microbiologie et infectiologie

Qui nous fait l'honneur de participer à ce jury de thèse.

Mes plus sincères remerciements

A Javier Heras Sanchez, merci de nous avoir aidées dans toutes les expérimentations de ce projet. Merci également pour la découverte de l'élevage en Espagne.

A Guillaume Tabouret, pour avoir réalisé l'ensemble des analyses statistiques, sincères remerciements.

A Christian Tasca, pour nous avoir accompagnées jusqu'en Espagne et sa patience lors du conditionnement des échantillons.

A Blandine Gausserès, pour l'analyse de la totalité de nos échantillons, merci.

A Sébastien Geollot et Thibault Devambe, pour l'aide à la mise en place de ce projet, sincères remerciements.

A Bérénice, pour ta patience, ton soutien tout au long de ce travail, pour être la seule qui sait parler espagnol et pour cette jolie semaine à regarder naître des petits veaux.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS	9
TABLE DES TABLEAUX	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	13
I. PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	15
1) Les entérites néonatales	15
a. Description clinique et étiologique	15
i. Signes cliniques	15
ii. Agents impliqués.....	19
b. Moyens de prévention	24
i. Environnement et conduite d'élevage.....	24
ii. Immunité colostrale et vaccination	29
2) Immunité du jeune	33
a. Rappels des mécanismes immunitaires généraux.....	33
b. Colostrogenèse et immunité cellulaire du veau	39
i. Barrière placentaire et statut immunitaire du veau à la naissance	39
ii. Mécanismes du transfert de l'immunité	41
c. Vaccination contre les entérites	44
i. Différents types de vaccins	44
ii. Types et rôles des adjuvants	46
iii. Efficacité de la vaccination contre les entérites néonatales	48
3) Facteurs de variation de la réponse vaccinale chez les bovins	50
a. Facteurs démontrés : parasitisme, vitamines, oligo-éléments, conduite d'élevage	50
b. Conséquences du déficit en oligo-éléments sur la santé des bovins.....	55
c. Effet de la complémentation sur la réponse immunitaire et vaccinale	60
II. PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE	66
1) Contexte et motivation de l'étude	66
2) Matériels et méthodes	67
a. Animaux.....	67
b. Description des vaccins.....	68
c. Complémentation oligo-minérale	69
d. Echantillons.....	70
i. Nature des échantillons	70
ii. Conservation et transport	72
iii. Préparation et conditionnement.....	73
e. Méthode d'analyse	73
f. Analyse statistique des données	75
3) Résultats	75
a. Statut sérologique au moment du recrutement.....	75

b. Réponse anticorps à la vaccination.....	81
c. Mise en évidence de la réponse cellulaire vis-à-vis des virus.....	82
d. Qualité des réponses cellulaires et humorales en fonction de la supplémentation.....	84
e. Statut des veaux et transfert de l'immunité cellulaire	86
PARTIE 3 : DISCUSSION	88
CONCLUSION	93
BIBLIOGRAPHIE	95

Table des illustrations

Figure 1: Représentation schématique d'une immunoglobuline, d'après H. Daniels.....	36
Figure 2: Schéma bilan de la réponse immunitaire adaptative	39
Figure 3: Représentation de la période critique ("creux immunitaire")	43
Figure 4: Comparaison de l'activité des interleukines-2 chez les veaux sous-nourris (PEM) et le groupe contrôle (Griebel, 1987)	51
Figure 5 : Réponse anticorps des groupes 1 (malnutri), 2 (équilibré) et 3 (en excès) suite à l'injection d'érythrocytes de poulet au jour 88 (Fiske and Adams, 1985)	52
Figure 6: Principales causes d'échec vaccinal contre les ENN selon les vétérinaires, d'après Fontaine, 2018.....	54
Figure 7: Concentrations en Cu, Mn, Zn et Se dans le foie aux jours 7, 21 et 56 (Palomares et al, 2016)	62
Figure 8: Proportion de séroconversion en anticorps anti-BVDV 28 jours après la vaccination (Palomares et al, 2016)	63
Figure 9: Prolifération cellulaire en réponse à une stimulation au BVDV (Palomares et al, 2016)	63
Figure 10: Statut sérologique des veaux contre le rotavirus en fonction de l'indice de stress oxydatif de leur mère (Geollot and al, 2022)	65
Figure 11: schéma explicatif de la technologie Luminex xMAP (d'après PennState)	74
Figure 12: Analyse statistique des résultats de la sérologie E. coli F5	76
Figure 13: Analyse statistique des résultats de la sérologie BRV.....	76
Figure 14: Analyse statistique des résultats de la sérologie BCoV.....	77
Figure 15: Réponse cellulaire des vaches avant vaccination, en fonction des ligands	78
Figure 15: Réponse cellulaire des vaches avant vaccination, en fonction des ligands	79
Figure 16: Réponse cellulaire des groupes avant vaccination	80
Figure 17: Réponse humorale à J0 et J28 évaluée en fonction des 4 groupes de vaches	81
Figure 18: Réponse de l'IFN γ aux différents ligands en fonction de la vaccination aux temps 0 et 28	83
Figure 19: Réponse cellulaire des groupes en fonction du ligand CoronaV	83
Figure 20: Réponse cellulaire des groupes en fonction du ligand RotaV.....	84
Figure 21: Analyse différentielle de la réponse vis-à-vis de 4 cytokines de chaque groupe, pour le ligand CoronaV	85
Figure 22: Analyse différentielle de la réponse vis-à-vis de 4 cytokines de chaque groupe, pour le ligand RotaV	85
Figure 23: Comparaison de la réponse cellulaire des veaux et de leur mère pour deux cytokines, 24h après la naissance.....	86

Table des tableaux

Tableau 1 : Estimation du pourcentage de déshydratation en fonction des signes cliniques:	16
Tableau 2 : Évaluation de l'acidose en fonction des signes cliniques	17
Tableau 3 : Toxines produites par les différents types de Clostridies	23
Tableau 4 : Capacité de survie des agents pathogènes dans la litière, d'après Gartoux, 2019	26
Tableau 5 : Facteurs de risques de diarrhées liés au bâtiment, chez les veaux allaitants, adapté de Bendali et al.....	27
Tableau 6 : Composition du colostrum par rapport au lait maternel (Belbis and Plassard, 2019).....	28
Tableau 7 : Composition en immunoglobulines du colostrum par rapport au lait maternel (Belbis and Plassard, 2019)	29
Tableau 8 : Valences des vaccins commercialisés contre les entérites néonatales	32
Tableau 9 : Fonctions effectrices des immunoglobulines.....	37
Tableau 10 : Recommandations d'apports en oligo-éléments (en ppm) pour les bovins, selon INRA 2007.....	55
Tableau 11 : Caractéristiques des vaccins utilisés dans l'étude.....	69
Tableau 12 : Composition d'un mL de MULTIMIN™	70
Tableau 13 : Posologie du MULTIMIN™ selon l'âge du bovin traité	70
Tableau 14 : Ensemble des échantillons sanguins prélevés lors de l'étude	71
Tableau 15 : Conditionnement des échantillons sanguins de l'étude	73
Tableau 16 : Intensité de la sécrétion de cytokines en fonction du ligand utilisé.....	78

Liste des abréviations

ADCC : Antibody Dependant Cell Cytotoxicity
ADN : Acide désoxyribonucléique
ACF : Adjuvant complet de Freund
AIF : Adjuvant incomplet de Freund
ARN : Acide ribonucléique
BCoV : Coronavirus bovin
BoHV-1 : Herpès virus bovin de type 1
BRV : Rotavirus bovin
BRSV : Virus respiratoire syncytial bovin
BS : BOVIGEN SCOUR®
BVDV : Virus de la diarrhée virale bovins
Cl⁻ : Ion chlorure
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CO₂ : Dioxyde de carbone
Cu : Cuivre
EAEC : *Escherichia coli* entéroagressives
EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragiques
EIEC : *Escherichia coli* entéroinvasives
ENN : Entérites néonatales
EOA : Espèces oxygénées activées
EPEC : *Escherichia coli* entéropathogènes
ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogènes
GTV : Groupement technique vétérinaire
H⁺ : Ion hydrogène
HE : Hémagglutinine-estérase
HCO₃⁻ : Ion bicarbonate
IFN-γ : Interféron γ
Ig : Immunoglobuline
IPI : Infecté permanent immunotolérant
K⁺ : Ion potassium
LB : Lymphocyte B
LT : Lymphocyte T
MN : MULTIMIN™
Mn : Manganèse
MS : Matière sèche
Na⁺ : Ion sodium
NK : Natural Killer
O₂ : Dioxygène
PAMPs : Pathogen Associated Molecular Pattern
PGE₂ : Prostaglandine E₂
PGI₂ : Prostacycline
pH : Potentiel hydrogène
PRR : Pattern Recognition Receptors
RC : BOVILIS ROTAVEC CORONA®
RCP : Résumé des caractéristiques du produit
S : protéine Spike
SARS- CoV2 : Virus de la maladie à Coronavirus 2019
Se : Sélénium
SIMV : Syndicat de l'industrie du médicament et réactif vétérinaire
SOD : Enzyme superoxyde dismutase
STEC : *Escherichia coli* productrices de shigatoxines
TCM : Lymphocyte T cytotoxique mémoire centraux
TEM : Lymphocyte T cytotoxique mémoire effecteurs
TNFα : Facteur de nécrose tumorale α
TIP : Transfert de l'immunité passive
TRH : Thyrotrophin-releasing hormone
TSH : Thyroid stimulation hormone
T3 : Triiodothyronine
T4 : Thyroxine
Zn : Zinc

Introduction

Les entérites néonatales désignent un ensemble de maladies concernant les veaux nouveau-nés, entre 0 et 30 jours d'âge, caractérisées par une émission de selles plus fréquente, en plus grand volume que d'ordinaire, et de consistance diminuée. Elles sont extrêmement courantes en élevage, représentant entre 53,4 et 57% de la mortalité totale constatée jusqu'au sevrage (Cho and Yoon, 2014). Elles sont aujourd'hui la première cause de mortalité des veaux, autant en élevage laitier qu'allaitant. Les entérites néonatales touchent en général plusieurs veaux, et leur gestion peut rapidement poser problème : augmentation du temps consacré aux soins des animaux, coûts des soins vétérinaires, isolement des animaux malades... En élevage allaitant, en particulier, la bonne santé des veaux est primordiale, puisque ces derniers représentent l'aboutissement du travail d'élevage et la première ressource financière de ce type d'atelier. L'étiologie des entérites néonatales est très variable mais conduit à des tableaux cliniques assez similaires : déshydratation, hypothermie, diminution du réflexe de succion, décubitus, hypoglycémie, acidose. La prévention passe par plusieurs axes : la bonne conduite de l'élevage, dont l'alimentation et la gestion du vêlage, et des mesures d'hygiène générale. La qualité de la prise colostrale en particulier, potentiellement accompagnée de la vaccination contre les agents impliqués dans l'apparition des troubles, représente un levier fondamental en termes de prévention des diarrhées des veaux.

La placentation des bovins est de type épithéliochorial, et empêche le passage des immunoglobulines de la mère au veau au cours de la gestation. Le colostrum, premier produit de sécrétion de la mamelle, constitue chez les bovins un moyen de transmission de facteurs de l'immunité au veau, qui participent aux défenses contre les agents pathogènes présents dans son environnement de vie. Chez le veau, et les ruminants en général, l'acquisition de l'immunité anticorps est donc entièrement dépendante de l'ingestion du colostrum. En cas de mauvais transfert de l'immunité passive (TIP), le risque de développement d'une entérite augmente considérablement. La quantité d'immunoglobulines spécifiques des entéropathogènes dans le colostrum peut être augmentée grâce à la vaccination des mères. La qualité générale du colostrum est également dépendante de l'alimentation de la vache, et notamment de son statut en oligo-éléments.

Selon le dictionnaire de langue française, les oligo-éléments sont décrits comme des éléments chimiques métalloïdes ou métalliques, présents en infime quantité dans les

organismes et nécessaires à leur métabolisme (< 100 mg/kg de Matière Sèche (MS) d'un aliment). Chez les bovins, les rôles du cuivre, du zinc, du fer, du manganèse, de l'iode, du sélénium et du cobalt ont été étudiés et sont relativement bien connus. Ils sont indispensables car ce sont des cofacteurs de nombreuses enzymes, hormones, ou vitamines, jouant un rôle clef dans le métabolisme, la croissance, ou encore le système immunitaire. Les carences oligo-minérales constituent donc un facteur limitant dans l'élevage bovin, et l'équilibre de la ration est un point clé pour l'amélioration de la production et de la santé des animaux d'élevage. L'action antioxydante des oligo-éléments comme le sélénium ou le cuivre, permettant de protéger les cellules de l'organisme de l'effet des radicaux libres, a un bénéfice particulier sur l'immunité des bovins, et l'efficacité de la réponse vaccinale.

Cette thèse étudiera donc l'intérêt de la complémentation en oligo-éléments sur la réponse immunitaire post-vaccinale chez les bovins, en s'appuyant sur le cas particulier de la vaccination contre les entérites néonatales. Des rappels cliniques et épidémiologiques à propos des entérites du veau nouveau-né seront développés en premier lieu, suivi par une description du système immunitaire et du transfert colostrale, dont le rôle est fondamental en matière d'immunité contre les infections digestives dans l'espèce bovine. Les oligo-éléments et leurs intérêts dans le cadre de la vaccination seront ensuite décrits. Une seconde partie, expérimentale, visera à démontrer, ou non, l'impact de la complémentation en oligo-éléments dans ce contexte en analysant notamment de façon innovante la réponse cellulaire chez les bovins.

I. Partie 1 : étude bibliographique

1) Les entérites néonatales

a. Description clinique et étiologique

i. *Signes cliniques*

Les signes cliniques des entérites néonatales sont largement décrits et connus. Ils peuvent cependant varier selon la cause sous-jacente, chacun des pathogènes ayant une physiopathologie différente. Malgré tout, le tableau clinique reste assez similaire : la triade diarrhée-déshydratation-abattement, ainsi que les conséquences biochimiques, telles que l'acidose métabolique et les troubles électrolytiques sont communs (Guin and Maillard, 2018). Des évolutions dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques ont eu lieu ces dernières années, avec le passage de modèles mono-mécanistiques à des formes pluri-mécanistiques. Il y a en effet plusieurs modes d'action dans le déclenchement et le maintien de la diarrhée pour un seul pathogène, et la juxtaposition de plusieurs mécanismes est courante. Ces grands mécanismes peuvent être séparés comme tel : la sécrétion liée à des entérotoxines, la sécrétion ou la malabsorption liée à l'inflammation, la malabsorption liée à l'atrophie villositaire, et les troubles de la motilité intestinale (Raboisson, 2015).

La diarrhée correspond à une augmentation du volume de la matière fécale associée à une modification de la consistance, qui devient plus liquide. L'aspect, l'odeur, le contenu peut varier selon l'étiologie. Les fèces peuvent être plus ou moins aqueuses, et contenir du mucus ou du sang. Elle peut avoir pour origine deux mécanismes : l'hypersécrétion ou la malabsorption.

La diarrhée liée à l'hypersécrétion est due à une excrétion importante d'ions chlorures, une inhibition des co-transports liés au sodium, et à une rupture des jonctions cellulaires, ce qui entraîne un appel d'eau vers la lumière intestinale.

La diarrhée de malabsorption-maldigestion est la conséquence d'une atrophie villositaire et d'une hyperplasie des cryptes intestinales, lorsqu'il y a régénération des villosités. En effet, ces dernières assurent l'absorption des nutriments et la taille de la surface d'échange. Lorsqu'elles sont absentes, la quantité de nutriments dans la lumière intestinale contribue à un appel osmotique. La sévérité des lésions intestinales ne sont cependant pas nécessairement corrélées à l'intensité de la diarrhée. Le dernier

mécanisme est la composante inflammatoire, qu'on retrouve avec quasiment tous les agents pathogènes. Les afflux de neutrophiles, et la production de PGE2 et de PGI2 en seraient les principales caractéristiques.

Ces mécanismes ont pour conséquence la déshydratation, l'acidose, et les troubles électrolytiques, concernant principalement les ions Na⁺, Cl⁻ et K⁺. Les traitements mis en place ont ensuite pour objectif de corriger ces paramètres pour leur normalisation.

La déshydratation est directement associée aux pertes liquidiennes liées à la diarrhée. Cette dernière provoque également des pertes électrolytiques, et donc une déshydratation principalement extracellulaire (Raboisson, 2015). L'évaluation clinique de la déshydratation repose en premier lieu sur l'observation de la persistance du pli de peau et l'énophtalmie. Les paramètres tels que l'examen des muqueuses, la température des extrémités, et la présence ou l'absence de reflexe de succion peuvent apporter des informations supplémentaires, bien qu'ils ne soient pas spécifiquement corrélés à l'état d'hydratation. Le **tableau 1** ci-dessous, d'après Guattéo, 2004, permet d'estimer le pourcentage de déshydratation selon les signes cliniques d'un veau.

Tableau 1 : Estimation du pourcentage de déshydratation en fonction des signes cliniques:

Pourcentage de la déshydratation	Pli de peau, retour à la normale	Globe oculaire	Cornée	Muqueuse	Réflexe de succion	Extrémités des membres	Etat général	Température rectale °C
Légère	2,5-5%	Instantané	Normal	Humide	Normal	Chaudes	Debout, légère dépression	> 38,5
Modérée	5-8%	2-4 s	Enfoncé	+/- humide	Diminuée	Froides	Appétit conservé	38,5
Sévère	8-10%	6-10 s	Très enfoncé	Sèche	Diminuée	Froides	Anorexie, dépression, décubitus sterno-abdominal	38,5
Sévère	10-12%	>20 s perte élasticité	Profondément enfoncé	Sèche	Absent	Glacées	Anorexie, dépression, décubitus latéral permanent	38
Fatale	12-15%	>20 s perte élasticité	Profondément enfoncé	Sèche	Absent	Glacées	Coma, mort	< 38

Estimer le pourcentage de déshydratation permet ensuite de calculer les besoins immédiats Q du veau en litres (L) pour adapter au mieux la prise en charge, en utilisant la formule suivante, où P est le poids du veau :

$$Q = \% \text{ déshydratation} \times P$$

La perfusion de volumes qui sont généralement grands nécessite une durée assez longue, et donc la prise en charge des pertes hydriques physiologiques (15mL/kg de poids vifs pour 6h) ainsi que celle des pertes en lien avec l'affection digestive (20mL/kg de poids vif pour 6 heures) (Chantreau, 2015), outre le fait que le veau malade sera moins prompt à s'alimenter en raison de la diminution de l'appétit.

La seconde conséquence de la diarrhée est l'acidose sanguine. Elle provient en partie de la perte de bicarbonates dans les fèces, de l'accumulation de L- et D-lactates, et de la diminution de la réabsorption rénale d'ions HCO_3^- et d'excrétion d' H^+ (Raboison, 2015). Elle peut être évaluée par la mesure des gaz sanguins (pH sanguin, pressions partielles en O_2 et CO_2 , bicarbonates sériques), mais cet examen n'est pas systématiquement réalisé. Tout comme pour la déshydratation, l'examen clinique permet d'approcher le degré d'acidose d'un veau avec de la diarrhée. Il est cependant important de noter que les veaux de moins de huit jours résistent moins bien à l'acidose, et peuvent donc exprimer des signes plus marqués pour un déficit de base moins grand qu'un veau plus âgé. L'acidose est évaluable cliniquement en observant la capacité de relever du veau, la présence du réflexe de succion, la température des extrémités, ainsi que celle de la bouche. Le **tableau 2** ci-dessous présente l'estimation de l'excès de base en fonction de ces signes.

Tableau 2 : Évaluation de l'acidose en fonction des signes cliniques

Signes cliniques	Degré d'acidose	Veau < 8 J	Veau > 8 J
		Excès de base (mmol/L)	
Debout, bon réflexe de succion	Pas d'acidose ou acidose minimale	0	-5
Debout, titube, un peu abattu, réflexe de succion lent et faible	Acidose légère	-5	-10
Décubitus sterno-abdominal, absence de réflexe de succion, extrémités froides	Acidose marquée	-10	-15
Décubitus latéral, comateux, absence de réflexe de succion, muflle et extrémités froides	Acidose sévère	-10 à -15	-20 voire -25

Les troubles électrolytiques, troisième conséquence de la diarrhée, sont provoqués par la déshydratation (fuite de Na^+ , Cl^- , K^+ et HCO_3^-) ainsi que par l'acidose. L'acidose, provoque des échanges H^+/K^+ à travers les membranes cellulaires, elle est ainsi responsable d'une hyperkaliémie. Cette hyperkaliémie étant due à la sortie du potassium à l'extérieur de la cellule, elle ne reflète pas le statut véritable de l'organisme, puisque du potassium est perdu dans la lumière digestive et la diarrhée (Raboison, 2015). L'examen cardiaque est très informatif : une bradycardie (< 90 battements par minute) associée à des troubles du rythme sont les signes d'une hyperkaliémie (Chantreau, 2015). Les déséquilibres électrolytiques peuvent bien évidemment être mis en évidence à l'aide d'un ionogramme, même s'il est rarement réalisé en pratique.

En présence de ces troubles et pour éviter la contagion aux autres veaux, l'isolement des animaux malades est recommandé. Un traitement de support est mis en place. La correction de la déshydratation par une perfusion hydrique adaptée au déficit évalué cliniquement est fondamentale. En parallèle, il est nécessaire de corriger l'acidose, ainsi que les déséquilibres électrolytiques, l'hypoglycémie tout en luttant contre l'hypothermie. Bien que la réhydratation soit réalisée par voie veineuse en première intention, il est important que l'éleveur prenne ensuite le relais par la réhydratation orale. L'alimentation lactée doit être poursuivie autant que possible, au risque de provoquer de nouveaux troubles digestifs et d'affaiblir le veau en raison du défaut d'apport énergétique. L'hospitalisation des veaux, permet une surveillance rapprochée, la perfusion possible de grands volumes et l'hébergement du veau dans des conditions thermiques favorables à son rétablissement apporte une plus-value certaine. L'antibiothérapie n'est pas toujours nécessaire, puisqu'une grande partie des agents impliqués dans les entérites néonatales sont viraux ou parasitaires. Elle peut cependant être indiquée en cas d'atteinte sévère, le veau présentant un risque augmenté de septicémie. Loin d'être systématique, elle devra être raisonnée dans tous les cas.

L'étiologie précise de la diarrhée est rarement recherchée en première intention sur des cas isolés. Bien que certains agents puissent être suspectés en fonction de la classe d'âge atteinte et des signes cliniques, il est difficile de connaître précisément le pathogène impliqué sur cette seule base. Il existe des tests rapides qui peuvent être réalisés au chevet du veau et qui permettent de connaître l'étiologie, et ainsi d'adapter au mieux le traitement, surtout lorsque la diarrhée est d'origine bactérienne ou parasitaire. Le traitement de soutien reste primordial dans tous les cas.

ii. Agents impliqués

Les entérites néonatales sont des affections polyfactorielles. En réalité, elles peuvent être provoquées par une dizaine d'agents pathogènes différents, seuls ou en association. Ces agents peuvent également se succéder chez un même jeune veau, compliquant les examens de laboratoire. Leur incidence est variable selon l'âge du veau, et le tableau clinique associé peut présenter certaines particularités en lien avec la physiopathologie inhérente à chaque agent.

Les virus et les bactéries font partie des facteurs déterminants : ils sont capables à eux seuls de provoquer des signes cliniques. Les virus investigués seront les Rotavirus, le Coronavirus, et éventuellement le virus de la BVD, mais d'autres pathogènes tels que les Torovirus, Parvovirus, Norovirus ou Calicivirus ne sont pas recherchés en routine.

Les rotavirus bovins (BRV) sont les virus à tropisme intestinal les plus fréquemment isolés (Millemann and Maillard, 2007). Appartenant à la famille des Reoviridae, il s'agit de petits virus non-enveloppés à ARN bicaténaires dont le génome est composé de onze segments codant douze protéines (16-21 kb) : six protéines structurales (VP1 à VP4, VP6 et VP7) et six protéines non structurales (NSP1 à NSP6). Il existe sept sérogroupes, allant de A à G, selon la variabilité de la protéine VP6 (Cho and Yoon, 2014). Les rotavirus de séro groupe A sont principalement retrouvés chez l'homme, tout comme chez les animaux domestiques. Les groupes C et E se retrouvent chez le porc, et le groupe D infecte les oiseaux. La grande majorité (95%) des rotavirus bovins appartiennent au groupe A, bien que les groupes B et C aient également été retrouvés (Tsunemitsu, Jiang and Saif, 1992; Ghosh et al., 2007). Les rotavirus de groupe A sont ensuite classifiés en sous-groupes P et G déterminés selon les variations, respectivement, des protéines VP4 et VP7, constituant la capsid du virion et cible de la réponse en anticorps neutralisants. Il existe seize types G et vingt-sept types P chez les animaux domestiques. Les rotavirus bovins sont de type G1, G8, G5, G6 ou G10, les deux derniers étant les plus prévalents (Martella et al., 2007). Quant à la protéine VP4, ce sont les génotypes P5 et P11 qui sont les plus fréquents (Alfieri et al., 2004). Le sérotype G6P5 de la souche UK-Compton est utilisé dans le vaccin BOVILIS ROTAVEC CORONA®, et le sérotype G6P1 de la souche TM-91 dans BOVIGEN SCOUR®. Des anticorps contre les rotavirus sont retrouvés chez plus de 90% des vaches non vaccinées, suggérant une circulation très importante du virus dans la population bovine (Foster and Smith, 2009). Ces virus sont très résistants dans

le milieu extérieur, pouvant survivre dans les fèces durant 9 mois. Pour provoquer l'apparition de symptômes, il faudrait que le rotavirus soit associé à un autre pathogène. En effet, il est retrouvé de la même manière dans les fèces d'animaux malades et sains, dans les élevages sains comme dans les élevages avec une épizootie d'entérites néonatales. Les rotavirus provoquent une diarrhée d'hypersécrétion majoritairement, chez des veaux de moins de trois semaines.

La période d'incubation est de 12 à 24 heures après contamination par la voie fécale-orale. La réplication du virus a lieu dans le cytoplasme des cellules épithéliales de l'intestin grêle, entraînant la lyse de celles-ci, et une atrophie villositaire. Les signes cliniques sont des signes généraux et non spécifiques ; et une diarrhée profuse jaune pâle, non sanguinolente. De la fièvre peut être relevée, et les veaux sont souvent dysorexiques (Gomez and Weese, 2017).

Le coronavirus bovin (BCoV) est moins fréquemment impliqué que les rotavirus, mais il est généralement responsable d'une maladie plus sévère. Il provoque en effet un syndrome de malabsorption-maldigestion, suite à des lésions de l'intestin grêle et du colon : le coronavirus provoque un abrasement des villosités intestinales et les entérocytes sont remplacés par des cellules des cryptes. Une hyperplasie compensatoire se met en place, associée par conséquent à une augmentation des phénomènes sécrétoires (Ridremont, 2021). Bien qu'il puisse affecter les veaux d'une à deux semaines d'âge, il peut également intervenir dans d'autres syndromes touchant les bovins, tels que la dysenterie d'hiver provoquant une diarrhée hémorragique chez les animaux adultes, et les bronchopneumonies infectieuses affectant indifféremment bovins jeunes et adultes. Le virus a été détecté sur l'ensemble des continents, et il semblerait que 90% des bovins y soient exposés au cours de leur vie (Boileau and Kapil, 2010). Il s'agit d'un virus enveloppé, à ARN simple brin positif (30 kb), appartenant à l'espèce des *Betacoronavirus 1*. Il mesure de 80 à 160 nm. Sont identifiées quatre protéines de structure qui lui confèrent son immunogénicité : une glycoprotéine de membrane (M), une glycoprotéine de péplomère (aussi appelée Spike, S), une protéine de nucléocapside (N) et une glycoprotéine hémagglutinine-estérase (HE). La protéine Spike (S) de ce virus joue un rôle particulièrement important dans sa relation avec son hôte : elle est subdivisée en deux unités, S1 et S2. Elle est impliquée dans la reconnaissance des cellules cibles et la pénétration cellulaire, mais est également la cible des anticorps neutralisants. Bien qu'au départ, deux types de coronavirus bovins aient été considérés (un type entéritique et un type respiratoire), on s'accorde aujourd'hui à dire qu'il n'existe qu'un seul sérotype. La diversité des

séquences entre les coronavirus des différentes formes cliniques chez les bovins domestiques et sauvages est plutôt faible (Ridremont, 2020). Etant enveloppé, le coronavirus bovin est plus fragile dans l'environnement que le rotavirus. Il reste cependant infectieux pendant trois jours dans la litière, en présence de matière organique. La contamination se fait majoritairement de manière oro-fécale, mais elle est également possible par aérosol, et la transmission est principalement horizontale, de la mère au veau, ou entre les veaux eux-mêmes lorsqu'ils sont en contact les uns avec les autres. Les signes cliniques débutent environ deux jours après l'exposition, (incubation durant 20 à 36 heures), et persistent environ trois à six jours. Généralement, la diarrhée est aqueuse et profuse, contenant parfois des caillots sanguins, avec de l'abattement et la disparition du réflexe de succion. La réplication du virus provoque la mort des cellules épithéliales, d'où un effacement des villosités et une diarrhée de malabsorption. Une acidose métabolique et une hypoglycémie peuvent ensuite apparaître suite à l'anorexie et à la déshydratation (Gomez and Weese, 2017). La souche Mebus est utilisée dans le vaccin BOVILIS ROTAVEC CORONA®, et la souche C-197 dans le BOVIGEN SCOUR®.

Le virus de la maladie des muqueuses, ou BVDV est un virus enveloppé, à ARN simple brin positif (taille du génome : 12,3 kb) appartenant au genre des *Pestivirus* dans la famille des *Flaviviridae* (Cho and Yoon, 2014). On distingue deux génotypes (I et II, eux-mêmes divisés en sous-génotypes) et deux biotypes au sein de chaque type génétique : le biotype non cytopathogène et son équivalent cytopathogène, en fonction du clivage ou non de la protéine NS2-3, une protéine non structurale. On retrouve le BVDV dans le tube digestif des animaux infectés permanents immunotolérants (IPI), lorsqu'un virus de type non cytopathogène traverse le placenta entre le 2^{ème} et le 4^{ème} mois de gestation. Son rôle est plutôt controversé dans l'apparition de la diarrhée chez le veau (Millemann and Maillard, 2007). Il peut provoquer de la diarrhée chez des veaux de plus de 18 jours. Lorsque son rôle est suspecté dans un épisode diarrhéique en élevage, il est important d'aborder la gestion du BVD de manière globale, et de rechercher et réformer les IPI.

Escherichia coli, cause majeure de diarrhée chez le veau dans les quatre premiers jours de vie (Foster and Smith, 2009), est une espèce de bactérie à Gram négatif, aérobies facultatives, faisant partie de la flore commensale intestinale des animaux. Elles appartiennent au microbiote de l'intestin sain, et sont donc dites commensales. Elles peuvent être classifiées en six groupes en fonction de leur schéma pathogène : entérotoxinogènes (ETEC), productrices de shigatoxines (STEC),

entéropathogènes (EPEC), entéroinvasives (EIEC), entéroagressives (EAEC) et entérohémorragiques (EHEC) (Cho and Yoon, 2014). Les plus communes dans le cadre des infections néonatales sont les ETEC qui produisent un facteur d'adhésion appelé F5 (anciennement K99), et des entérotoxines thermostables, STa et STb. On retrouve également les antigènes F41 et 987P, souvent associés à F5. Après ingestion, les ETEC infectent l'épithélium intestinal. Leur attachement à ce dernier leur permet de s'y multiplier, sans être entraînées avec le bol intestinal. La bactérie colonise l'iléon, où le pH supérieur à 6,5 est plus favorable (permettant l'expression du facteur d'adhésion F5), prolifère, et produit une toxine stable. La sécrétion de cette toxine entraîne une augmentation de la sécrétion d'ions chlorure par les cellules des cryptes dans la lumière de l'intestin, et une augmentation de la pression osmotique. L'appel d'eau dans la lumière intestinale qui s'ensuit entraîne une diarrhée d'hypersécrétion. La multiplication des ETEC dans les entérocytes des villosités intestinales provoque l'atrophie de celles-ci. L'adhésine F5 est utilisée dans le vaccin BOVILIS ROTAVEC CORONA®, et la souche *E.coli* 17, exprimant cette même adhésine dans le BOVIGEN SCOUR®.

Les salmonelles sont des entérobactéries à Gram négatif, occasionnellement détectées dans le tube digestif des animaux. Il existe de nombreux sérotypes, mais certains disposent d'un pouvoir pathogène particulier chez les bovins : c'est le cas notamment de *Salmonella enterica* Typhimurium et *Salmonella* Dublin (Millemann and Maillard, 2007). Ces dernières touchent rarement les veaux de moins de trois semaines. Les signes cliniques sont divers, allant de formes asymptomatiques à une salmonellose clinique sévère, touchant les jeunes mais aussi les adultes, et pouvant provoquer des formes digestive, respiratoire, ainsi que l'avortement chez les femelles gravides. Les salmonelles sont capables d'envahir la muqueuse intestinale, de disséminer vers les nœuds lymphatiques si elles échappent aux défenses précoces de l'hôte, et ensuite de se propager à la totalité de l'organisme. Dans le cadre de la diarrhée néonatale, on retrouve généralement une diarrhée inflammatoire, mucoïde, associée à la présence de fibrine et de sang. L'infection est plus commune et sévère chez des veaux âgés de dix jours à trois mois (Cho and Yoon, 2014). La transmission se fait par voie orale, par le colostrum ou le lait, ou à partir d'une source environnementale. La séparation des vaches malades des veaux nouveau-nés, ainsi que l'utilisation de lacto-remplaceurs sont donc des mesures permettant de réduire l'incidence des salmonelles en élevage (Fossler et al., 2005).

Les clostridies sont des bactéries à Gram positif, anaérobies strictes, sporulées, et donc très résistantes dans le milieu extérieur. Leur pouvoir pathogène, sous-estimé en pathologie néonatale du veau, repose principalement sur leur capacité à sécréter des toxines protéiques. Sont différenciés dans la pratique, trois types de clostridies selon les symptômes provoqués : les neurotoxiques (responsables du botulisme et du tétanos), les histotoxiques, qui touchent tous les tissus et types cellulaires, et les entérotoxiques. Ces dernières sont naturellement déjà présentes dans l'intestin des animaux. Un déséquilibre de la flore entraînera la multiplication des clostridies, la production de toxines et donc des symptômes digestifs. Les espèces principalement retrouvées chez le veau sont *Clostridium sordelli* et *Clostridium perfringens* (Millemann and Maillard, 2007). Cette dernière peut être subdivisée en cinq types (A, B, C, D et E) selon la production de quatre toxines majeures : alpha (α), bêta (β), epsilon (ϵ) et iota (ι) (voir **tableau 3**). Les souches les plus fréquemment rencontrées lors d'entérites néonatales chez les veaux sont la souche C (produisant des toxines α et β) et la souche A (synthétisant la toxine α) (Cho and Yoon, 2014). Alors que la seconde provoque plutôt une diarrhée mucoïde, la première est essentiellement responsable d'une entérite hémorragique chez le veau de moins de dix jours.

Tableau 3: Toxines produites par les différents types de Clostridies

Type	Toxines produites
A	α
B	α, β, ϵ
C	α, β
D	α, ϵ
E	α, ι

Les parasites prédominants durant le jeune âge sont essentiellement des protozoaires : les cryptosporidies, appartenant aux Apicomplexes, sont des parasites à vie intracellulaire obligatoire mais avec une position extracytoplasmique, à la surface des cellules épithéliales de l'intestin (rarement de l'appareil respiratoire). Ils ont un cycle de reproduction très bref et sont courants en élevage chez le jeune veau. L'infection peut être asymptomatique ou au contraire provoquer une forte déshydratation associée à une diarrhée sévère. Il existe environ vingt-quatre espèces de cryptosporidies : *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* et *C. andersoni* sont les plus communes chez les bovins, bien que la première soit considérée comme étant la souche principale responsable d'entérite néonatale (Cho and Yoon, 2014). Des oocystes directement infectants sont émis dans les matières fécales. Après ingestion,

des sporozoïtes sont libérés dans l'estomac et s'attachent par la suite aux cellules intestinales. Se succèdent ensuite deux multiplications asexuées durant 16 et 24h. Une reproduction sexuée donne ensuite un zygote, pouvant s'entourer d'une paroi épaisse pour devenir à nouveau infestant dans le milieu extérieur, ou s'ouvrir dans le tube digestif pour être auto-contaminant (Foster and Smith, 2009). Le cycle total s'effectue en quatre jours. Le portage chez les adultes étant asymptotique, les veaux infectés et multiplicateurs jouent un rôle majeur en contaminant le milieu au cours de la saison de vêlage. Les animaux de la deuxième moitié de la saison sont donc confrontés à une pression infectieuse importante. La diarrhée observée est généralement une diarrhée de maldigestion-malabsorption, profuse, blanc-crèmeuse puis jaune grise, mais ne contenant jamais de sang. Elle est associée à une forte déshydratation et de l'anorexie, de l'apathie et de l'hyperthermie. La mortalité reste cependant faible.

b. Moyens de prévention

i. Environnement et conduite d'élevage

Le veau naît avec un système immunitaire naïf, bien que compétent. Il subit un bombardement antigénique qui débute dès la parturition. Bien que cela soit nécessaire pour la mise en place du microbiote et le développement de son immunité, la contamination par les agents pathogènes précédemment décrits est presque inévitable. Cette dernière se produit principalement au contact de l'environnement et des congénères, puisque la plupart des agents pathogènes impliqués sont des pathogènes d'environnement ou des agents microbiologiques hébergés par des animaux porteurs sains. Il est donc fondamental de maîtriser la conduite d'élevage, qui constitue un des premiers leviers de prévention des entérites néonatales. Au fur et à mesure que la saison de vêlage avance, les veaux nouveau-nés sont soumis à une pression d'infection de plus en plus élevée. Il en résulte une augmentation de la proportion de veaux avec des troubles digestifs, qui sont souvent plus sévères.

Dans leur étude publiée en 2014, Klein-Jöbstl, Iwersen et Drillich ont cherché à identifier les facteurs de risque environnementaux associés aux entérites néonatales en enquêtant une centaine de fermes laitières ayant eu des cas dans l'année passée. La moitié d'entre elles ont été sélectionnées pour faire partie de l'étude : celles qui présentaient au moins un veau malade au moment de la visite. Les cinquante autres,

dans la même zone géographique mais sans historique d'entérites néonatales, servaient de témoins. Ils ont identifié de multiples facteurs de risque, séparés ensuite en plusieurs catégories : ceux associés au vêlage et aux soins apportés au nouveau-né, ceux dépendant du logement des veaux, de leur alimentation, de la propreté du bâtiment, des autres maladies associées, ainsi que la gestion globale de l'élevage (Klein-Jöbstl, Iwersen and Drillich, 2014).

La dystocie est un facteur de risque à prendre en compte : en effet, les difficultés de la mise-bas peuvent entraîner des lésions au veau, telles qu'une congestion de la langue et de la tête, qui empêchent la tétée et la bonne prise colostrale dans les deux à six premières heures de vie. Le risque relatif de diarrhée est égal à 1,44 fois entre les veaux avec une naissance dystocique par rapport à ceux qui naissant sans assistance (Bendali et al., 1999). Les causes majeures de dystocie sont liées à la taille du veau, ou à l'étroitesse du bassin de la vache. La composante génétique et une sélection adéquate des mères et des taureaux peuvent donc indirectement participer à la prévention des entérites néonatales (Cho and Yoon, 2014). En termes de soins à apporter au nouveau-né, la désinfection du nombril avec un produit iodé est primordiale pour prévenir une omphalite.

L'hygiène au sein d'un bâtiment d'élevage inclut de nombreuses composantes, telles que la qualité et la fréquence du paillage, la densité animale, la fréquence du curage, ainsi que la réalisation d'un nettoyage, d'une désinfection et d'un vide sanitaire. Une des premières mesures environnementales est la désinfection des locaux, en particulier des box de vêlage, après un nettoyage approfondi. Cette mesure peut se révéler efficace sur les agents causaux peu résistants dans l'environnement, comme c'est le cas des virus de façon générale. Le coronavirus par exemple est sensible aux savons et solvants liquides, tels que l'éther, et les produits désinfectants communs, contenant par exemple de la formaline, des phénols ou des ammoniums quaternaires (Boileau and Kapil, 2010). Les autres agents pathogènes peuvent toutefois avoir une capacité de survie bien plus longue, et il est important d'utiliser des désinfectants actifs, cités dans le **tableau 4** ci-après. Il a été démontré que le nettoyage et la désinfection du box de vêlage réduit significativement la prévalence des entérites. Klein-Jöbstl, Iwersen et Drillich ont relevé que seulement 19% des élevages avec un box de vêlage effectuaient un assainissement adapté de cet espace.

Tableau 4 : Capacité de survie des agents pathogènes dans la litière, d'après Gartioux, 2019

Agent	Résistance dans le milieu	Désinfectants actifs
Colibacilles, salmonelles	3 à 6 mois	Désinfectants usuels
Rotavirus, coronavirus	9 mois	Phénols, ammoniums quaternaires etc.
Virus de la BVD	< 15 jours	Désinfectants usuels
Cryptosporidies	1 an (4°C)	Ammoniac 5%, formol 10%, eau bouillante 90°C

L'intérêt du box de vêlage semble parfois limité au regard de certains éleveurs, qui l'associent plutôt à une contrainte. Cependant, ce box présente la réelle possibilité d'assurer un environnement de naissance avec une pression d'infection la plus réduite possible. Lorsque le vêlage survient au milieu des autres animaux, le veau est immédiatement en contact avec un microbisme élevé, augmentant le risque d'infection. Disposer d'une zone entièrement dédiée au vêlage, et surtout en assurer la bonne gestion et l'hygiène, permet de réduire fortement le risque de diarrhée. (Gartioux, 2019). Cette zone présente un dernier avantage : l'optimisation de la première tétée du veau. Dans ce contexte, il est plus facile de favoriser la prise colostrale, en évitant les veaux « voleurs de colostrum » et en assurant une adoption plus rapide du veau par sa mère.

L'isolement des veaux en niche ou en cases individuelles est préconisé, mais ce n'est pas toujours compatible avec l'organisation de l'élevage allaitant. Dans tous les cas, il faut éviter le mélange d'animaux d'âges différents, en limitant les écarts à un mois maximum (Guin and Maillard, 2018). Une densité trop grande dans les ateliers allaitants est associée à une augmentation d'un facteur 1,74 du risque d'incidence de la diarrhée néonatale, par rapport à des élevages ayant plus d'espace (Gartioux, 2019). Le logement en niches permet une diminution de la pression d'infection environnementale, ainsi qu'une surveillance individualisée et une meilleure adaptation des soins et de l'alimentation du veau. Malgré tout, il est important de noter que ce mode d'élevage peut être délétère car les veaux sont exposés à des variations de température pouvant être très grandes (Klein-Jöbstl, Iwersen and Drillich, 2014). De manière générale, l'exposition à l'humidité, à des températures basses, à la pluie, au

vent, sont autant de facteurs environnementaux pouvant augmenter la sensibilité des jeunes veaux à la diarrhée. La ventilation doit également être maîtrisée, qu'il s'agisse d'un défaut ou à l'inverse d'un excès de ventilation, pouvant occasionner un stress thermique. Dans leur étude, Bendali et coll. constatent une augmentation du nombre de cas de diarrhée dans les élevages où l'ammoniac peut être mis en évidence au moment de la visite (Bendali et al., 1999). Bien que l'ammoniac n'ait certainement pas un effet direct sur le veau il témoigne d'une ventilation insuffisante et souvent d'un défaut de paillage (Gartioux, 2019).

L'exposition à un environnement contaminé est une des premières causes d'apparition d'une entérite. Ajoutée à la désinfection de l'environnement citée précédemment, une conduite d'élevage adaptée pourrait donc diminuer le risque d'infection. La surpopulation, le mélange de veaux d'âges différents, la concurrence entre les vêlages des vaches et ceux des génisses sont autant de facteurs aggravants. L'importance relative des facteurs de risques liés au bâtiment et à la conduite d'élevage est présentée dans le tableau suivant (**tableau 5**).

Tableau 5: Facteurs de risques de diarrhées liés au bâtiment, chez les veaux allaitants, adapté de Bendali et al.

Facteur de risque	Risque relatif	IC à 95%	Valeur de p
Ventilation inadéquate du bâtiment	0,92	[0,46 ; 1,82]	0,8
Humidité du bâtiment élevée	1,56	[0,82 – 2,98]	0,17
Différence d'humidité élevée entre intérieur et extérieur	1,35	[0,89 – 2,06]	0,16
Présence d'ammoniac	1,51	[0,97 – 2,35]	0,06
Absence d'infirmerie	1,36	[0,80 – 2,34]	0,25
Vêlages étalés sur toute l'année	1,18	[0,73 ; 1,90]	0,49
Surface insuffisante par veau (<1m ²)	1,74	[1,08 – 2,80]	0,02
Paillage insuffisant	0,91	[0,52 – 1,58]	0,73
Absence de nettoyage des hébergements avant la saison de vêlage	0,54	[0,34 – 0,85]	0,07
Absence de nettoyage des hébergements après la saison de vêlage	1,79	[1,14 – 2,81]	0,01

Ainsi, il est utile de diminuer la pression infectieuse en planifiant la reproduction et les vêlages des génisses, permettant ainsi de réduire l'exposition des nouveau-nés les plus fragiles ; de programmer la reproduction, permettant alors un raccourcissement de la saison des vêlages et donc une diminution de la charge des agents pathogènes dans l'environnement, et enfin en établissant des groupes de vêlage, permettant ainsi d'effectuer un vide sanitaire efficace entre chaque groupe. (Cho and Yoon, 2014). Bien entendu, toutes les conduites d'élevage ne permettent pas la mise en place de ces règles.

Le facteur de prévention le plus important, tant au plan nutritionnel qu'immunitaire, reste l'ingestion de colostrum de bonne qualité et en quantité suffisante. Par définition, le colostrum est la première sécrétion de la glande mammaire chez les mammifères dans les semaines précédant la mise-bas. Outre son rôle dans l'immunité, il représente un apport énergétique, et oligo-éléments et vitamines essentiel pour le veau. Sa composition, décrite dans le **tableau 6** ci-dessous, est différente de celle du lait : sa concentration en protéines et en matières grasses est plus élevée, ainsi que sa teneur en vitamines A, D, en choline et en riboflavine.

Tableau 6: Composition du colostrum par rapport au lait maternel (Belbis and Plassard, 2019)

	Colostrum (1^{ère} traite)	Lait
% matière sèche	23,9	12,9
% lactose	1,8-3,2	5
% protéines (% caséine)	14 (4,8)	3,1 (2,5)
% de matières grasses	4,6	4,3
Vitamine A (mg/L)	2950	340
Vitamine D (mg/L)	0,677	0,388
Riboflavine (mg/L)	4,83	1,47
Thiamine (mg/L)	0,9	0,38

Ce liquide est également riche en antioxydants, et en facteurs de croissance importants pour le développement du veau (Belbis and Plassard, 2019). La prise colostrale permet, en dehors des effets immunitaires, d'augmenter la température rectale du veau, sa glycémie, ainsi que les apports en acides aminés et en certains minéraux et oligo-éléments. L'absence de prise colostrale a ainsi de véritables effets négatifs sur le métabolisme du nouveau-né, sur le développement intestinal, le

métabolisme lipidique, la glycogénèse, ou encore la régulation endocrine, le rendant moins résistant aux pathogènes présents dans son environnement.

ii. *Immunité colostrale et vaccination*

Important d'un point de vue nutritionnel, le colostrum est également fondamental d'un point de vue immunitaire. Le veau naît quasiment agammaglobulinémique (à l'exception des anticorps qu'il produit lui-même au cours de la vie fœtale qui sont présents en très faibles concentrations dans le sang à la naissance), et dépend donc essentiellement du transfert de l'immunité passive. Ce dernier correspond dans l'espèce bovine au passage des immunoglobulines du sérum de la mère vers le colostrum, puis à l'absorption de ces dernières depuis la lumière de l'intestin du veau nouveau-né dans le sang. L'apport d'un colostrum de grande qualité, en quantité suffisante durant les premières 24 heures de sa vie, est donc nécessaire. Le colostrum contient, en outre des nutriments, sucres et vitamines précédemment cités, des immunoglobulines G (IgG) en proportions dominantes (93%) mais aussi des IgM (5%) et des IgA (2%). Leur concentration colostrale comparée à celle du lait est précisée dans le **tableau 7** suivant.

Tableau 7: Composition en immunoglobulines du colostrum par rapport au lait maternel (Belbis and Plassard, 2019)

	Colostrum (1^{ère} traite)	Lait
IgG1 (g/L)	35-90	0,51
IgG2 (g/L)	2,8-6,0	0,03
IgA (g/L)	1,6-1,7	0,02
IgM (g/L)	2,47-13,85	0,1

Ces immunoglobulines correspondent à la part humorale du transfert immunitaire au veau. Dans les 48h suivant sa naissance, la concentration sanguine doit atteindre au minimum 10g/L d'immunoglobulines G. La qualité du transfert de l'immunité colostrale dépend de trois paramètres : la concentration en immunoglobulines du colostrum (celui de la première traite étant le plus riche, contient de 50 à 70g/L d'immunoglobulines idéalement), la quantité totale bue par le veau durant les 24 premières heures de vie, ainsi que le taux d'absorption des immunoglobulines dans l'intestin du veau. La période de transfert de l'immunité est courte, l'absorption des immunoglobulines diminue avec le temps et cesse au bout de

24 à 48 heures. Les concentrations en IgG, IgM et IgA sont, selon McGee et Earley respectivement 1,68, 1,57 et 1,66 fois plus élevées chez des veaux allaitants ayant consommé du colostrum dans les 3 heures suivant la naissance, par rapport à des veaux l'ayant consommé après 3 heures. Il est donc recommandé de faire ingérer au veau au moins 4L de colostrum pour les vaches laitières, et 2L pour les vaches allaitantes, à la sonde si nécessaire (Guin and Maillard, 2018).

Les anticorps ne sont cependant pas les seuls effecteurs de l'immunité transmis au veau : le colostrum bovin contient également de nombreux leucocytes, des macrophages (environ 2/3 des leucocytes) ainsi que des lymphocytes T et B (16 et 11% des cellules présentes). Le veau reçoit également un grand nombre de protéines, les composants du complément, des cytokines, des hormones endocrines et des facteurs de croissance ayant des propriétés immunomodulatrices. La transmission de lymphocytes mémoires est également suspectée, mais tous ces composants de l'immunité cellulaire et sa réelle absorption par le veau n'est pas encore très documentée chez les bovins.

La qualité du colostrum de la mère dépend en grande partie de la qualité de sa nutrition, qu'il est important de gérer de façon appropriée. Il est fortement recommandé de compléter la vache en minéraux et oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, iode) dans les semaines précédant la mise-bas. L'action antioxydante du sélénium en particulier est reconnue comme permettant d'obtenir un colostrum de meilleure qualité, puisque les cellules immunitaires sont parmi les plus sensibles au stress oxydatif (Lequeux, 2016). La ration doit également être équilibrée : une note d'état corporel de 3,5 est recommandée au moment de la mise-bas chez les races laitières ; une vache plus grasse sera sujette aux dystocies, alors que la qualité colostrale d'une vache trop maigre sera diminuée. L'administration d'un lactosérum hyperimmun concentré en anticorps spécifiques est une option en cours d'exploration, pour pallier ce problème. Une étude terrain réalisée en 2021 a comparé l'incidence des entérites néonatales chez des veaux issus de mères soit vaccinées, soit non vaccinées, mais dont les veaux ont reçu un lactosérum hyperimmun dans les deux heures suivant la naissance. Dans cette étude, 58% des veaux ayant reçu du colostrum de mères vaccinées sont « protégés » (18/43 atteints de diarrhée) contre 89% chez les veaux complétés avec le lactosérum (5/45 seulement atteints de diarrhée). Ces derniers pourraient bénéficier d'une protection précoce, avant que les germes environnementaux ne puissent coloniser l'intestin. Il s'agit cependant d'une hypothèse car un défaut de transfert de l'immunité passive, qualitatif ou quantitatif dans le groupe de veaux nés

des mères vaccinées semble probable pour expliquer ces résultats. De plus, les autres facteurs, tels que les conditions de vêlage, l'âge ou le rang de vêlage n'ont pas été pris en compte, bien qu'ils puissent moduler significativement la prédisposition aux entérites (Eicher, 2022).

La quantité d'immunoglobulines dans le colostrum peut être stimulée par la vaccination des mères. Cette dernière doit être effectuée durant la phase de colostrogenèse, c'est-à-dire dans les sept semaines précédant le vêlage. Dans le cadre de cette pratique, la bonne prise colostrale est bien évidemment fondamentale. De manière générale, la vaccination des adultes contre au moins un des pathogènes majeurs responsables des entérites néonatales décroît le risque de maladie chez les veaux (Bendali et al., 1999). La vaccination des veaux, qui pourrait paraître une solution évidente, n'est pas efficace. Des études utilisant des vaccins vivants administrés par voie orale chez des veaux de quelques heures montrent une interaction des anticorps maternels avec le vaccin empêchant la mise en place d'une réponse vaccinale par neutralisation de l'antigène vaccinal (Van Zaane, Ijzerman and De Leeuw, 1986). En revanche, la vaccination des mères est plus bénéfique. Dans une étude réalisée en 1988, des vaches gravides reçoivent deux injections de vaccin inactivé contre le rotavirus, la première dans les 4 semaines précédant la mise-bas, la seconde juste avant le vêlage. La quantité des anticorps dirigés contre le virus a augmenté dans le sérum des mères, ainsi que dans leur lait jusqu'à 5 jours après la naissance du veau. Ces derniers, après avoir reçu le colostrum et le lait de leur mère durant 5 jours consécutifs, étaient réfractaires à l'expression clinique de l'infection par un rotavirus. Les veaux recevant le colostrum et le lait de vaches non vaccinées présentaient des signes cliniques, et excrétaient le virus. (Castrucci et al., 1988)

Les vaccins disponibles sur le marché français sont des vaccins inactivés, multivalents. Ils contiennent des rotavirus, du coronavirus, *E.coli* F5, mais également pour certains des salmonelles. Leur voie d'administration est généralement intramusculaire ou sous-cutanée, et les protocoles nécessitent généralement une ou deux doses, dans le dernier tiers de la gestation. Ils sont présentés dans le **tableau 8** ci-dessous.

Tableau 8: Valences des vaccins commercialisés contre les entérites néonatales

Nom déposé (laboratoire)	Valences utilisées		
	<i>E. coli</i>	Rotavirus	Coronavirus
BOVIGEN SCOUR (Virbac)	+	+	+
BOVILIS ROTAVEC CORONA (MSD Santé Animale)	+	+	+
CORONIFFA RC (Boehringer Ingelheim)		+	+
FENCOVIS (Boehringer Ingelheim)	+	+	+
IMOCOLIBOV (Boehringer Ingelheim)	+		
SCOURGUARD 3 (Zoetis)	+	+	+
TRIVACTON 6 (Boehringer Ingelheim)	+	+	+

Bien que les entérites néonatales soient la première cause de mortalité dans les élevages, le taux de vaccination global reste encore modeste. En 2019, le SIMV (Syndicat de l'Industrie du Médicament et réactif Vétérinaire) a indiqué un taux national de 18,5% de vaccination des mères et des génisses. Le contexte est pourtant favorable à la prévention vaccinale : les politiques d'utilisation des antibiotiques se durcissent et le contexte sociétal est plus que jamais en faveur d'une prise en compte du bien-être animal, ainsi que de la réduction des traitements effectués chez les animaux destinés à l'alimentation carnée. Une étude réalisée en 2018 a cherché à identifier les freins à la vaccination en élevage bovin (Lacreusette et al., 2019). Un plan d'échantillonnage a été réalisé, permettant l'étude d'un total de 70 élevages de taille variable (compris entre 30 et 350 mères). Le facteur principal d'abandon de la vaccination reste le coût. Il est perçu comme trop grand pour 21,7% des éleveurs. Pour d'autres, des ruptures de produit, assez régulières, posent problème. Enfin, les éleveurs ayant réussi à diminuer l'incidence des entérites dans leur élevage par d'autres moyens, tels que l'alimentation ou la gestion sanitaire, ne voient pas d'intérêt à cette vaccination. A l'inverse, la raison la plus motivante pour vacciner reste la survenue d'une épizootie. En effet, 26 éleveurs sur les 33 interrogés ont déclaré qu'il s'agissait de la raison principale pouvant les inciter à vacciner puisque dans ce contexte d'urgence, ils investissent beaucoup de temps et de moyens financiers dans les soins aux animaux. A la lumière de cette étude, il est important de rappeler le rôle de conseiller du vétérinaire, afin d'inclure la vaccination contre les entérites néonatales dans une démarche globale de prévention et de préparation au vêlage. Bien qu'elle soit complémentaire de la bonne prise colostrale ainsi que des autres mesures

sanitaires et alimentaires, la vaccination reste, en raison des bases biologiques du fonctionnement du système immunitaire de la vache et du veau, un levier fondamental sur lequel agir pour prévenir la survenue des entérites néonatales.

2) Immunité du jeune

a. Rappels des mécanismes immunitaires généraux

Le système immunitaire rassemble les mécanismes de défense contre les agressions microbiennes ou les proliférations malignes. De façon didactique, il est constitué de deux grandes composantes : l'immunité innée et l'immunité acquise (Campbell et al., 2012).

La première est non spécifique, et fait intervenir des cellules possédant des récepteurs globaux (les PRR – Pattern Recognition Receptors), capable de reconnaître des motifs communs à de nombreux pathogènes (appelés PAMPs – Pathogen Associated Molecular Pattern). Elle est présente avant la naissance et est très efficace, permettant d'éliminer plus de 99% des infections débutantes. Les cellules résidentes de l'immunité innée sont les mastocytes, les macrophages, et les cellules dendritiques myéloïdes. Après reconnaissance d'un pathogène, les mastocytes ou macrophages résidents procèdent à la phagocytose de celui-ci, un processus leur permettant de l'internaliser et de le digérer. Ils vont également sécréter des cytokines (petites glycoprotéines sécrétées par la majorité des cellules de l'organisme, produites en réponse à une stimulation) et des chimiokines (cytokines chimiotactiques capables de provoquer la migration cellulaire), permettant de recruter d'autres cellules sur le lieu de l'infection et de déclencher la réaction inflammatoire. Les cellules dendritiques, quant à elles, phagocytent le pathogène puis migrent vers les nœuds lymphatiques les plus proches pour stimuler les cellules effectrices de l'immunité adaptative. Le système du complément intervient également : il s'agit d'un ensemble de trente protéines plasmatiques principalement synthétisées par le foie. Neuf d'entre elles sont effectrices (C1 à C9) et vingt-et-une sont régulatrices.

Le complément peut être déclenché de trois manières, dont deux pour l'immunité innée :

- La voie des lectines permet l'activation du complément lorsqu'un microorganisme couvert de PAMPs est reconnu par les lectines sécrétées par l'organisme.
- La voie alterne permet une fixation directe de la protéine C3b sur le pathogène. Celle-ci provient soit d'une dissociation spontanée, soit de la voie des lectines, ce qui permet une boucle d'amplification.

Une partie de ces protéines du complément permet d'aider à la phagocytose, une autre partie active l'inflammation.

De manière générale, la reconnaissance d'un pathogène par l'immunité innée permet le début de la réaction inflammatoire, par la synthèse de cytokines et chimiokines qui provoquent l'activation et le recrutement de cellules ; ainsi que la phagocytose ou dégranulation permettant la lyse du micro-organisme.

La réaction inflammatoire en elle-même est un mécanisme qui permet, après reconnaissance du microbe, le recrutement de plusieurs effecteurs de l'immunité innée au niveau du foyer infectieux, puis son élimination. Elle se traduit cliniquement par quatre signes caractéristiques : rougeur, douleur, chaleur et gonflement. Après reconnaissance, une vasodilatation locale et une augmentation de la perméabilité capillaire permet la diapédèse de nouvelles cellules effectrices. Il s'agit principalement de polynucléaires neutrophiles dans les 24 premières heures, puis viennent les monocytes, qui se différencient en macrophages dans les tissus. Les neutrophiles réalisent également la phagocytose pour éliminer le pathogène, et cette activité est complétée par celle des macrophages arrivant dans les tissus, ainsi que par la dégranulation des mastocytes et la lyse induite par le système du complément. La dégranulation est un mécanisme des granulocytes (neutrophiles, éosinophiles, basophiles, mastocytes) permettant la libération de protéines antimicrobiennes aidant à la destruction du pathogène, ainsi que des substances toxiques pour les vers et les protozoaires, et des molécules participant au recrutement d'autres cellules de l'inflammation. Une boucle d'auto-amplification se met en place, via la production de cytokines et de chimiokines.

Un dernier acteur, appartenant à la lignée lymphoïde, intervient lors de l'immunité innée : il s'agit du lymphocyte natural killer (NK). Ces cellules patrouillent constamment, à la recherche de cellules à éliminer, en particulier des cellules

cancéreuses ou infectées par un virus. Une fois activé, le lymphocyte NK produit des cytokines dont certaines sont autocrines permettant sa prolifération. Une partie de la population produit alors d'autres cytokines permettant de stimuler le recrutement de cellules dendritiques et macrophages, pendant que l'autre partie procède à l'élimination de la cellule cible en provoquant son apoptose.

L'immunité acquise se met en place plus tardivement, que le pathogène ait été éliminé ou non. Elle est spécifique, et n'est pleinement efficace que trois semaines après son activation. Les acteurs de l'immunité acquise, ou adaptative se caractérisent par la présence de récepteurs spécifiques aux antigènes (qui sont des motifs pouvant être reconnus par les cellules du système immunitaire). La réponse adaptative sera d'autant plus forte que l'organisme aura déjà été en contact avec le pathogène : c'est sur ce principe qu'est fondée la vaccination.

Les cellules dendritiques, ayant phagocyté un pathogène lors de l'activation de l'immunité innée, migrent par voie lymphatique vers les organes lymphoïdes secondaires, où elles vont présenter l'antigène à un certain nombre de lymphocytes, via les complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH). Il s'agit d'un ensemble de glycoprotéines membranaires impliquées dans la présentation antigénique. Le CMH-I est un dimère après association avec la bêta2-microglobuline exprimé par toutes les cellules nucléées sauf les neurones, et présente des peptides courts. Le CMH-II est un hétérodimère exprimé par les cellules dendritiques, les macrophages, les LT activées, les LB et les cellules épithéliales du thymus. Il présente des peptides plus longs. En situation physiologique, les CMH présentent des peptides du soi. En cas d'infection, une partie de ces peptides sont remplacés par des peptides de l'agent étranger.

- Les lymphocytes T CD4 reconnaissent le CMH-II couplé à l'antigène. Ils participent à leur tour à la régulation des lymphocytes B spécifiques, qui se transforment en plasmocytes. Ces derniers sécrètent alors des anticorps se fixant sur les antigènes exogènes.
- Les lymphocytes T CD 8 sont activés par reconnaissance du CMH-I couplé à l'antigène et deviennent des lymphocytes T cytotoxiques, capable d'éliminer directement les cellules malades par différents mécanismes lytiques.

Le CMH-I est spécialisé dans la présentation des antigènes intracellulaires et la mise en place de l'immunité à médiation cellulaire, alors que le CMH-II permet la

présentation d'antigènes extracellulaires et l'activation de l'immunité humorale et des éosinophiles.

Les anticorps, ou immunoglobulines, sont des glycoprotéines sécrétées par les plasmocytes, ayant la capacité de reconnaître spécifiquement un antigène au niveau d'une région appelée épitope. Cette région est reconnue par le paratope de l'immunoglobuline. Un antigène pouvant avoir plusieurs épitopes, plusieurs anticorps peuvent être dirigés contre le même antigène. Une immunoglobuline est spécifique pour un antigène lorsque son paratope ne réagit qu'avec un seul épitope, mais il est également possible d'avoir des réactions croisées avec plusieurs antigènes différents.

Les immunoglobulines ont toutes le même modèle de base, un monomère à 4 chaînes, et forment ensuite 5 classes : IgG, IgM, IgA, IgE, et IgD. Leur structure est composée de 4 chaînes reliées par des ponts disulfure, et des interactions non-covalentes. Il y a deux chaînes lourdes identiques, et deux chaînes légères, identiques également (**figure 1**). Les chaînes lourdes définissent la classe de l'immunoglobuline selon les fragments constants qu'elles portent.

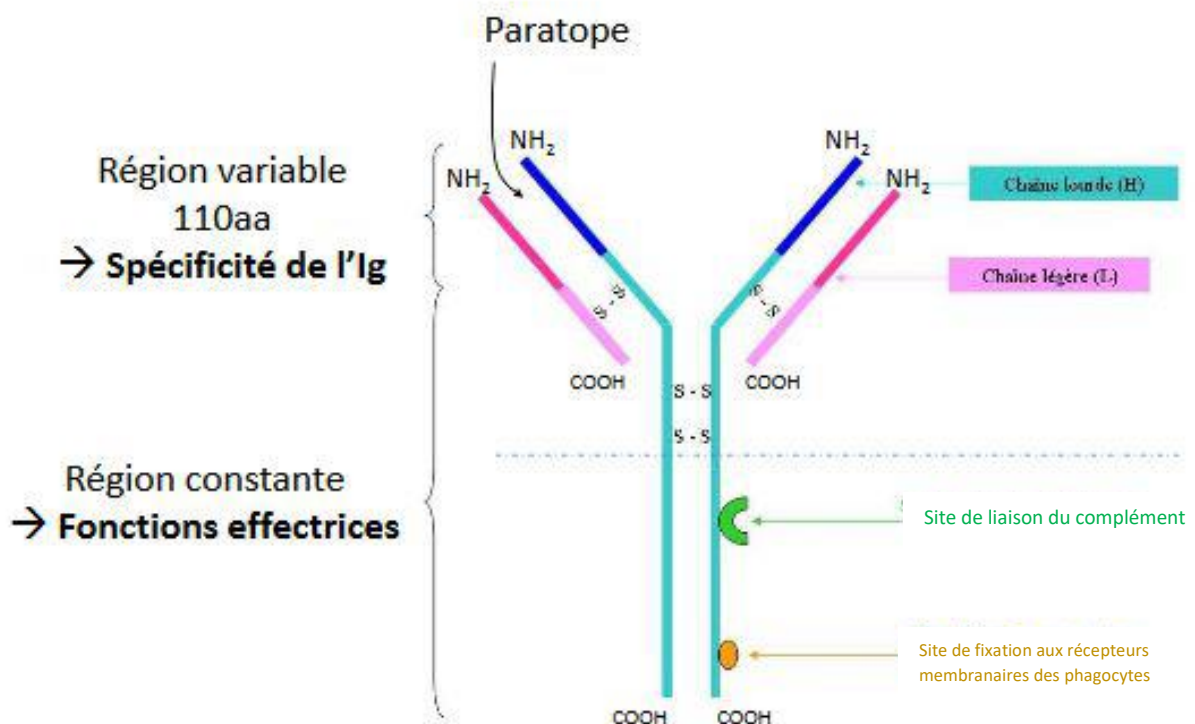


Figure 1: Représentation schématique d'une immunoglobuline, d'après H. Daniels

Les immunoglobulines possèdent 5 fonctions effectrices. Elles permettent l'activation de la cascade du complément par la troisième voie : la voie classique, par liaison entre

l'immunoglobuline et la protéine C1 du complément. Elles ont aussi une fonction d'opsonisation, c'est-à-dire qu'elles vont former un complexe immun avec le microbe, et permettre la phagocytose de ce dernier par un macrophage. Les trois fonctions restantes sont la dégranulation des mastocytes (uniquement permise par les IgE), la neutralisation (seule réponse possible en cas d'intoxication, permise par les IgG, IgE et IgA), et l'ADCC – Antibody Dependent Cell Cytotoxicity. Dans ce dernier mécanisme, les immunoglobulines se fixent sur les antigènes de la cellule à éliminer, et ce complexe active les lymphocytes NK. Ce mécanisme permet d'éliminer les cellules infectées par un virus ou les cellules tumorales.

Tableau 9 : Fonctions effectrices des immunoglobulines

	IgG	IgM	IgA	IgE	IgD
Activation du complément	X	X			
Opsonisation	X	X	X		
Dégranulation				X	
Neutralisation	X		X	X	
ADCC	X				

Rôle inconnu

Dans le cadre de l'immunité à médiation humorale, la cellule dendritique présente, dans les organes lymphoïdes secondaires, le pathogène aux LT CD4 après les avoir attirés par chimiotactisme. Ces derniers sont alors activés en LT helpers, qui survivront tant qu'il y a également des cytokines produites. Des lymphocytes B patrouillent également dans les organes lymphoïdes secondaires. Si ce dernier est activé et a reconnu le même antigène que le lymphocyte T helper, ils vont alors interagir. Le lymphocyte B forme un centre germinatif, où il se multiplie, se différencie en plasmocyte ou en cellule B mémoire, et sécrète des anticorps spécifiques de l'antigène, qui passeront ensuite dans la circulation sanguine pour agir au lieu de l'infection. Lors de la réponse primaire, il faut attendre environ 96h avant la sécrétion des premiers anticorps. Les premiers qui sont produits seront toujours des isotypes IgM, puis sont ensuite produits des IgG. Ils connaîtront une phase de croissance avec une augmentation exponentielle du taux plasmatique, avant d'atteindre un plateau, puis une phase de décroissance car les plasmocytes meurent et les anticorps sont éliminés ou dégradés. Lorsque l'hôte rencontre une nouvelle fois l'agent pathogène, la réponse secondaire est plus rapide, mais également plus intense. Cette fois, les

anticorps produits sont principalement des IgG, qui ont une affinité plus grande pour l'antigène.

Ce sont les cellules B mémoires, issues de la différenciation des lymphocytes B, qui agissent à partir du moment où le pathogène est réintroduit dans l'organisme. Les plasmocytes mémoires sont des cellules sécrétrices qui restent plusieurs années dans la moelle osseuse. Ils sécrètent en permanence des anticorps résiduels très utiles dans le cas d'une réponse à caractère urgent. Les lymphocytes B mémoires, quant à eux, restent dans la zone marginale de la rate, dans les nœuds lymphatiques et les centres lymphoïdes associés aux tissus. Ils ont une durée de vie très longue et circulent entre les organes lymphoïdes secondaires régulièrement. Ils sont non sécréteurs, contrairement aux plasmocytes mémoires. Ils sont les premiers mobilisés en cas de réponse secondaire, et sont les cellules qu'on cherche à mettre en place par la vaccination.

La réponse à médiation cellulaire est basée sur la différenciation des lymphocytes T CD8 en lymphocytes T cytotoxiques après présentation du pathogène par les cellules dendritiques, dans le cadre du CMH-I. La coopération avec les LT CD4 activés via les complexes du CMH-II est cependant nécessaire pour leur activation. La réponse à médiation cellulaire est essentiellement dirigée vers des pathogènes intracellulaires, bactériens, viraux ou tumoraux. Une fois activés, les lymphocytes T cytotoxiques migrent vers les tissus infectés grâce à des cytokines qui les attirent par chimiotactisme. Il est important de noter que, de la même manière que les lymphocytes B, une partie des lymphocytes T CD8 se différencie en cellules mémoire. Les LT cytotoxiques mémoire effecteurs (TEM) ont une durée de vie longue, et continuent de proliférer. On les retrouve dans le sang, la rate, et les tissus lymphoïdes, et ils peuvent répondre très rapidement lors d'une deuxième rencontre avec le pathogène. Les LT cytotoxiques mémoire centraux (TCM), quant à eux, sont très peu sécrétoires. C'est à partir de ce réservoir que sont générés les effecteurs lors de réponse secondaire. Le reste des lymphocytes T cytotoxiques ont deux fonctions principales : ils ont une activité cytotoxique envers les cellules infectées ou anormales, par deux voies que sont la voie perforine-granzyme et la voie des récepteurs de la mort cellulaire ; ils servent également à la sécrétion de médiateurs solubles que sont les chimiokines et les cytokines. Les deux voies cytotoxiques, bien qu'ayant des modalités d'activation différentes, conduisent toutes deux à l'apoptose des cellules contaminées. Certains pathogènes sont toutefois capables de bloquer la voie apoptotique, échappant ainsi à la réponse cellulaire (Campbell et al., 2012).

De manière générale, un même pathogène peut induire les deux types de réponse à la fois, et leur collaboration est souvent nécessaire, comme cela est représenté dans la **figure 2** ci-dessous.

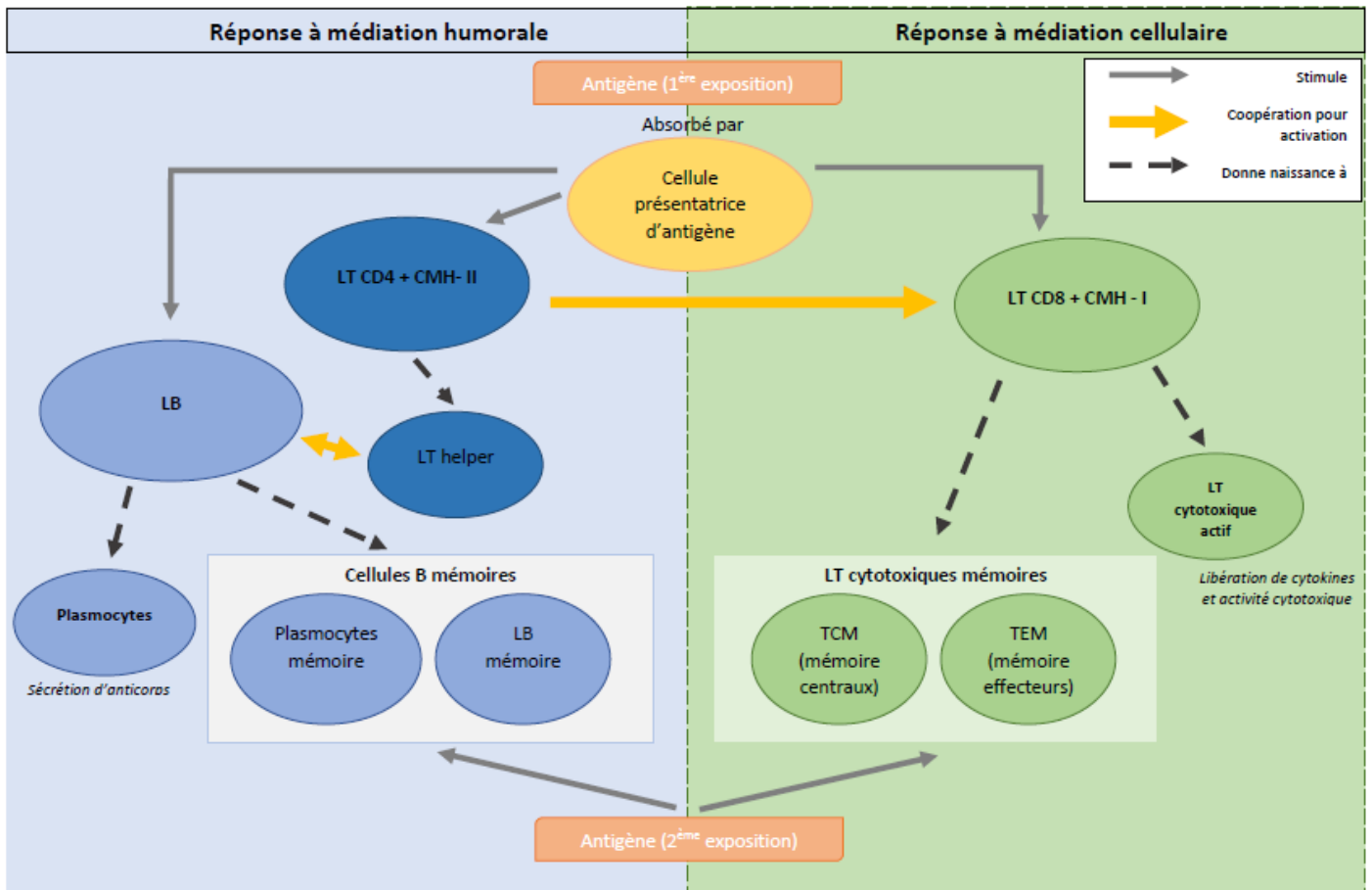


Figure 2: Schéma bilan de la réponse immunitaire adaptative

b. Colostrogenèse et immunité cellulaire du veau

i. *Barrière placentaire et statut immunitaire du veau à la naissance*

Le développement du système immunitaire des mammifères débute assez tôt au cours de la gestation. Il est continu de la conception du veau à ses six mois, et est modulé par les stimulations au cours de la gestation puis en post-partum.

Au cours de la vie utérine, le fœtus développe un certain nombre de mécanismes de défense, pouvant dépendre de l'immunité acquise ou non. Ces derniers correspondent par exemple à la présence d'acide dans l'estomac, d'enzymes dans les sécrétions, ou du microbiote lié à la muqueuse intestinale qui protégera le veau après la naissance. *In utero*, c'est l'immunité innée qui prédomine, avec les neutrophiles et les

macrophages, qui ne deviennent réellement protecteur pour le fœtus qu'après 130 jours de gestation. On retrouve également des éléments de l'immunité humorale, tel que le complément. En fin de gestation, les neutrophiles sont capables de phagocytose, bien que leur capacité bactéricide ne soit pas encore pleinement développée. Ces deux mécanismes perdent en efficacité autour de la mise-bas, sous l'influence du cortisol fœtal, dont la concentration augmente dramatiquement. Une activité bactéricide peut être évaluée dans le sérum du fœtus bovin à partir de 75 jours de gestation, et le complément, lui, est actif dès 90 jours, à un niveau cependant moitié inférieur à celui de la vache adulte ; il n'atteindra ce niveau que vers l'âge de 6 mois. Ces mécanismes de défense de l'immunité innée gagnent en efficacité au cours de la gestation. Ils peuvent cependant être peu utiles face à certains agents pathogènes après la naissance du veau et peu fonctionnels en cas de malnutrition, de stress, ou d'exposition à des toxines.

Les composants de l'immunité cellulaire, tels que les lymphocytes, se différencient à partir de cellules souches, et sont libérées dans le sang avant de rejoindre leurs lieux de maturation spécifiques : les lymphocytes T atteignent le thymus, les lymphocytes B, quant à eux, se développent ensuite dans la moelle osseuse et dans les plaques de Peyer pour une partie d'entre eux. Durant le premier semestre de la gestation, ils passent des organes lymphoïdes primaires vers les organes dits secondaires, colonisant la rate, les nœuds lymphatiques, et le tissu lymphatique diffus associé aux muqueuses (Chase, Hurley and Reber, 2008).

Le veau développe quelques anticorps au cours de la gestation : les premières IgM sont détectées à quatre mois de gestation, et les premières IgG entre 160 et 200 jours. Un petit peu plus de la moitié des veaux naissent avec plus de 0,16g/L d'IgG, et deux à trois fois plus d'IgM (Chigerwe et al., 2008). Ainsi, l'acquisition d'une immunité active *in utero* est possible si le veau est exposé à des agents infectieux après le 4^{ème} mois de gestation. Son statut immunitaire à la naissance dépendra également de la tolérance qu'il aurait pu acquérir vis-à-vis d'agents infectieux auxquels il pourrait être exposé entre le 40^{ème} et le 125^{ème} jour de gestation, tel que le BVDV par exemple.

Le fœtus possède donc à la naissance un système immunitaire compétent, avec les cellules des deux mécanismes principaux cités précédemment : le système inné et le système adaptatif.

Le veau naît donc avec un système immunitaire pleinement fonctionnel, mais largement immature. La particularité expliquant la fragilité immunitaire du nouveau-né

est la placentation : celle de la vache (mais également des suidés et des équidés) est de type épithélio-chorial : les sangs de la mère et du fœtus sont séparés par six structures (endothélium, conjonctif, et épithélium endométrial du côté de la mère ; épithélium, conjonctif et endothélium chorionique du côté du fœtus). Il n'y a aucun transfert d'anticorps ou de leucocytes au cours de la gestation, puisque ce type de placentation empêche le passage de molécules de poids moléculaire supérieur à 150 kDa, ce qui est le cas des immunoglobulines par exemple. De plus, un défaut de récepteurs à la fraction Fc des immunoglobulines empêche leur captation au niveau placentaire chez les ruminants (Maillard and Guin, 2013). Cette placentation empêche également l'activation des phagocytes et leur entrée dans les tissus. Les veaux sont ainsi complètement dépendants de la prise colostrale pour l'acquisition d'anticorps en quantité suffisante pour être immun.

Le transfert d'immunoglobulines depuis le sang de la vache vers la mamelle débute dès sept semaines avant le vêlage. Environ 500g d'IgG sont captés par semaine dans le compartiment sanguin. Ce chiffre augmente la semaine précédant la mise-bas et est alors compris entre 800g et plus d'un kilogramme. Les IgG sont les mieux captées par transcytose, et sont donc retrouvées en plus grande concentration dans le colostrum, bien que les autres isotypes (en particulier IgA, IgM et IgE) soient également présents, mais dans des proportions largement inférieure. La mamelle produit également une très faible quantité de ces immunoglobulines, en particulier les IgA et IgM, par des cellules localisées dans le tissu. Le colostrum est consommé par le veau à la naissance, permettant l'absorption de ces immunoglobulines.

ii. Mécanismes du transfert de l'immunité

L'absorption des immunoglobulines ne peut avoir lieu que si celles-ci sont intègres. Un facteur anti-trypsique dans le colostrum et une activité protéolytique réduite dans le tractus digestif du veau permettent de limiter la dégradation des immunoglobulines avant la transcytose intestinale.

A la naissance du veau, les jonctions non jointives des cellules épithéliales de l'intestin permettent l'absorption de certaines protéines colostrales par pinocytose vers la partie basale des cellules et par liaison au récepteur FcRn pour les Ig. Les immunoglobulines rejoignent ensuite la circulation lymphatique par exocytose puis veineuse par le canal thoracique, et ce pratiquement sans sélection isotypique : la

composition en immunoglobulines du sérum est donc sensiblement la même que celle du colostrum, avec une grande majorité d'IgG. Une part des immunoglobulines regagne les muqueuses digestives et pulmonaires par transcytose inverse, où elles pourront exercer un rôle local. Ce sont principalement les IgG qui assurent ce rôle, les IgA n'ayant une demi-vie que de deux jours. Les IgM, quant à elles, persistent moins longtemps dans le sérum que les IgG : leur temps de demi-vie est de 4 jours, contre 16 à 32 jours pour les secondes.

L'absorption des immunoglobulines a principalement lieu dans l'intestin grêle, dans le jéjunum en particulier, et dans l'iléon dans une moindre mesure. Cela est expliqué par la structure des entérocytes du jéjunum : leurs villosités sont plus développées qu'à la surface des cellules iléales. Durant les 24 premières heures de vie, les cellules épithéliales de l'intestin sont perméables aux macromolécules telles que les immunoglobulines, avec un rendement d'absorption allant de 10 à 50% : on compte une absorption moyenne de 20 à 25% (Maillard and Guin, 2013). Cette perméabilité décroît ensuite pour devenir quasiment inexistante, et cesse en 24 à 48 heures. Le mécanisme exact de fermeture de la barrière intestinale n'est pas connu. Il est probable qu'il soit le résultat d'une combinaison entre un épuisement des capacités de pinocytose et le remplacement des entérocytes par une population de cellules intestinales plus matures. Il est montré qu'en cas de retard de la prise colostrale, la barrière ne devient imperméable qu'après 36 heures de vie. L'absorption intestinale est optimale dans les 4 premières heures de vie, et décline rapidement au bout de 12 heures, et ce indépendamment de la durée de perméabilité de la barrière intestinale (Weaver et al., 2000). La consommation de colostrum le plus rapidement après le vêlage joue par conséquent un rôle décisif sur la qualité du transfert de l'immunité passive.

La concentration en immunoglobulines dans le sérum du nouveau-né augmente dans les deux heures suivant la naissance. Bien que la concentration minimale attestant d'un transfert correct diffère selon les auteurs, on peut retenir qu'une concentration en IgG sériques supérieure à 10g/L est nécessaire pour un transfert satisfaisant, et cette concentration peut doubler dans les recommandations pour les veaux allaitants, en particulier en milieu fortement contaminé (Belbis and Plassard, 2019). La synthèse endogène d'immunoglobulines par le veau prend le relais après la première semaine de vie. Les immunoglobulines ayant une demi-vie maximale de 32 jours (pour les IgG), il existe un « creux immunitaire » survenant vers l'âge de 10 jours à 3 semaines de la vie du veau, caractérisé par une concentration en immunoglobulines inférieure à la

normale. Cette période est donc à risque, ce qui explique une recrudescence des affections néonatales à cet âge-là (**figure 3**).

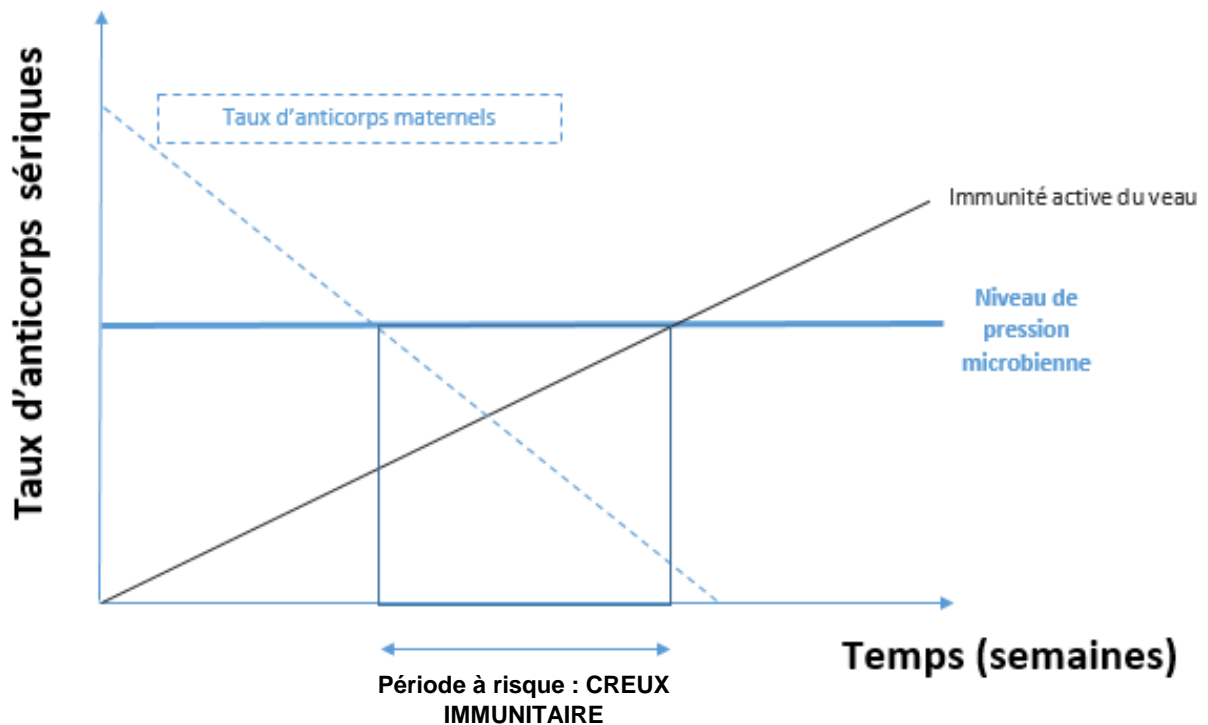


Figure 3: Représentation de la période critique ("creux immunitaire")

Les anticorps ne sont pas les seuls constituants de l'immunité passive transmis au veau. Le colostrum contient également un grand nombre de composants de l'immunité cellulaire : on y retrouve des lymphocytes T et B, ainsi que des macrophages. Ces cellules maternelles sont retrouvées dans le sang, les nœuds lymphatiques et les plaques de Peyer des veaux nouveau-nés, mais elles disparaissent rapidement de la circulation du veau. Le nombre de lymphocytes circulants est plus élevé dans les 7 premiers jours de vie chez des veaux ayant reçu du colostrum frais, en comparaison avec ceux ayant reçu un colostrum congelé. La congélation, ainsi que la pasteurisation, et les différents procédés de production de colostro-remplaceurs ne permettent pas la conservation de ces populations de cellules qui sont lysées. Bien que l'ingestion des cellules d'origine maternelle semble jouer un rôle sur le développement de la réponse immunitaire du veau, beaucoup reste encore à découvrir sur le sujet. La transmission de lymphocytes mémoire de manière passive au moment de l'ingestion du colostrum est également suspectée, mais reste à démontrer.

Au cours de leur étude en 2006, Reber, Lockwood, Hippen et Hurley ont cherché à démontrer, en utilisant un marqueur fluorescent, que les leucocytes rejoignaient la circulation du veau après l'ingestion de colostrum. Ils ont observé que ces cellules pénétraient la circulation sanguine, et étaient majoritairement retrouvées 12 à 24h après ingestion. Elles disparaissaient ensuite de la circulation au bout de 36h. Ils ont également remarqué que les cellules marquées exposées à un milieu complétement en colostrum pénétraient la circulation sanguine, alors que ce n'était pas le cas lorsque les mêmes cellules n'étaient en contact qu'avec le milieu. Ces observations amènent à penser que l'environnement colostrale induit des modifications facilitant l'absorption des cellules par le veau (Reber et al., 2006).

c. Vaccination contre les entérites

Les vaccins font partie de la prophylaxie médicale. L'objectif est de stimuler le système immunitaire de manière spécifique avec un antigène, de manière à induire une protection contre un pathogène donné avant même que l'organisme ne le rencontre. Il s'agit donc d'un processus actif, de moyen à long terme, faisant intervenir le phénomène de mémoire immunitaire. Celle-ci est la base du principe de la vaccination : lors d'une seconde exposition ou stimulation, les pools de lymphocytes mémoire (LT cytotoxiques mémoire et LB mémoire) circulent à nouveau depuis les organes lymphoïdes secondaires, et sont rapidement mobilisés. Les plasmocytes mémoire, quant à eux, produisent des anticorps capables d'agir immédiatement. Les LT cytotoxiques mémoires effecteurs patrouillent en permanence dans le sang, la rate et les tissus, et répondent rapidement en cas de détection de l'antigène.

Il existe différents types de vaccins. Lors de leur développement, il est important de connaître la biologie de l'agent pathogène contre lequel on souhaite protéger l'animal ainsi qu'au type de réponse efficace. Trois grands types de vaccins sont développés de manière conventionnelle.

i. Différents types de vaccins

Les **vaccins vivants atténués** sont les plus anciens. Ils contiennent une souche qui a été atténuée soit naturellement, soit en laboratoire. Ils sont très efficaces

contre les virus, et cette atténuation les rend inoffensifs. Ils provoquent une réponse humorale et cellulaire, avec une protection généralement de longue durée, puisque les protéines de surface du pathogène atténué restent très similaires à celles du pathogène naïf. Ils ont cependant l'inconvénient d'avoir une possibilité, rare, de réversion vers la forme pathogène, puisque le virus reste vivant, capable de se multiplier et de muter ou de recombinaison. La fabrication de ces vaccins nécessite une phase de culture, dont le coût est comparativement aux autres vaccins, assez faible. Il est cependant primordial de respecter la chaîne du froid et les bonnes pratiques de conservation pour éviter une inactivation de la souche vivante.

Les **vaccins inactivés** sont constitués de micro-organismes tués, conservant les épitopes des agents pathogènes. L'inactivation du pathogène présente plusieurs avantages : l'innocuité conférée est totale, et le produit étant plus stable, les contraintes liées à la conservation sont souvent allégées. Cependant, les traitements chimiques ou thermiques utilisés pour inactiver le microbe peuvent modifier les protéines de surface. En outre, l'absence d'infection diminue l'immunogénicité du produit obtenu nécessitant le recours à des adjuvants. Plusieurs administrations sont souvent nécessaires pour susciter une réponse de bonne intensité. La réponse induite est plutôt de type humoral à mémoire courte. Il existe un risque d'insuffisance de l'inactivation de l'agent infectieux, mais il est faible et les contrôles réalisés en post-fabrication permettent de vérifier l'inactivation. Les coûts de production de ce type de vaccins sont plus élevés que pour les vaccins vivants atténués.

Les **vaccins sous-unitaires** ne contiennent que certaines parties du pathogène. Il peut s'agir d'anatoxines, comme c'est le cas par exemple pour le vaccin contre le tétanos, de macromolécules purifiées, ou encore d'antigènes recombinants. Ces sous-unités peuvent être insérées dans un système procaryote ou eucaryote pour leur expression, puis l'ensemble est purifié. La réponse immunitaire induite n'étant pas suffisante, des adjuvants sont la plupart du temps nécessaires.

Grace à une meilleure connaissance des facteurs de virulence des agents pathogènes, il est désormais possible de fabriquer de nouveaux types de vaccins. Les **vaccins vivants recombinants** sont créés à partir de l'introduction dans une bactérie non pathogène d'une partie du génome du micro-organisme contre lequel on souhaite vacciner l'animal. Le **vaccin vivant délété** est synthétisé à partir du pathogène cible chez lequel les gènes codant pour des facteurs de virulence ont été supprimés, par délétion ou mutagenèse dirigée. Enfin, le **vaccin ADN vecteur** consiste à placer un

gène producteur d'antigène dans un adénovirus non pathogène par exemple, qui va infecter les cellules de l'organisme vacciné et permettre l'expression du ou des antigène(s). L'antigène exprimé par les cellules sera ensuite reconnu par le système immunitaire.

De manière générale, les vaccins vivants ont une protection de relativement longue durée, avec des rappels au minimum tous les trois ans, et ne nécessitent pas l'ajout d'adjuvants. Les vaccins inactivés prodiguent au contraire une protection de courte durée, avec des rappels annuels et deux injections de primo-vaccination. Selon la nature du vaccin, on peut obtenir une réponse majoritairement orientée humorale, ou plus mixte incluant un volet cellulaire.

ii. Types et rôles des adjuvants

Lorsque les vaccins sont peu immunogènes, il peut être nécessaire d'inclure un adjuvant. Il s'agit de substances qui augmentent la réponse immunitaire par rapport à l'antigène utilisé seul. Ils induisent presque obligatoirement une réponse inflammatoire, puisqu'ils miment certaines étapes de l'infection naturelle pour alerter les effecteurs du système immunitaire. Ils agissent à différents niveaux : ils favorisent le recrutement et l'activation des cellules présentatrices d'antigène, peuvent augmenter la durée de vie de l'antigène et donc la durée de la réponse immunitaire, améliorer la qualité de la réponse humorale et stimuler la réponse à médiation cellulaire. Il est cependant nécessaire qu'ils ne provoquent pas d'effets secondaires négatifs trop marqués, et surtout, dans le cas précis de la médecine vétérinaire, qu'ils n'influencent pas la croissance de l'animal, la reproduction, le confort et le bien-être de l'animal ainsi que l'état de la carcasse à l'abattoir et la qualité de la viande. Ils doivent être stables, faciles à utiliser et pratiques à injecter (Heegaard et al., 2011).

En médecine vétérinaire, les principaux adjuvants sont les suivants :

Les **sels d'aluminium** se présentent sous forme de cristaux insolubles d'hydroxyde ou de phosphate d'aluminium. Il s'agit des adjuvants les plus utilisés et les plus anciens (utilisé dès 1930). L'antigène est enchâssé dans les cristaux, qui se dissolvent permettant sa libération progressive. Ce type d'adjuvant permet de concentrer l'antigène localement et de le présenter sous forme d'agrégats multimoléculaires aux cellules présentatrices d'antigènes (Vermout et al., 2003). Ces dernières, en arrivant

au site de l'injection, phagocytent les cristaux. Une forte réponse humorale est induite par ce type d'adjuvant, bien que le mécanisme exact ne soit pas encore connu. Une hypothèse est qu'il formerait un dépôt d'antigènes au niveau du site d'injection. Il est également possible qu'il y ait une activation du complément, voire des éosinophiles et des macrophages (Aguilar and Rodríguez, 2007). La réponse cellulaire provoquée est cependant assez faible. Ils présentent le double avantage d'être relativement bon marché, et simples à formuler.

Les **saponines** sont uniquement utilisées en médecine vétérinaire. Ce sont des substances végétales, tensioactives et amphiphiles. Elles favorisent une très forte réponse cellulaire en activant les cellules dendritiques. Elles sont utilisées sous forme inerte, où l'antigène est, comme précédemment, enchâssé dans l'adjuvant. Elles peuvent également être combinées avec des sels d'aluminium dans le but d'induire une réponse mixte à la fois humorale et cellulaire.

Des substances bactériennes et fongiques, compte tenu de leur potentiel immunogène, peuvent être utilisées comme adjuvant. Par exemple, les peptidoglycanes constituant les parois bactériennes améliorent la réponse immunitaire provoquée par le vaccin sans être eux-mêmes très immunogènes. Différentes espèces de bactéries peuvent être utilisées comme source d'adjuvant. C'est le cas par exemple de *Mycobacterium* spp., *Corynebacterium parvum*, *C. granulosum*, *Bordetella pertussis* et *Neisseria meningitidis*.

On trouve également dans certains vaccins des adjuvants à base d'huile. Ils se présentent sous forme d'émulsions « **eau dans huile** » ou « **huile dans eau** ». Ils ne sont pas utilisables en routine en médecine humaine car ils créent des réactions d'intolérance. Ils sont cependant parfois utilisés dans des conditions palliatives, comme dans certains cancers, car la tolérance aux effets secondaires est plus élevée (Aguilar and Rodríguez, 2007).

Un exemple type de formulation « eau dans huile » est l'AIF (Adjuvant incomplet de Freund). Il s'agit d'une émulsion d'huile de paraffine contenant comme émulsifiant de l'Arlacel A. Lorsqu'on le complète avec une mycobactérie comme *Mycobacterium tuberculosis* inactivée par la chaleur, on obtient l'Adjuvant Complet de Freund (ACF). La toxicité n'est cependant pas négligeable : de nombreuses lésions telles que des abcès, des ulcères ou des granulomes ont été observées suite à leur utilisation, et la paraffine, quant à elle, est reconnue comme cancérigène. Le développement d'adjuvants équivalents aux adjuvants de Freund est donc encouragé. Le Montanide,

l'Adjuvant 65 et le Lipovant sont également des émulsions du même type. La formulation des émulsions « eau dans huile » permet la libération progressive de l'antigène au site de l'injection en formant un dépôt. En outre, elle exerce un effet « corps étranger » qui attire les cellules de l'immunité non spécifique et provoque ainsi une réaction inflammatoire (Vermout et al., 2003).

Les adjuvants « huile dans eau », eux, se dispersent plus rapidement dans l'organisme, la phase aqueuse étant dominante. Le risque de lésions dues à leur administration est donc plus faible que dans le cas des émulsions « eau dans huile ». Il peut être utile de leur ajouter des copolymères synthétiques amphiphiles, permettant de placer l'antigène à la surface des gouttelettes huileuses (Vermout et al., 2003). Les adjuvants de type TiterMax®, ainsi que la SAF (*Syntex Adjuvant Formulation*), qui contient une forme saturée du squalène associée à un copolymère synthétique, sont des exemples d'émulsions « huile dans eau ».

Les **cytokines**, en tant qu'effecteurs de la réponse immunitaire, peuvent être ajoutées aux vaccins pour orienter la réponse de manière très précise, en fonction du type choisi.

Les **imidazoquinolones**, petites molécules capables d'agir sur certains récepteurs membranaires des macrophages, peuvent moduler la synthèse de cytokines par ces cellules et orienter la réponse immunitaire vers un type Th1.

Les **polysaccharides**, quant à eux, semblent avoir une action efficace au niveau des muqueuses, puisqu'ils ont la capacité de les rendre perméables aux antigènes (Vermout et al., 2003). Ils sont donc intéressants dans les vaccins dont l'administration se fait par voie transmuqueuse.

Les **carbomères** sont des résines acryliques hydrosolubles qui limitent la dégradation naturelle des antigènes. Un effet dépôt est associé à un processus inflammatoire. Ils n'influencent pas le type de réponse, et sont donc considérés comme neutres.

iii. Efficacité de la vaccination contre les entérites néonatales

En France, et dans le contexte précis des entérites néonatales, ne sont autorisés que des vaccins à destination des vaches. Ils sont majoritairement inactivés, et toujours multivalents (Coronavirus, Rotavirus, et éventuellement *E.coli*). Outre-Atlantique, des vaccins vivants atténués administrés par voie intranasale peuvent être

utilisés chez le veau dans les jours suivant la naissance. Cette voie d'administration induit une immunité locale au niveau des muqueuses qui permet de s'affranchir de l'effet négatif des anticorps maternels par rapport à l'administration parentérale (Ridremont, 2021).

Bien qu'il soit difficile d'évaluer l'impact exact de la vaccination sur l'incidence des entérites néonatales en élevage, leur efficacité est reconnue. En 2001, Crouch, Oliver et Francis ont cherché à démontrer qu'il y avait une augmentation significative de la production d'anticorps sériques chez les animaux vaccinés avec un vaccin trivalent par comparaison aux animaux recevant un placebo. Ils ont réalisé leur étude sur 25 vaches n'ayant jamais été vaccinées auparavant. Quinze d'entre elles ont reçu une injection intramusculaire du vaccin BOVILIS ROTAVEC CORONA® 31 jours avant la date prévue du vêlage, et les dix vaches restantes ont reçu un placebo. Les veaux ont ensuite tété le colostrum de leur mère durant les 24 heures suivant la naissance. Pour le rotavirus, le coronavirus et *E. coli* F5, les taux d'anticorps sériques sont significativement supérieurs chez les vaches vaccinées. Il est également rapporté une forte augmentation des anticorps dans le sérum des veaux ayant ingéré le colostrum de leurs mères, et ceci jusqu'à 28 jours après la naissance (Crouch, Oliver and Francis, 2001).

Une étude réalisée en 2021 a évalué l'efficacité comparée de deux vaccins trivalents assez proches. Cent-vingt vaches, qui n'avaient jamais été vaccinées auparavant contre les rotavirus, coronavirus, et *E.coli* F5 ont été aléatoirement réparties par un ordinateur dans trois groupes : l'un a reçu le vaccin A (BOVILIS ROTAVEC CORONA®), le deuxième le vaccin B (BOVIGEN SCOUR®), et le troisième groupe sert de groupe témoin. Les niveaux d'anticorps sériques avant la vaccination étaient élevés pour le coronavirus (>70% des vaches séropositives), moyens pour le rotavirus (40-70%), et bas pour *E.coli* (< 40%), ce qui confirme que des infections virales subcliniques sont assez courantes dans les élevages laitiers. En premier lieu, il est intéressant de noter que le niveau moyen d'anticorps dirigés contre le coronavirus et *E. coli* dans le groupe témoin étaient respectivement de 15,6 et 13,9%. Ces taux faibles renforcent l'idée que la vaccination contribue à la prévention en augmentant le titre anticorps. Dans cette étude, le vaccin A provoque une augmentation significativement supérieure des anticorps dirigés contre coronavirus et *E. coli* dans le sérum des vaches par comparaison avec le groupe témoin et le groupe ayant reçu le vaccin B. Cet écart est retrouvé dans les échantillons de colostrum, ainsi que dans le sérum des veaux. Une différence significative est montrée dans le cadre de la réponse humorale, mais

aucune étude n'a été réalisée sur le volet cellulaire de cette réponse, qui reste donc à explorer (Gonzalez et al., 2021). La réponse vaccinale est cependant extrêmement variable car elle est influencée par de nombreux facteurs, comme nous allons le décrire dans le paragraphe suivant.

3) Facteurs de variation de la réponse vaccinale chez les bovins

a. Facteurs démontrés : parasitisme, vitamines, oligo-éléments, conduite d'élevage

La réussite de la vaccination en élevage dépend de la capacité du vaccin à activer le système immunitaire des animaux de façon satisfaisante, c'est-à-dire d'induire une réponse qui répond aux objectifs. Cette réponse est influencée par des facteurs propres à l'animal, mais également par des facteurs liés au vaccin lui-même, et à l'utilisation qui en est faite.

Le statut physiologique de la mère au moment de la vaccination est à prendre en compte. En effet, le peripartum s'accompagne d'une baisse de l'activité immunitaire de la vache, tant innée qu'adaptative, et donc de sa capacité à produire des anticorps suite à une injection vaccinale. La période concernée par cette baisse d'immunité encadre la mise-bas, sur 6 semaines environ. Le stress métabolique et même physique, induit par la fin de la gestation et la mise-bas, ainsi que le début de la lactation, et une altération de la fonction neuroendocrinienne expliquent ce phénomène. A cette période, un grand nombre d'hormones, dont des hormones dites de stress, sont produites. Les glucocorticoïdes, par exemple, sont connus pour provoquer une dépression de la réponse immunitaire (Mallard et al., 1998). Il est donc fortement recommandé de ne pas vacciner une vache dans les trois semaines situées avant et après le vêlage.

La conduite d'élevage, en particulier la nutrition du troupeau joue un rôle primordial. Les carences en oligo-éléments, ainsi qu'en facteurs nutritionnels tels que les vitamines diminuent la réponse vaccinale par altération de la fonction immunitaire globale. Une mauvaise alimentation des mères est associée à des difficultés au moment du vêlage mais également à une diminution de la sécrétion lactée ainsi que de la croissance du veau. Un déficit en nutriments durant le dernier semestre de la gestation augmente la mortalité du veau puisque la majeure partie de sa croissance a lieu durant cette période. La qualité, ainsi que la quantité de colostrum produit par la

vache sont directement associées à l'apport nutritionnel. Les veaux nés de mère en état de malnutrition ont montré des défauts de performance, une faible productivité, ainsi qu'une sensibilité accrue aux infections (Cho and Yoon, 2014). L'alimentation du veau lui-même importe également. L'étude de Griebel et al, en 1987, s'est intéressée à l'immunocompétence de veaux Holstein recevant une ration inadaptée. Quatre d'entre eux étaient nourris avec une ration destinée à favoriser une croissance maximale, tandis que quatre autres étaient nourris avec une ration déficiente en protéines et en énergie. Durant les dix jours suivant la naissance, la totalité des veaux affichait un taux sérique élevé en cortisol, ainsi qu'une neutrophilie et une lymphopénie. Au bout de deux semaines, les veaux qui recevaient la ration déficiente présentaient une diminution significative de poids corporel comparé aux veaux recevant une ration adaptée, mais aussi une baisse de la prolifération des lymphocytes et de l'activité de sécrétion des interleukines (représentée en **figure 4**). Deux semaines après correction de la ration, ces activités n'étaient plus différentes et au même niveau que celles des veaux correctement alimentés.

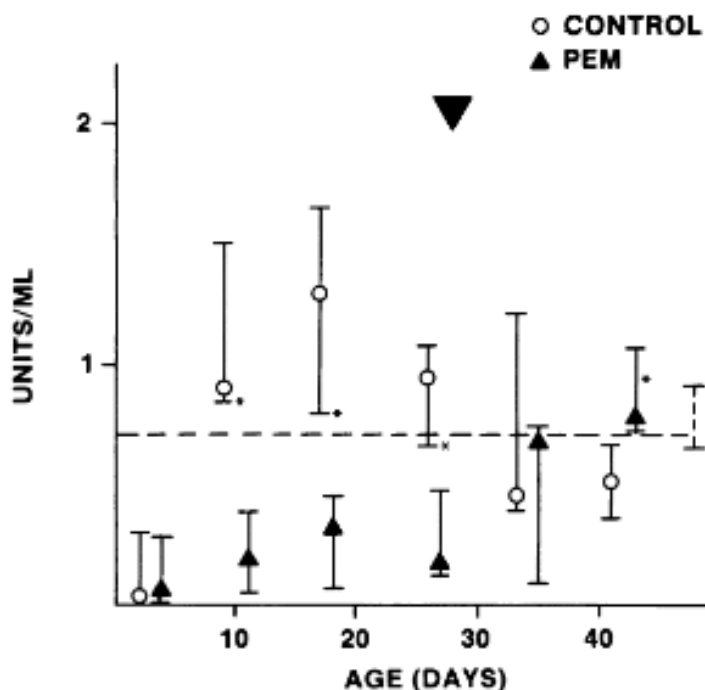


Figure 4: Comparaison de l'activité des interleukines-2 chez les veaux sous-nourris (PEM) et le groupe contrôle (Griebel, 1987)

La réponse immunitaire humorale est également mesurée, à l'aide des taux en anticorps contre l'antigène F5 d'*E.coli*. Ils étaient significativement plus faibles chez les veaux malnutris huit à douze jours après leur vaccination (Griebel, Schoonderwoerd and Babiuk, 1987). Une étude similaire (Fiske and Adams, 1985) s'est intéressée aux lymphocytes circulants ainsi qu'à l'aspect des organes lymphoïdes secondaires chez trois groupes de veaux, avec respectivement une ration insuffisante, une ration équilibrée, voire nourris au-delà des besoins durant 142 jours. La **figure 5** ci-dessous, extraite de cette étude, présente la réponse anticorps des 3 groupes suite à l'injection immunisante d'érythrocytes de poulet au jour 88.

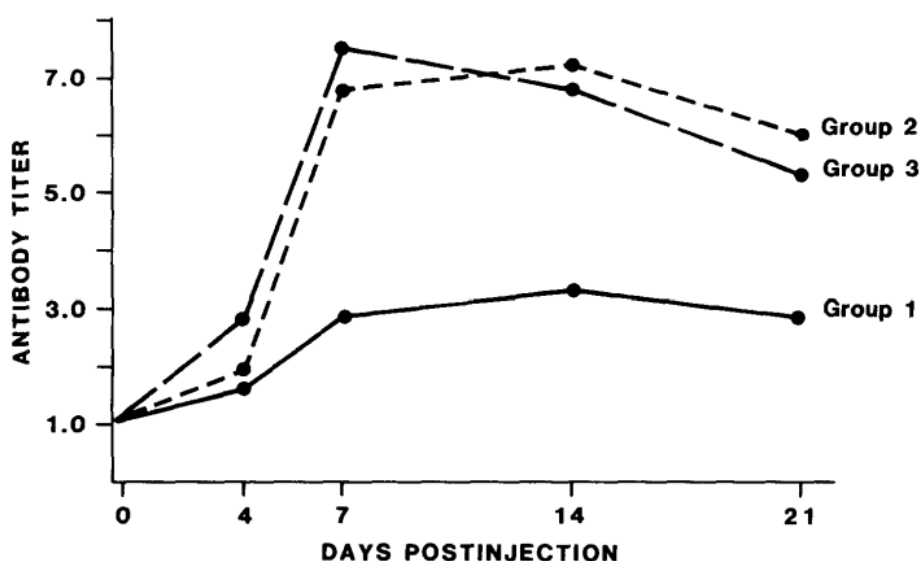


Figure 5 : Réponse anticorps des groupes 1 (malnutri), 2 (équilibré) et 3 (en excès) suite à l'injection d'érythrocytes de poulet au jour 88 (Fiske and Adams, 1985)

Les écarts entre le groupe 1 et les deux autres sont significatifs aux jours 7, 14 et 21, et chaque point représente la moyenne des titres anticorps de 6 animaux.

Outre la différence de la réponse anticorps mise en évidence dans cette figure, l'étude a démontré une diminution significative du nombre de lymphocytes circulants et une atrophie du thymus chez les animaux chez qui les apports étaient insuffisants. Les nœuds lymphatiques et la pulpe blanche de la rate n'étaient pas modifiés. À l'inverse, les animaux chez qui les apports étaient supérieurs aux recommandations ne présentaient pas d'amélioration significative de la réponse immunitaire (Fiske and Adams, 1985).

D'autres facteurs en lien direct avec la conduite d'élevage entrent en compte. Il s'agit de tous les actes pouvant provoquer un stress : l'écornage, le transport, la mise en lot, la castration, mais également le stress alimentaire, climatique, ou l'impossibilité d'exprimer des comportements naturels (McGlone, 1990). Ces derniers provoquent la sécrétion de cortisol, et donc une dépression immunitaire, altérant la réponse vaccinale. En effet, les glucocorticoïdes ont un effet dépressif de la plupart des mécanismes immunitaires à médiation cellulaire. Ils inhibent par exemple la synthèse de l'interleukine-2 et de ses récepteurs, la synthèse de l'interféron γ , et du facteur de nécrose tumorale α (TNF α). Les glucocorticoïdes empêchent aussi l'expression du gène codant le complexe majeur d'histocompatibilité. Ils inhibent ainsi l'activité des lymphocytes T et des phagocytes, même aux concentrations physiologiques qui sont atteintes lors de divers états de stress.

Sont également identifiées des causes d'immunodépression transitoire : parmi elles, certaines infections ainsi que le parasitisme affaiblissent la réponse du système immunitaire. Une infection par le BVDV par exemple, ou le BoHV-1, virus responsable de la rhinotrachéite infectieuse bovine, provoquent des immunodépressions transitoires susceptibles d'interférer avec la réponse vaccinale. Un animal infecté sera plus susceptible d'être infecté par un autre virus, mais son système immunitaire sera moins réceptif au vaccin. Il est également à noter qu'il pourrait s'avérer dangereux d'utiliser des vaccins vivants sur de tels animaux, qui seraient plus sensibles à la virulence résiduelle des souches utilisées dans ce type de vaccins.

De la même manière des parasites interférant avec l'immunité de l'animal sont reconnus comme affectant la réponse vaccinale. C'est le cas par exemple de *Fasciola hepatica*, la grande douve. Ce parasite, qui s'établit dans les canaux biliaires hépatiques, a trois modalités d'action principales : une action mécanique, due à la taille du parasite, une action sécrétrice, et une action sur les réactions immunitaires qu'elle provoque (Dorchies and Alzieu, 2016). La grande douve possède également la capacité d'inhiber les réponses Th17 et Th1 (Dowling et al., 2010). Deux composants majeurs de ce parasite, la cathepsine et la protéine GST-si, sont capables d'altérer la fonction des cellules dendritiques, et donc la présentation de l'antigène nécessaire au déclenchement des étapes ultérieures de la réponse adaptative. Il est ainsi essentiel de connaître le statut des animaux avant la vaccination, et, de manière générale, d'écartier du processus de vaccination les animaux malades.

Des facteurs directement liés aux vaccins peuvent également être la cause d'échecs vaccinaux. Lorsqu'une anomalie de fabrication du vaccin est mise en évidence, un grand nombre d'animaux sont concernés. Une anomalie lors de la mise en œuvre du protocole vaccinal (oubli d'une injection, erreur de la voie d'administration, ou du volume de la dose) peut expliquer l'échec vaccinal. Dans son enquête de terrain réalisée en 2018, Fontaine met en évidence les principales causes d'échec vaccinal selon les vétérinaires praticiens enquêtés. Dans le cas précis des entérites néonatales, l'efficacité du vaccin en elle-même n'est que rarement remise en cause. En revanche, les échecs observés sont attribués en majorité à un mauvais ciblage de l'étiologie concernée par le vaccin, puis une mauvaise réalisation du protocole vaccinal. Les facteurs de risque non maîtrisés sont également à prendre en compte selon les vétérinaires (**figure 6**).

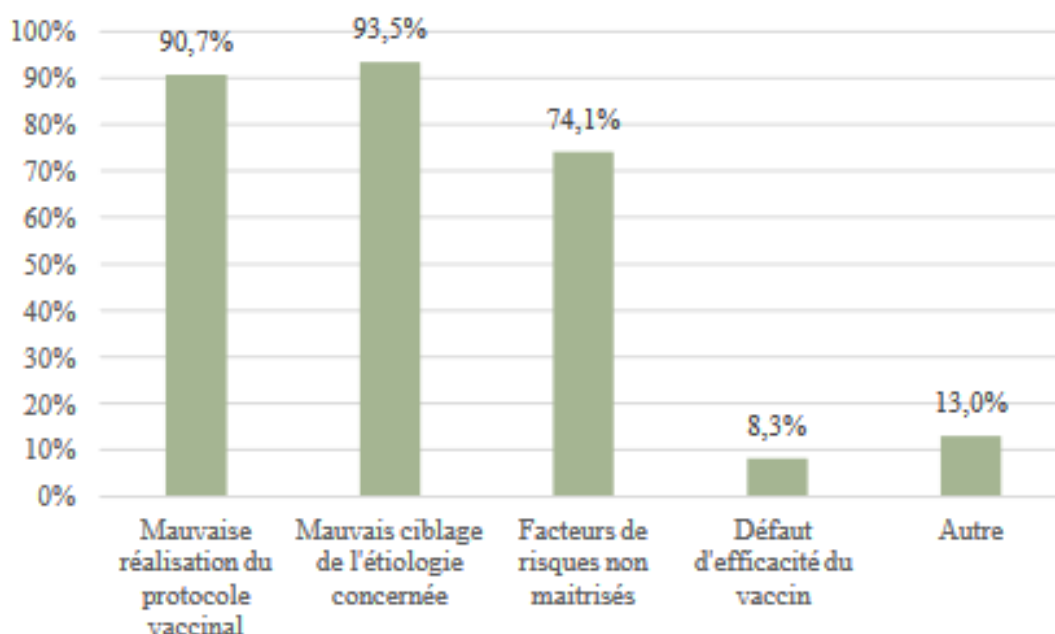


Figure 6: Principales causes d'échec vaccinal contre les ENN selon les vétérinaires, d'après Fontaine, 2018

Parmi les autres réponses proposées par les vétérinaires figurent la surveillance du transfert et la prise colostrale, ainsi que la gestion de l'immunité des mères, à travers les facteurs globaux de la conduite d'élevage tels que le parasitisme, l'alimentation, ou les conditions d'hébergement.

b. Conséquences du déficit en oligo-éléments sur la santé des bovins

Les oligo-éléments sont des minéraux indispensables présents en très faible quantité dans l'organisme : ils ont des rôles en tant que cofacteurs d'enzymes, de constituants des vitamines, de transporteurs de l'oxygène, et d'hormone. Lorsque des modifications des teneurs physiologiques surviennent, les états cliniques associés à ces carences sont complexes à objectiver.

Essentiel à la vie, l'oxygène est utilisé en grande quantité par les cellules pour des réactions telles que la production d'énergie, la synthèse de molécules essentielles, ou encore les détoxifications moléculaires. Ces réactions physiologiques produisent en permanence, dans le milieu intracellulaire mais également extracellulaire, des molécules oxydantes extrêmement réactives et donc très toxiques regroupées sous le terme d'espèces oxygénées activées (EOA). Le stress oxydatif est un processus résultant d'un déséquilibre entre la formation excessive d'EOA et la diminution des défenses antioxydantes (Siliart, 2007). Ce stress oxydatif conduit à un dysfonctionnement des défenses immunitaires, particulièrement entre la fin de la gestation et le pic de lactation. Il existe de nombreux mécanismes de défense qui permettent la neutralisation des EOA. Les oligo-éléments, en particulier le sélénium, le cuivre, le zinc, le chrome, le manganèse, et un certain nombre de vitamines (A, E et C en particulier) contribuent à la maîtrise de l'accumulation des espèces oxygénées activées dans l'organisme, puisqu'ils sont cofacteurs des enzymes impliqués dans le système antioxydant.

Tableau 10 : Recommandations d'apports en oligo-éléments (en ppm) pour les bovins, selon INRA 2007

	Seuil de carence	Apport journalier recommandé	Seuil de toxicité
Cuivre	7	10	30
Zinc	45	50	250
Manganèse	45	50	1000
Sélénium	0,1	0,1	0,5
Cobalt	0,07	0,3	10
Iode	0,15	0,2 à 0,8	8

Le **zinc** intervient dans la structure de plus de 2500 enzymes, ainsi que dans leurs fonctions. Il est, après le fer, l'élément trace le plus abondant dans l'organisme (33 mg/kg) (Siliart, 2007). Après absorption intestinale, le zinc est stocké en grande partie dans le foie, lié aux métallothionéines. Sa disponibilité périphérique peut donc être altérée en cas d'affection hépatique. Il permet l'activation de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), qui joue un rôle prépondérant dans la stabilisation des membranes cellulaires contre les dérivés réactifs de l'oxygène. Il intervient aussi dans la réplication de l'ADN, et il est nécessaire à la prolifération et différenciation des lymphocytes. Le zinc joue également un rôle majeur pour la réponse immunitaire : il facilite la signalisation et l'adhésion des neutrophiles et macrophages, la production de cytokines par les monocytes, la transduction de signal permettant l'activation des lymphocytes T et B, ainsi que la production d'anticorps (Palomares et al., 2016).

Le signe le plus précoce de la carence en zinc est la perte d'appétit. On peut également retrouver une diminution des performances de reproduction (une carence en zinc peut être associée à des avortements) ainsi que du gain moyen quotidien (GMQ). Dans ce dernier cas, l'hypothèse émise serait une diminution de la quantité et qualité du lait produit par les mères ayant des carences, mais cela n'a pas été correctement documenté. (Enjalbert, Lebreton and Salat, 2006). Des troubles tégumentaires, provoquant par exemple une laine défrisée, ou des déformations des sabots sont des effets connus d'une carence en zinc. Une parakératose se manifeste bien souvent. Il s'agit d'une affection chronique, non inflammatoire, non fébrile, touchant l'épiderme et entraînant la formation de croûtes sur une peau craquelée. Le rôle du zinc dans les mécanismes immunitaires a été étudié de façon approfondie en médecine humaine. Il est prouvé que la carence en zinc peut diminuer la réponse anticorps ainsi que la réponse cellulaire. Mais dans le cas des bovins, les conclusions à propos de l'impact du déficit en zinc sur l'immunité ne sont pas définitives (Spears, 2000). Il semblerait cependant que la carence en zinc ait une influence marquée sur la moelle osseuse, diminuant la synthèse de cellules nucléées et de précurseurs lymphocytaires (Calder and Kew, 2002). Une amélioration de l'immunité humorale chez les veaux supplémentés en zinc a également été relevée. Chez l'homme, les carences en zinc sont associées à une diminution de l'activité lymphocytaire, une diminution de rapidité des réactions d'hypersensibilité ainsi qu'une baisse de l'activité des hormones thymiques. Les animaux de laboratoire, en plus de corroborer ces observations, présentent également une diminution de la maturation des lymphocytes dans la rate, ainsi qu'une réduction de l'activité phagocytaire (Chandra, 1997). Le lien

entre statut en zinc et risque de maladies infectieuses a, quant à lui, été établi dans le cadre de la diarrhée du veau, ainsi que pour les métrites et les mammites de la vache.

Le **cuivre** (1 mg/kg) est stocké en grande partie dans le foie, lié, tout comme le zinc, à des métallothionéines. Il intervient dans la cascade métabolique mitochondriale et contribue donc à la production d'énergie pour la totalité des organes, système immunitaire inclus. Il joue également, comme le zinc, un rôle dans le fonctionnement des enzymes antioxydantes, facilitant ainsi la neutralisation des espèces oxygénées activées dans l'organisme. Par exemple, la céruloplasmine est une enzyme de la classe des oxydoréductases, contenant du cuivre, qui transporte ce dernier vers les tissus périphériques. Sa production augmente drastiquement en cas d'inflammation en réponse à la nécessité de capter les radicaux libres de l'oxygène : elle joue de ce fait un rôle important dans les processus inflammatoires, tout en protégeant les tissus contre les facteurs oxydants. Les études chez les bovins montrent une réduction significative de l'activité des lymphocytes B ainsi que de celle des neutrophiles en cas de carence en cuivre (Palomares et al., 2016). Les enzymes cupro-dépendantes interviennent également dans la production de la mélanine, du collagène et de l'élastine, dans le développement osseux et nerveux, et la production d'hémoglobine. Les signes précoces de carence en cuivre sont la dépigmentation de la peau (sur les flancs en particulier) ainsi que des poils ternes et piqués. On retrouve également une baisse de la croissance et de la production, une anémie microcytaire hypochrome chez le jeune, macrocytaire chez l'adulte, ainsi que des troubles nerveux chez les ovins et cardiaques chez les bovins.

Le cuivre intervient également dans la fonction phagocytaire : l'administration de cuivre à des veaux avec une carence a permis une amélioration de l'activité des neutrophiles, alors que les veaux non-complémentés conservaient une activité anormalement basse (Spears, 2000). Les immunités cellulaires et humorales sont toutes les deux affectées par un manque de cuivre, comme le démontre la diminution de l'activité lymphocytaire chez les veaux nés de mères carencées. Quelques recherches suggèrent également que la production de cytokines chez les bovins pourrait être affectée par le déficit en cuivre : les monocytes de vaches laitières ne recevant pas cet oligo-élément en quantité suffisante produisent moins de cytokine INF- γ . Les veaux avec une carence, produisent eux moins de TNF- α et d'IL-1. Dans le cas de la réponse humorale, la production d'anticorps après injection d'érythrocytes porcins est significativement moindre chez des veaux recevant une ration contrôle non

supplémentée comparé à des veaux supplémentés à 10mg Cu/kg (Gengelbach and Spears, 1998).

Le **sélénium** (0,2 mg/kg) est le cofacteur de la glutathion peroxydase, qui est le système antioxydant permettant de restaurer la vitamine E dans le processus de détoxification des EOA; il empêche ainsi les dommages causés aux cellules par les espèces oxygénées activées. Cet élément est très important pour la migration des neutrophiles dans les tissus. Il est principalement absorbé en association avec les acides aminés soufrés après échange avec le soufre contenu dans les protéines animales (Siliart, 2007). La vitamine E a un rôle d'antioxydant important en piégeant les radicaux libres et en protégeant l'organisme de la peroxydation lipidique. Il a été démontré que la supplémentation en vitamine E chez les animaux de laboratoire améliore la production d'anticorps, la prolifération lymphocytaire, l'activité des lymphocytes NK, ainsi que l'activité phagocytaire des macrophages (Calder and Kew, 2002).

Ces deux éléments agissent donc de concert, et leur association en complémentation est synergique. Toute carence prédispose les cellules au stress oxydatif par une moindre neutralisation des oxydants.

En termes de production pure, les effets négatifs directs de la carence en sélénium ne sont pas observables. Elle va plutôt se manifester en affaiblissant les animaux et en les prédisposant aux infections, entraînant une diminution de la productivité, qu'il s'agisse de production laitière ou de la croissance et du gain de poids (Guyot and Rollin, 2007).

La carence en vitamine E et/ou en sélénium peut provoquer une affection musculaire, décrite sous la forme de deux entités cliniques qui ne sont pas différentes au plan physiopathologique et anatomopathologique : la maladie du raide et le syndrome de myopathie-dyspnée. Les dommages oxydatifs provoquent une dégénérescence des muscles, squelettiques et cardiaque en particulier. La maladie du raide touche les jeunes bovins au moment de la mise à l'herbe, quelques heures à quelques semaines après leur sortie. Les membres deviennent rigides, les masses musculaires sont épaissies, gonflées, dures et sensibles. Le syndrome de myopathie-dyspnée, quant à lui, apparaît sur des veaux de 15 jours à 3 mois d'âge. La station debout devient difficile, le décubitus est prolongé. Les veaux présentent une dyspnée intense, un œdème pulmonaire, et une myocardite dégénérative. L'évolution vers la mort est généralement rapide.

La carence en sélénium provoque une diminution de l'activité bactéricide des neutrophiles circulants à la suite d'une destruction directe par les radicaux libres, et une augmentation de l'adhésion neutrophiles-cellules endothéliales, limitant leur migration vers les sites d'intérêt (Lequeux, 2016). Une diminution du recrutement des lymphocytes B et de la production d'anticorps est également notée. L'altération de l'activité des neutrophiles dans la lutte contre les bactéries et les levures est démontrée en cas de carence (Spears, 2000). Des vaches non complémentées présentent également une baisse de la production d'IL-1, ainsi qu'une moindre expression du CMH-II par les monocytes. La réponse humorale est améliorée lors de supplémentation en vitamine E ou en sélénium. La production d'anticorps est cependant plus efficace lors de supplémentation avec ces deux éléments conjointement. Il a également été démontré, dans une étude chez des veaux et des vaches allaitantes, que l'incidence de la diarrhée néonatale ainsi que la mortalité des veaux liée à cette cause diminuaient lorsque les mères étaient supplémentées avec 1000 mg de vitamine E et sélénium lors de leur troisième trimestre de gestation (ZoBell et al., 1995).

L'**iode** est nécessaire à la synthèse des hormones thyroïdiennes : la thyroxine (T4) ainsi que la triiodothyronine (T3). Ces deux hormones contrôlent notamment la synthèse de protéines dans toutes les cellules, avec de nombreux rôles, dans la croissance, le métabolisme, la production laitière, la thermorégulation et l'immunité entre autres. Le fonctionnement thyroïdien est régulé par la TRH (thyrotrophin-releasing hormone) et la TSH (thyroid stimulation hormone). Lorsque le niveau d'iode dans la ration satisfait largement aux besoins de la vache, moins de 20% de l'iode est incorporé dans la thyroïde. Lorsque les apports sont marginaux, ce taux augmente à 30%, et peut atteindre 65% lors d'hyperplasie de la thyroïde due à une carence sévère (Guyot and Rollin, 2007). Le transfert foeto-maternel d'iode se fait sous forme d'iode native, mais également de thyroxine. Les bovins sont moins sensibles que les ovins et les caprins aux carences en iode. Chez la vache, les symptômes sont souvent discrets. Elle peut se traduire par une diminution de la production laitière, ainsi qu'une perte de l'appétit. Une prise de poids peut également être observée, alors qu'une consommation excessive d'iode peut induire à l'inverse une perte de poids. Une diminution des fonctions de reproduction peut être observée chez la femelle, avec une altération du cycle œstral, ainsi que de l'avortement, de la mortalité embryonnaire, ainsi que de la mortinatalité. La fertilité peut également être affectée chez le mâle, avec des baisses de libido ou une détérioration de la qualité du sperme (Guyot and

Rollin, 2007). Chez le veau né d'une mère carencée, le déficit en iode se traduira par l'apparition d'un goitre (Lequeux, 2016). Il s'agit cliniquement d'une augmentation de la taille de la thyroïde visible à l'œil nu, ou à la palpation. Physiologiquement, il s'agit d'une hyperplasie de la thyroïde, consécutive à la mise en place de systèmes de régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes. Son apparition implique une carence sévère, qui n'est cependant observée que pour environ 4% des animaux avec une carence en iode sévère.

Le **manganèse** est indispensable à l'action de la glycosyltransférase, une enzyme participant à la synthèse d'un des composants du cartilage, le sulfate de chondroïtine. Le manganèse joue ainsi un rôle important dans la formation de la matrice osseuse et du cartilage. Il est également un constituant essentiel d'une autre enzyme, la Mn-superoxyde dismutase, qui joue un rôle antioxydant. Après absorption, le manganèse est transporté dans les organes riches en mitochondries, en particulier le foie, le pancréas et l'hypophyse. La carence en manganèse peut conduire à des malformations congénitales, les anomalies du squelette étant les symptômes les plus évocateurs. Les nouveau-nés présentent alors une chondrodystrophie, c'est-à-dire une torsion des membres. Ces derniers peuvent également être plus courts. La croissance est altérée, les déformations entraînent des problèmes de boiterie et une certaine fragilité osseuse. Chez les bovins à l'engraissement et les adultes, des jarrets dont l'angulation est effacée ainsi qu'une tuméfaction de cette articulation peuvent être observés. Alors que le rôle du manganèse dans les processus d'ossification est bien connu, les études sur la relation manganèse-fertilité sont moins nombreuses. Les principales manifestations d'une carence en manganèse sur les performances de reproduction concernent des perturbations de la fonction ovarienne. Sont observés des chaleurs silencieuses ou absentes, des œstrus irréguliers, des intervalles vêlage-fécondation allongés (Meschy, 2008).

c. Effet de la complémentation sur la réponse immunitaire et vaccinale

La complémentation est ici définie comme l'ajout d'oligo-éléments de manière à atteindre les besoins journaliers recommandés chez des animaux carencés. La supplémentation est l'ajout de ces mêmes oligo-éléments chez des animaux dont les apports sont déjà équilibrés.

Les bénéfices de la complémentation en oligo-éléments sur la santé des bovins, dans l'objectif de prévenir les carences, sont bien décrits. Les recherches à propos de l'effet de ces apports sur les fonctions immunitaires sont moins communes. Chez l'humain par exemple, une récente étude en double aveugle a montré que la complémentation en sélénium chez des sujets cliniquement sains mais carencés améliorait l'immunité cellulaire de ces sujets. Il a également été démontré que ces derniers éliminaient les vaccins vivants atténués plus rapidement que des individus carencés non complémentés (Calder et al., 2020). Dans leur étude, Arthington and Havenga, 2012 ainsi que Droke and Loerch, 1989 ont étudié, respectivement, l'intérêt de la supplémentation en cuivre, zinc, manganèse et sélénium, ainsi qu'en vitamine E et sélénium, sur l'amélioration de la réponse humorale chez le veau suite à la vaccination. Pour les premiers, l'association de la supplémentation à la vaccination ne nuisait pas à la réponse humorale. Pour les seconds, l'administration de vitamine E et sélénium améliorait la réponse anticorps à la vaccination, sans affecter le statut clinique et les performances des veaux. Clark et al., ont, eux, étudié en 2006 l'intérêt de la complémentation en oligo-éléments sur les performances de veaux allaitants ainsi que sur la prévention des maladies respiratoires, sans démontrer de différence notable de la supplémentation sur l'incidence des affections respiratoires cliniques. En 2016, Palomares et al. ont étudié l'effet de la supplémentation en zinc, manganèse, sélénium et cuivre sur la réponse humorale, mais également sur la réponse cellulaire, dans le cadre de la vaccination contre les virus BVDV, BoHV-1, ainsi que sur BRSV. Dans cette étude, un total de 30 veaux laitiers âgés de 3,5 mois a reçu, par voie sous-cutanée, une dose unique d'un vaccin vivant atténué multivalent contenant ces virus, ainsi que les bactéries *Mannheimia haemolytica* et *Pasteurella multocida*. Les veaux ont été répartis en deux groupes de même effectif, le premier recevant une injection d'un supplément en oligo-éléments (groupe ITM), le second une injection de solution saline stérile (groupe témoin. Les veaux recevaient une seconde injection du même vaccin trois semaines plus tard, ainsi qu'une seconde injection d'oligo-éléments ou de placebo en fonction de leur groupe. Des échantillons de sang ont été collectés à 0, 7, 14, 21, 28, 42, 56 jours et 90 après la vaccination, de manière à étudier la réponse anticorps, la production d'IFN- γ , ainsi que la prolifération de cellules mononucléées sanguine. Le taux d'anticorps sériques dirigés contre le BVDV dans le groupe supplémenté était supérieur à celui du groupe témoin dès le 28^{ème} jour post-vaccination. La réponse cellulaire a été plus précoce dans ce groupe. La réponse au BRSV étant similaire : le nombre de cellules mononucléées a été plus élevé chez les

veaux supplémentés à J7, et la production d'IFN- γ a été supérieure à J21. Des profils en oligo-éléments ont également été effectués pour chaque veau, à partir d'une biopsie hépatique, aux jours 7, 21 et 56 post-vaccination. La **figure 7** suivante présente les concentrations hépatiques des différents minéraux chez les veaux de cette étude.

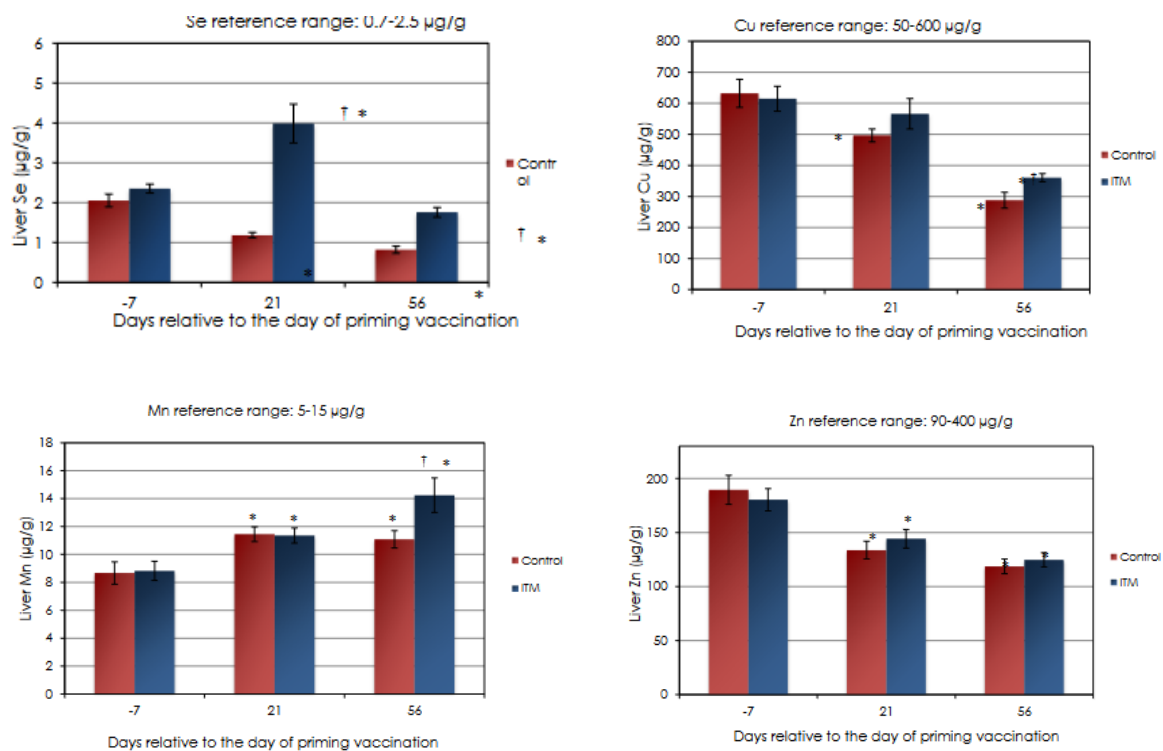


Figure 7: Concentrations en Cu, Mn, Zn et Se dans le foie aux jours 7, 21 et 56 (Palomares et al, 2016)

Elles montrent un écart significatif entre les concentrations observées chez les veaux supplémentés par rapport aux témoins, pour le sélénium aux jours 21 et 56, pour le cuivre et le manganèse au jour 56 seulement. Bien que les concentrations en oligo-éléments décroissent de manière générale, cette tendance est plus lente chez les veaux supplémentés.

La **figure 8** représente la proportion de veaux avec une séroconversion dans chacun des deux groupes 28 jours après la vaccination, et la **figure 9** présente la prolifération cellulaire en réponse à une stimulation avec le BVDV.

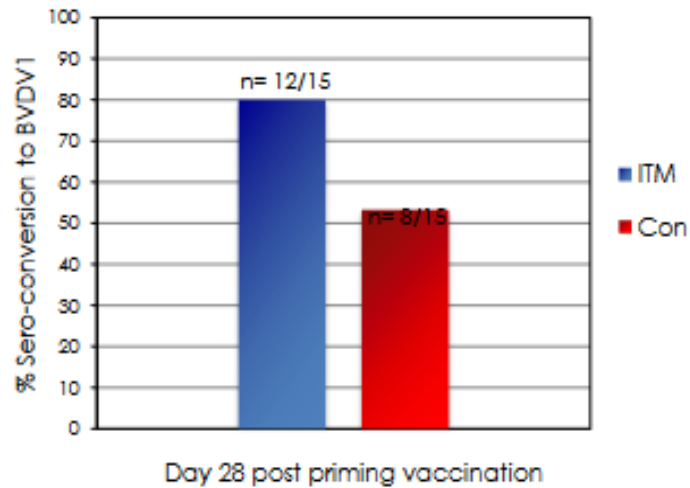


Figure 8: Proportion de séroconversion en anticorps anti-BVDV 28 jours après la vaccination (Palomares et al, 2016)

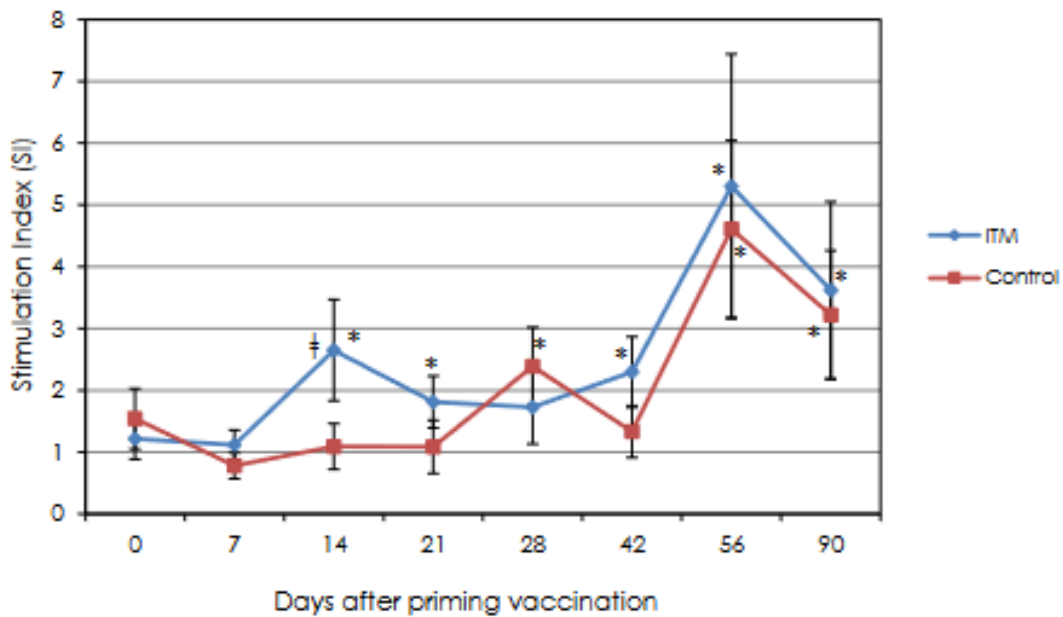


Figure 9: Prolifération cellulaire en réponse à une stimulation au BVDV (Palomares et al, 2016)

Cette étude suggère qu'il serait intéressant d'associer une complémentation en oligo-éléments des veaux au moment de la vaccination, pour renforcer la réponse immunitaire à la fois cellulaire et humorale, tout en prévenant les carences.

Cependant, dans le contexte particulier des entérites néonatales, la protection du veau doit être effective beaucoup plus tôt dans la vie, bien avant qu'il puisse produire ses propres anticorps. Il est, dans ce cas précis, dépendant des anticorps

maternels apportés par le colostrum. Toutes les études citées précédemment s'intéressent à l'effet de la complémentation sur la réponse vaccinale du veau lui-même, mais il serait intéressant de savoir si les mêmes résultats sont observables en supplémentant les mères, et surtout si l'effet de cette supplémentation a effectivement une répercussion sur le veau par la suite.

Dans une étude extrêmement récente, exposée au congrès des GTV 2022, Geollet et al. ont examiné l'intérêt de la supplémentation en oligo-éléments sur la réponse immunitaire humorale des vaches à la vaccination contre le rotavirus et le coronavirus. Ils ont également mesuré la réponse anticorps chez les veaux nés des mères supplémentées. Cet essai s'est déroulé dans l'Ouest de la France. Ont été inclus 7 troupeaux laitiers, soit 138 vaches gravides. Les rations et leur composition minérale ont été analysées : elles correspondent toutes aux recommandations actuelles, il n'y avait pas de carence au moment de l'inclusion dans l'étude. Un échantillon d'animaux prélevé dans chaque élevage a permis la mesure du niveau minéral (dans les normes), du statut de l'équilibre oxydatif ainsi que de la capacité antioxydante plasmatique. Tous les animaux ont été vaccinés 7 à 6 semaines avant la date de vêlage estimée avec un vaccin multivalent contenant rotavirus, coronavirus, ainsi que *E. coli* F5. Au moment de la vaccination, les animaux ont été répartis aléatoirement entre un groupe témoin, et un groupe traité, où une solution d'oligo-éléments a été injectée par voie parentérale. Le statut immunitaire des animaux vis-à-vis des trois antigènes a été mesuré le jour de la vaccination (J0), puis à J21 et J28. Le statut immunitaire des veaux nouveau-nés a ensuite été évalué entre 2 et 7 jours après la naissance.

Les résultats de cette étude sont les suivants : le taux d'anticorps des veaux est meilleur pour les virus, et significativement meilleur pour *E. coli* chez les veaux par rapport à leur mère. Dans le groupe supplémenté, les vaches avaient tendance à une meilleure conversion de la réponse vis-à-vis du rotavirus. Il a également été montré que pour les veaux issus de vaches non supplémentées, le stress oxydatif de leur mère tend à dégrader leur taux d'anticorps spécifiques du rotavirus par comparaison aux veaux nés de mères traitées. La **figure 10** ci-dessous présente le statut sérologique des veaux contre le rotavirus en fonction de l'indice de stress oxydatif de leur mère au moment de la vaccination. Le groupe traité est en bleu, le groupe contrôle en rouge.

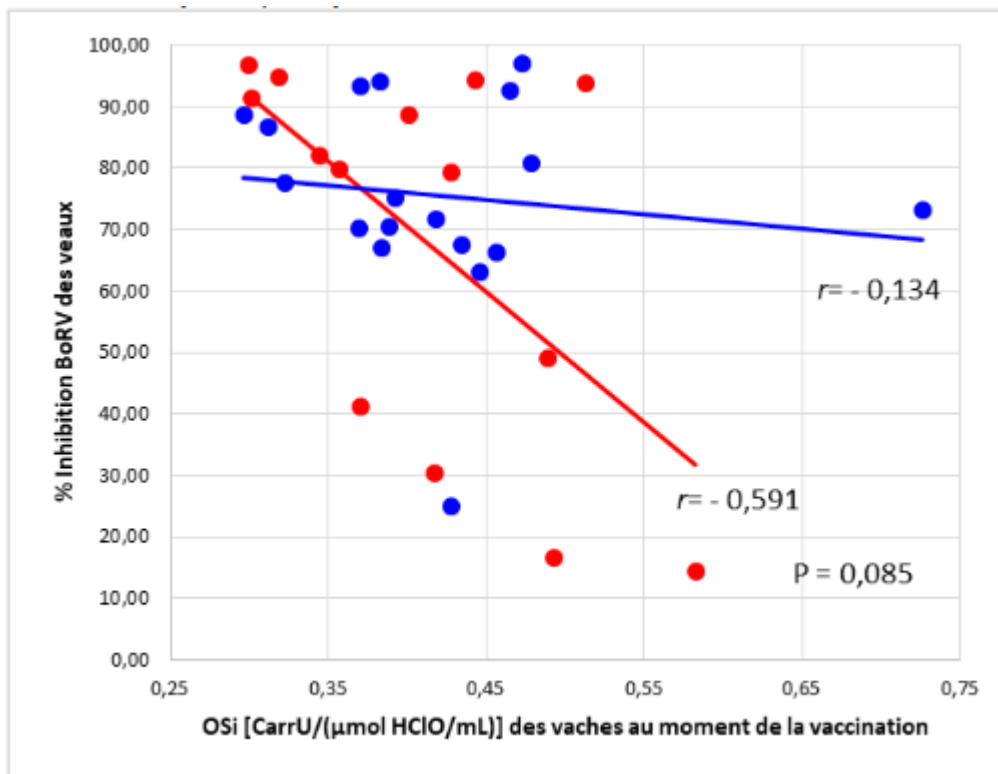


Figure 10: Statut sérologique des veaux contre le rotavirus en fonction de l'indice de stress oxydatif de leur mère (Geollot and al, 2022)

Ainsi, il semblerait que la complémentation en oligo-éléments des veaux, mais aussi de leurs mères, puisse améliorer la réponse immunitaire des animaux, ainsi que l'efficacité vaccinale, à condition bien sûr que la distribution du colostrum soit réalisée de manière optimale.

II. Partie 2 : étude expérimentale

1) Contexte et motivation de l'étude

Les entérites néonatales ont un impact majeur en élevage bovin. Leur traitement est difficile. De nombreux agents pathogènes peuvent intervenir, rendant la prévention de cette affection multifactorielle, parfois complexe. Elle passe par la qualité du transfert colostrale au veau, car il est quasiment dépourvu d'anticorps à la naissance, bien que son système immunitaire soit pleinement fonctionnel. Il est désormais bien connu que l'échec du transfert de l'immunité passive augmente la mortalité des veaux durant la période néonatale, en augmentant la réceptivité et la sensibilité aux entéropathogènes.

L'actualité récente, avec la pandémie de SARS-CoV2, a relancé l'intérêt de la communauté scientifique pour les coronavirus, bien que le coronavirus bovin soit connu de longue date. Les études récentes en médecine humaine montrent que l'immunité cellulaire occupe un rôle déterminant dans la lutte contre cette infection (Combadière, 2020), mais cette réponse n'a été que très peu étudiée chez les bovins. Grâce aux avancées récentes en immunologie et aux nouvelles méthodes d'analyse, il a été montré que les leucocytes maternels peuvent passer dans le système circulatoire du veau et y rester détectables pendant environ 36 heures avant de se localiser dans les organes lymphoïdes secondaires. Ces leucocytes auraient une action de stimulation du système immunitaire du veau, et pourraient donc jouer un rôle non négligeable dans la qualité des réponses immunitaires.

La réponse anticorps lors de la vaccination contre le BCoV est bien décrite. Cependant, dans le contexte cité précédemment, il pourrait être intéressant de stimuler à la fois la voie humorale et la voie cellulaire par la vaccination. Cette dernière est particulièrement bien stimulée lors de l'emploi d'un vaccin vivant, mais ces vaccins ont des inconvénients, ce qui conduit à préférer des vaccins tués. En France, seuls des vaccins inactivés sont utilisés dans le cadre de la vaccination contre les entérites du veau. Ils nécessitent parfois plusieurs injections pour permettre la stimulation régulière de la réponse mémoire. Les adjuvants utilisés dans ces vaccins peuvent cependant avoir une influence sur le type de réponse immunitaire induite et ce d'autant plus que l'organisme est naïf vis-à-vis de l'antigène d'immunisation.

Il a également été démontré que la carence de certains oligo-éléments, comme le sélénium par exemple, connu pour ses propriétés antioxydantes, entraînent une moindre activité des fonctions immunitaires, et donc de la réponse à la vaccination. En conséquence, une diminution de l'efficacité du transfert des anticorps est prévisible.

Le but de cette étude est d'étudier l'intérêt d'une complémentation en oligo-éléments par voie injectable sur l'efficacité de la réponse vaccinale contre les entéropathogènes du veau et le transfert de l'immunité passive. La réponse entre les deux conditions sera évaluée par comparaison avec celle d'un vaccin tiers.

2) Matériels et méthodes

a. Animaux

Les animaux appartiennent à un élevage de vaches laitières de race Prim-Holstein, localisé en Espagne, en Catalogne au nord de Gérone, proche de Figueras. De manière à standardiser les manipulations et limiter les facteurs extérieurs de variabilité de la réponse immunitaire, la ration des vaches ainsi que leur complémentation en oligo-éléments est contrôlée.

Dans cet élevage, toutes les vaches sont vaccinées contre les entérites néonatales avant la mise-bas à l'aide du vaccin BOVIGEN SCOUR®. Pour s'affranchir de cette vaccination chez les vaches, ainsi que pour avoir des animaux les plus naïfs possible par rapport au rotavirus, coronavirus, et *E.coli* F5, l'étude a été réalisée chez des génisses.

Une étude préalable du statut sérologique a été réalisée au préalable. Des prélèvements de sang sont effectués sur 179 génisses confirmées gravides, afin de doser les anticorps sériques spécifiques contre *E. coli* F5, rotavirus et coronavirus. La priorité a été donnée aux génisses avec un taux en anticorps dirigés contre le rotavirus le plus faible possible. En effet, les sérologies pour le coronavirus étaient rarement négatives, et les taux d'anticorps parfois très élevés. Les vaches ayant un statut sérologique vis-à-vis de BRV inférieur au seuil d'inhibition de 25% sont incluses dans l'étude. Le statut vis-à-vis du coronavirus est très variable, et n'est pas discriminant. Les vaches sont ensuite classées en fonction de leur date de vêlage, permettant d'organiser 4 vagues de prélèvements. Il n'était en effet pas possible de regrouper la

totalité des vaches sur une même période, les dates de vêlage étant trop dispersées pour respecter un écart vaccination-vêlage recommandé de 6 à 13 semaines.

Quarante-huit génisses sont sélectionnées puis réparties de manière randomisée pour former 4 groupes de 12 vaches :

- Un groupe témoin, non vacciné (CTL)
- Un groupe vacciné au moins 6 semaines avant vêlage avec BOVIGEN SCOUR® (BS)
- Un groupe vacciné au moins 6 semaines avant vêlage avec BOVILIS ROTAVEC CORONA® (RC)
- Un groupe vacciné au moins 6 semaines avant vêlage avec BOVIGEN SCOUR® et recevant une injection de MULTIMIN™ le jour du vaccin (BS-MN)

Cinq vaches ont été exclues de l'étude : trois d'entre elles avaient déjà été vaccinées à la date de l'intervention, et deux étaient absentes car mortes avant la date de l'intervention.

Afin de suivre la transmission de l'immunité de la mère au veau, dix veaux sont sélectionnés et inclus dans cette étude. Ils sont nés de 9 mères primipares vaccinées avec BOVIGEN SCOUR®. Ils ont été séparés de leur mère à la naissance et placés dans des box individuels permettant le contact visuel avec leurs voisins. Les box sont préparés avec une litière de copeaux propre au moment de la mise-bas. Chaque veau reçoit systématiquement 2,5 à 3L de colostrum de sa mère par sondage œsophagien dans les heures suivant sa naissance.

b. Description des vaccins

Dans cette étude, deux vaccins multivalents sont utilisés. Ils sont tous les deux destinés à immuniser les vaches et les génisses et entraînent « une immunisation active afin de produire des anticorps contre l'adhésine d'*E.coli* F5, les rotavirus et les coronavirus ». Il est également stipulé dans les deux résumés des caractéristiques du produit (RCP) que ces vaccins permettent une réduction de la sévérité de la diarrhée néonatale causée par ces agents pathogènes lorsque les veaux reçoivent le colostrum de mères vaccinées. Les caractéristiques spécifiques de chacun de ces vaccins sont décrites dans le **tableau 11** suivant :

Tableau 11: Caractéristiques des vaccins utilisés dans l'étude

Nom déposé (laboratoire)	Valences utilisées			Adjuvant(s)
	Rotavirus	Coronavirus	<i>E.coli</i>	
BOVIGEN SCOUR (Virbac)	Souche TM-91, sérotype G6P[1]	Souche C-197	Souche EC/17 exprimant l'adhésine F5 (K99)	Montanide™ ISA 206 VG
BOVILIS ROTAVEC CORONA® (MSD Santé Animale)	Souche UK-Compton, sérotype G6P[5]	Souche Mebus	Adhésine <i>E.coli</i> F5 (K99)	- Huile minérale légère (émulsifiant) - Hydroxyde d'aluminium

Les valences des vaccins sont les mêmes, mais les souches diffèrent. La distinction majeure se fait entre les types d'adjuvants utilisés. Le BOVIGEN SCOUR® est une émulsion « eau dans huile », avec une huile minérale. Le BOVILIS ROTAVEC CORONA®, quant à lui, contient de l'hydroxyde d'aluminium et une huile minérale dont la nature n'est pas précisée. L'effet de ces adjuvants sur le type et l'efficacité de la réponse immunitaire induite par la vaccination sera évalué dans une autre étude.

Les protocoles vaccinaux recommandés par les RCP sont très proches :

- Une dose de 3 mL à administrer par voie intramusculaire entre la 12^{ème} et la 3^{ème} semaine avant la mise bas pour le BOVIGEN SCOUR®.
- Une dose de 2 mL à administrer par voie intramusculaire entre la 12^{ème} et la 3^{ème} semaine avant la mise bas pour le BOVILIS ROTAVEC CORONA®.

Dans le cadre de cette étude, le protocole envisageait l'administration d'une dose de l'un ou l'autre des vaccins, environ 6 semaines avant la date prévue du vêlage, en tenant compte des recommandations du fabricant comme indiquées dans le RCP.

c. Complémentation oligo-minérale

Le MULTIMIN™ est une solution injectable pour bovins de 4 oligo-éléments : sélénium, manganèse, cuivre et zinc. Il a pour objectif de corriger les manifestations cliniques ou subcliniques des carences associées à ces éléments pouvant survenir dans les phases critiques des cycles d'élevage. Le MULTIMIN™ a la composition suivante :

Tableau 12 : Composition d'un mL de MULTIMIN™

Zinc	Manganèse	Cuivre	Sélénium
60 mg	10 mg	15 mg	5 mg
Forme d'oxyde	Forme de carbonate	Forme de carbonate	Forme de sélénite de sodium

Les excipients utilisés sont l'alcool benzylique, l'acide édétique, l'hydroxyde de sodium ainsi que de l'eau pour préparation injectable. Le MULTIMIN™ doit être administré par voie sous-cutanée stricte, à une posologie dépendant de l'âge du bovin selon le schéma d'administration suivant :

Tableau 13 : Posologie du MULTIMIN™ selon l'âge du bovin traité

Age (année) Volume (mL)	Jusqu'à un an 1 pour 50 kg	De un à deux ans 1 pour 75 kg	Plus de deux ans 1 pour 100 kg
----------------------------	-------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------

« Une administration unique est à réaliser, pendant ou en prévision de périodes de stress en cours de production ou en période de reproduction, susceptibles d'induire des carences cliniques ou subcliniques associées en zinc, manganèse, cuivre et sélénium (par exemple lors de transport, vêlage, mise à la reproduction) ».

Dans le cadre de cette étude, le MULTIMIN™ a été administré aux vaches du groupe en question avec une injection sous-cutanée à la dose de 1 mL pour 100 kg avec un maximum de 7 mL par site au même moment que la vaccination avec BS.

d. Echantillons

i. Nature des échantillons

Tous les échantillons sanguins sont prélevés à la veine jugulaire des animaux, à l'aide d'un montage composé d'une aiguille 20G, d'une tubulure, d'un robinet 3 voies et d'une seringue de 10 mL. La totalité du montage est préalablement traité avec une solution héparinée, permettant ainsi de procéder au remplissage d'un grand nombre de tubes sans coagulation. Le robinet 3 voies reçoit également un adaptateur permettant le branchement de tubes S-Monovette®. Lors du prélèvement, la seringue de 10 mL est remplie, puis le robinet 3 voies est orienté de manière à faire circuler le sang dans les tubes S-Monovette®, branchés successivement sur l'adaptateur.

Pour les veaux, les tubes S-Monovette sont directement connectés à l'aide de l'adaptateur sur une aiguille 20G, puis remplis successivement à la veine jugulaire du veau. L'ensemble des tubes secs est rempli à l'aide de corps de prélèvement de type Vacutainer®, montés à l'aide d'aiguilles 20G. Au total, un grand nombre d'échantillons sanguins sont prélevés, présentés dans le **tableau 14** ci-dessous :

Tableau 14: Ensemble des échantillons sanguins prélevés lors de l'étude

Population	Date de prélèvement	Mode de prélèvement	Nature de l'échantillon	Analyse réalisée
Vaches	T0 : avant vaccination, vêlage – 6 semaines	Tube sec 5 mL	Sérum	Dosage des anticorps spécifiques
		Tube S-Monovette® héparine de sodium 7,5 mL	Plasma	Profil oligo-éléments
		4 tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL	Sérum	Dosage de l'activité cellulaire
	T0 + 28 jours	Tube sec 5 mL	Sérum	Dosage des anticorps spécifiques
		4 tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL	Sérum	Dosage de l'activité cellulaire
		Tube sec avec gel 10 mL	Sérum	Séroneutralisation du rotavirus
Veaux	Vêlage + 24-36 heures	Tube sec 5 mL	Sérum	Dosage des anticorps spécifiques, IgG totales, γ -GT
		4 tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL	Sérum	Dosage de l'activité cellulaire

Sont également prélevés des échantillons de colostrum, par les techniciens de l'élevage juste après la mise bas. Ces échantillons sont identifiés à la main avec le numéro de travail de l'animal concerné, et placés à -20°C en attendant d'être collectés.

Le dosage des anticorps spécifiques *E. coli* F5, rotavirus et coronavirus sont effectués avant et après la vaccination, de manière à mettre en évidence la séroconversion des mères suite à l'administration des vaccins, et à mesurer son amplitude.

Les tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL contiennent chacun un milieu différent. Ces conditions de stimulation sanguine sont utilisées pour l'évaluation de l'activité cellulaire via la production cytokinique. A chaque date de prélèvement, les seringues sont systématiquement remplies dans l'ordre suivant :

- 1 : témoin négatif, milieu seul
- 2 : peptides synthétiques de la protéine VP7 du rotavirus sérotype [G6]
- 3 : peptides synthétiques de la protéine S du coronavirus bovin
- 4 : témoin positif de la réponse cellulaire, concanavaline A

Les prélèvements effectués chez les veaux permettent le dosage des γ -GT et IgG totales, et donc l'évaluation de la qualité du transfert de l'immunité colostrale. L'évaluation de l'activité cellulaire est réalisée dans les mêmes conditions que pour les vaches.

ii. Conservation et transport

Le transport des échantillons est réalisé dans les heures suivant le prélèvement. Un incubateur Stuart SBH130D/3, branché sur la batterie du véhicule, permet l'incubation à 38,5°C des tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL. Les tubes S-Monovette® héparine de sodium 7,5 mL et les tubes secs 5 et 10 mL sont, quant à eux, transportés à température ambiante. La durée de transport est d'environ 3 heures. Après conditionnement et vérification de l'identification, tous les échantillons sont conservés à -80° jusqu'à leur analyse.

iii. Préparation et conditionnement

Après transport, les tubes secs 5 et 10 mL, ainsi que les tubes S-Monovette® héparine de sodium 7,5 mL sont placés à 4°C durant 24h. Les tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL, quant à eux, sont incubés pour une durée totale de l'intervalle prélèvement-conservation de 24 heures à 38,5°C.

Les échantillons de sang sont conditionnés 24 heures après prélèvement. Ils sont centrifugés durant 20 minutes à une vitesse de 2500 tours/minute, et à une température de 4°C. Ils sont ensuite conditionnés comme détaillé dans le **tableau 15**:

Tableau 15: Conditionnement des échantillons sanguins de l'étude

Echantillon	Conditionnement	Volume prélevé	Outil utilisé
Tube sec 5 mL : sérum	Plaque 96 puits	1 mL	Micropipette p 1000
Tube sec 10 mL : sérum	Tubes à hémolyse 5 mL	2 mL	Pipette Pasteur
Tube S-Monovette® héparine de sodium 7,5 mL : plasma	Microtubes 1,5 mL	2 x 1 mL	Pipette Pasteur
Tubes S-Monovette® héparine de lithium 1,2 mL : sérum	Plaque 96 puits	2 x 600µL	Micropipette p 1000

e. Méthode d'analyse

Les anticorps sont dosés à l'aide de la technique d'Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay, ou ELISA, permettant la détection et la quantification de diverses molécules, notamment les peptides, les protéines et les anticorps. Cette technique permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction provoquée par l'action d'une enzyme sur un substrat coloré au préalable avec un marqueur fluorescent. Il existe 4 méthodes d'ELISA. La méthode directe consiste à faire réagir des anticorps couplés à une enzyme sur un antigène connu, puis à l'application de substrat. Avec la méthode indirecte, ce sont des anticorps secondaires couplés à l'enzyme qui se fixent sur des anticorps primaires eux-mêmes fixés sur l'antigène.

L'ELISA en sandwich permet la détection d'un antigène dans un échantillon, et la dernière méthode se fait par compétition de liaison. Le substrat est converti par l'enzyme de manière à émettre un signal fluorescent, permettant la quantification du résultat par spectrophotométrie.

Les réponses cellulaires sont mesurées à l'aide d'un test multiplexe, le Bovine Milliplex de Merck-Millipore qui permet de faire des kits personnalisables en fonction des cytokines que l'on souhaite rechercher. Ce test fonctionne à l'aide de la technologie Luminex xMAP, qui permet l'analyse simultanée de 15 cytokines et chimiokines dans le sérum et le plasma bovin, ou à partir d'échantillons de culture cellulaire. Cette technologie couple la technique ELISA sandwich à la cytométrie en flux, permettant la caractérisation de particules en suspension dans un liquide. En effet, là où, dans le cadre d'un ELISA classique, les anticorps sont uniformément fixés sur le fond d'une plaque, ils sont ici répartis sur des microbilles de polystyrène qui restent en suspension dans la solution. Les billes peuvent donc être recouvertes de différents types d'anticorps, qui vont fixer divers antigènes au sein de la même solution. Des anticorps de détection, marqués à l'aide d'un colorant fluorescent, sont ajoutés dans la solution et incubés avec celle-ci. Chaque bille est différenciée par un colorant unique allant du rouge à l'infrarouge, permettant sa caractérisation par la cytométrie en flux : un laser rouge est utilisé pour détecter la microbille, pendant qu'un laser vert mesure la fluorescence des anticorps de détection, permettant une mesure qualitative et quantitative des cytokines présentes dans la solution.

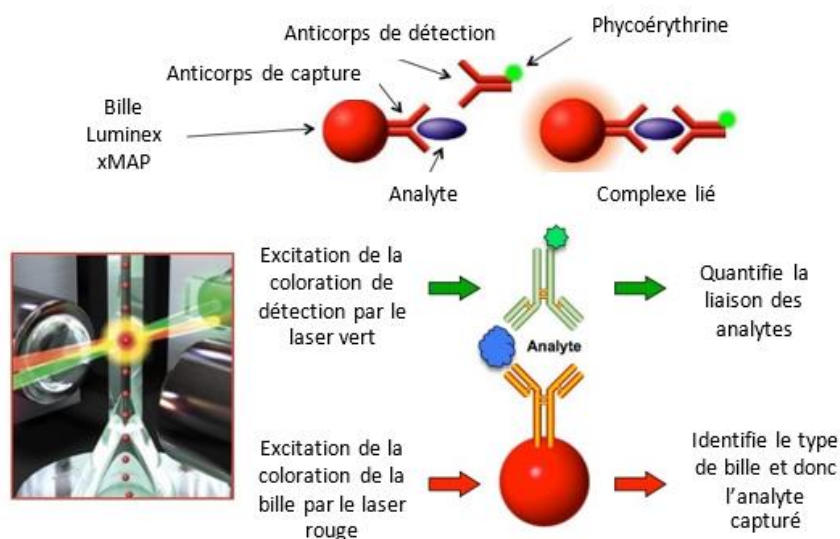


Figure 11: schéma explicatif de la technologie Luminex xMAP (d'après PennState)

f. Analyse statistique des données

Les analyses statistiques ont été réalisées à partir d'un test de Student, aussi appelé distribution t, qui est un test permettant de comparer les moyennes de deux groupes, ou d'un groupe par rapport à une valeur standard, et de vérifier que les différences sont statistiquement significatives. Il s'agit d'un test basé sur une loi de probabilité appelée loi de Student. Dans cette étude, les résultats étaient considérés comme significatifs lorsque la valeur p, ou p-value, est inférieure à 0,05.

Les autres résultats, nécessitant une analyse factorielle multiple, ont été analysés à l'aide de méthode PLS-DA (Partial Least-Squares Discriminant Analysis), ou analyse discriminante par les moindres carrés partiels. Elle permet une analyse lorsqu'un grand nombre de variables sont explicatives, en cherchant lesquelles différencient les groupes et en ayant une idée de leur « poids » dans le résultat final, c'est-à-dire de leur importance finale dans l'analyse.

3) Résultats

a. Statut sérologique au moment du recrutement

Le statut sérologique des vaches avant la vaccination vis-à-vis de BRV, BCoV et *E. coli* F5 est présenté puisqu'il était un critère déterminant l'inclusion ou non des vaches dans l'étude. Il est aussi important de vérifier l'absence de différences préalable à la vaccination entre les groupes afin de permettre l'interprétation ultérieure des résultats.

La **figure 12** présente les résultats de l'analyse sérologique vis-à-vis d'*E. coli* F5 pour les quatre groupes après affectation aléatoire des vaches (RC, BS, CTL et BS-MN). Les valeurs observées, exprimées en pourcentage d'inhibition (%Inh) sont faibles et inférieurs à 20%. Ce résultat indique qu'au moment du recrutement, les vaches ont des titres anticorps très faibles vis-à-vis de cet antigène. L'analyse sérologique des résultats de la sérologie *E. coli* indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les groupes.

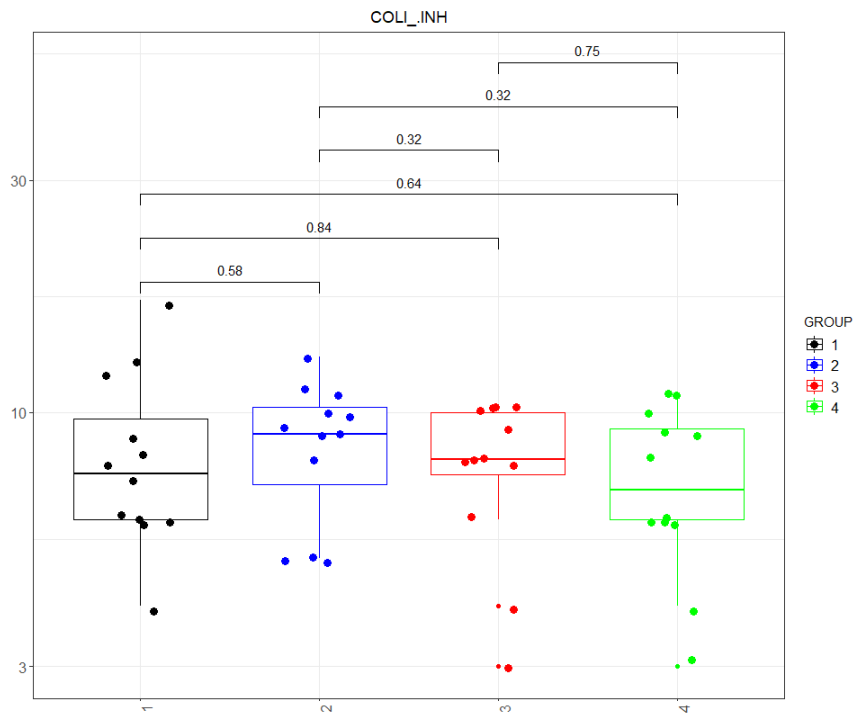


Figure 12: Analyse statistique des résultats de la sérologie *E. coli* F5

Sur cette figure, sous forme de diagramme en boîte, figurent les médianes, les premiers et troisièmes quartiles ainsi que les minima et maxima pour chacun des quatre groupes. Les faibles différences de la valeur moyenne entre chacun de ces groupes ne sont pas significatives, toutes les p-valeurs étant supérieures à 0,05. Les groupes sont donc homogènes sur ce critère. Les **figures 13** et **14** présentent les mêmes types de résultats et conduisent aux mêmes conclusions pour les réponses sérologiques vis-à-vis du BRV et du BCoV.

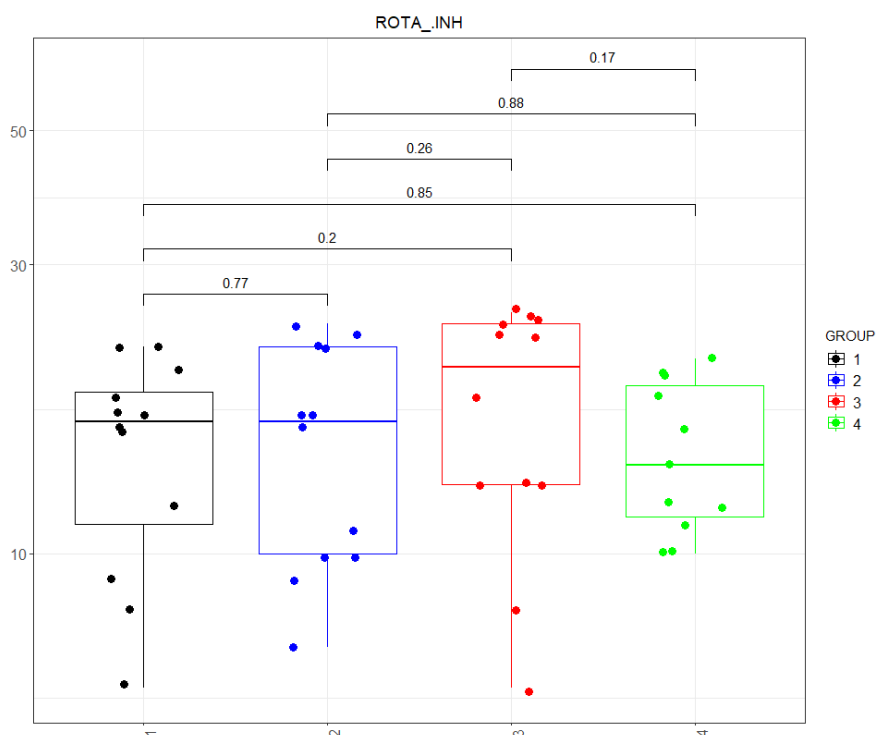


Figure 13: Analyse statistique des résultats de la sérologie BRV

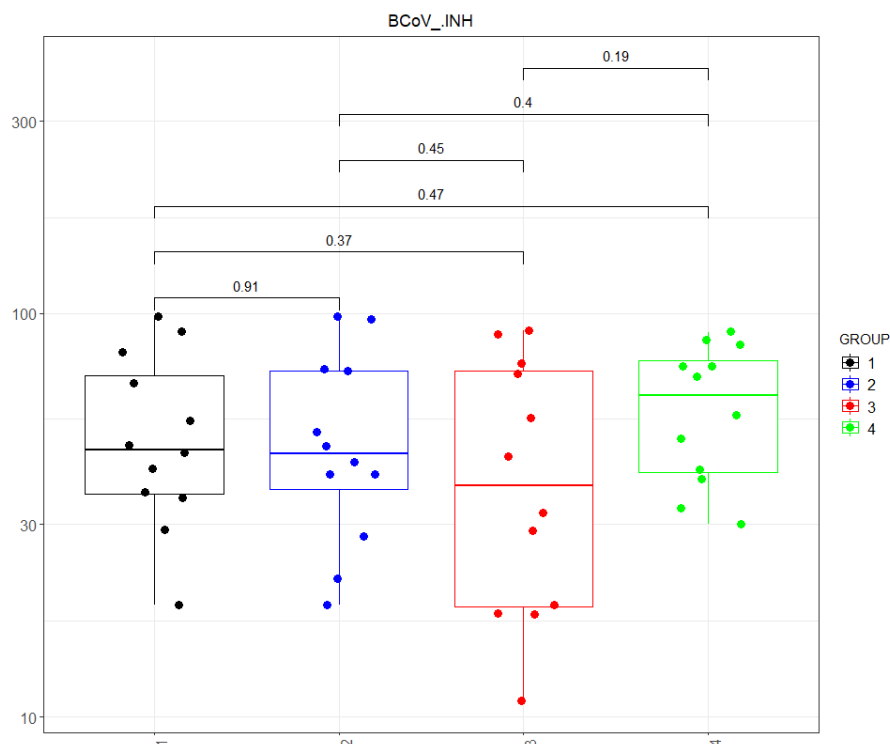


Figure 14: Analyse statistique des résultats de la sérologie BCoV

Les résultats des analyses sérologiques montrent donc que les quatre groupes sont homogènes. La réponse sérologique des vaches est variable vis-à-vis de rotavirus (seuil d'inclusion des vaches pour un %inh < 25%). Les statuts sérologiques vis-à-vis du coronavirus sont très variables, suggérant une exposition préalable au coronavirus au sein de l'élevage : les vaches ne sont donc pas naïves vis-à-vis de cet agent.

La réponse cellulaire vis-à-vis d'antigènes particuliers des deux virus a ensuite été mesurée. En premier lieu, l'effet de la stimulation par les antigènes sur la réponse cellulaire est observé, afin de définir les cytokines et chimiokines d'intérêt pour la suite des analyses. Ainsi, le **tableau 16** présente l'intensité de la sécrétion de 9 cytokines et chimiokines en fonction du ligand utilisé pour la stimulation (spécifique du rotavirus, du coronavirus, ou pour la Concanavoline A). La Concanavoline A est le témoin positif, car elle est capable d'activer une grande proportion des lymphocytes (au moins 10-15%) induisant ainsi la production de cytokines.

Tableau 16: Intensité de la sécrétion de cytokines en fonction du ligand utilisé

D0	RotaV	CoronaV	ConA
IFN γ		+++	+++
CXCL10		++	+++
IL8		0,079	++
IL17a		+++	+++
IL1b			++
IL1RA		+	+
CCL2	++	++	+
CCL3		++	+++
CCL4	0,069	++	+++

La stimulation par la ConA augmente significativement la sécrétion d'IL8 (pour lequel CoronaV a également une tendance) et d'IL1b. Les ligands BCoV et ConA augmentent tous les deux significativement les sécrétions d'IFN γ , CXCL10, IL17A, IL1RA, CCL2, CCL3 et CCL4. On observe que le ligand BRV augmente significativement la sécrétion par les cellules de CCL2, avec une tendance pour le CCL4.

Chaque ligand a donc un profil cytokinique particulier, et les 9 cytokines ainsi identifiées sont celles sur lesquelles les analyses s'appuieront par la suite.

La réponse cellulaire des groupes avant vaccination a ensuite été évaluée, pour les 9 cytokines et chimiokines sélectionnées précédemment.

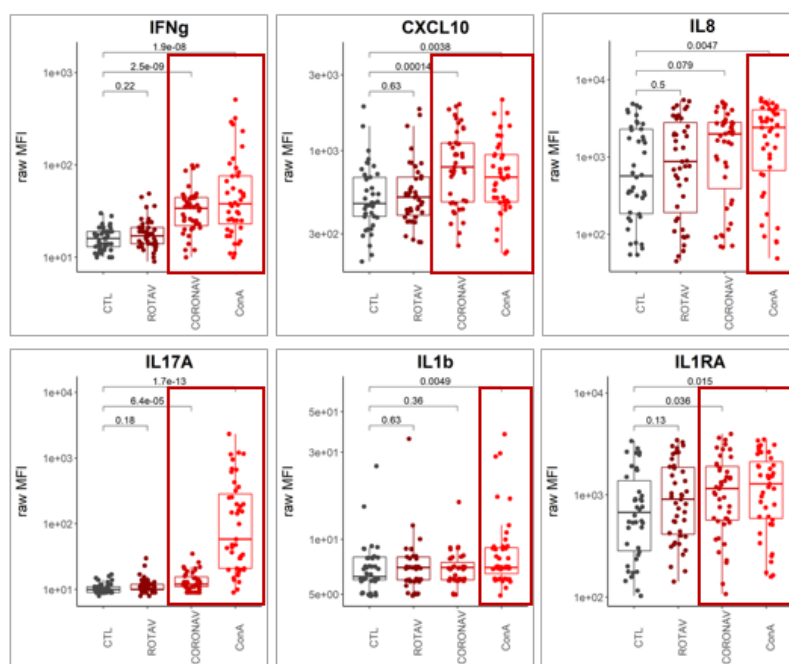


Figure 15: Réponse cellulaire des vaches avant vaccination, en fonction des ligands

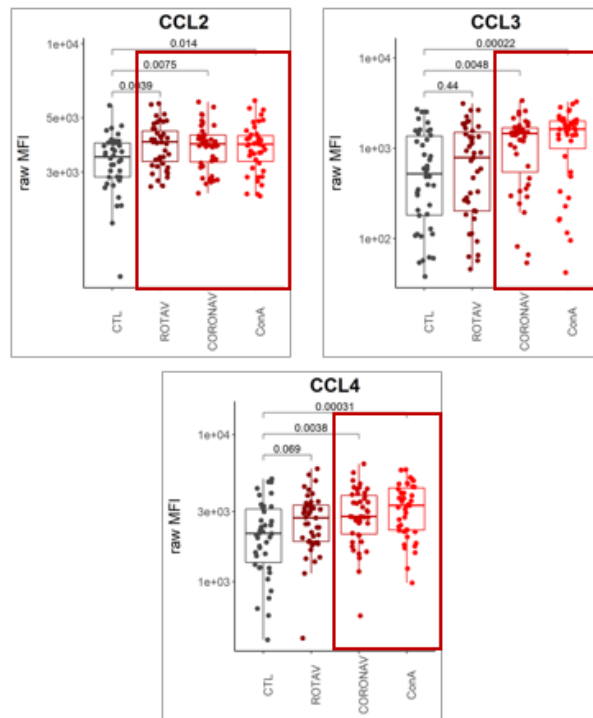


Figure 15: Réponse cellulaire des vaches avant vaccination, en fonction des ligands

La **figure 15** permet d'observer l'effet des différents ligands sur la réponse cellulaire, pour toutes les vaches de l'étude. Les réponses à la Concanavoline A sont toujours significativement différentes du groupe contrôle, ce qui signifie que le témoin positif fonctionne. On observe également que les réponses au ligand CoronaV sont significativement différentes pour toutes les cytokines stimulées par celui-ci (**tableau 16**). La stimulation sanguine avec les peptides chevauchants couvrant la protéine Spike du BCoV est donc capable de mettre en évidence une activité de sécrétion de cytokine. Cela signifie qu'une réponse cellulaire est détectée chez les vaches vis-à-vis du BCoV. Deux explications sont possibles : soit les vaches possèdent une réponse mémoire vis-à-vis de la protéine Spike du coronavirus, soit il y a de nombreuses réactions croisées, comme l'indiquait déjà la détection de titres anticorps élevés. Il est vraisemblable que les vaches ne sont pas naïves vis-à-vis du virus, qui les a déjà infectées. Ces observations sont donc cohérentes entre elles et montrent donc que les vaches ont des réponses cellulaires et humorales à l'égard de BCoV. Cette observation doit être prise en compte dans la suite des analyses.

Nous avons ensuite vérifié que la réponse cellulaire des différents groupes de vache était homogène (**figure 16**).

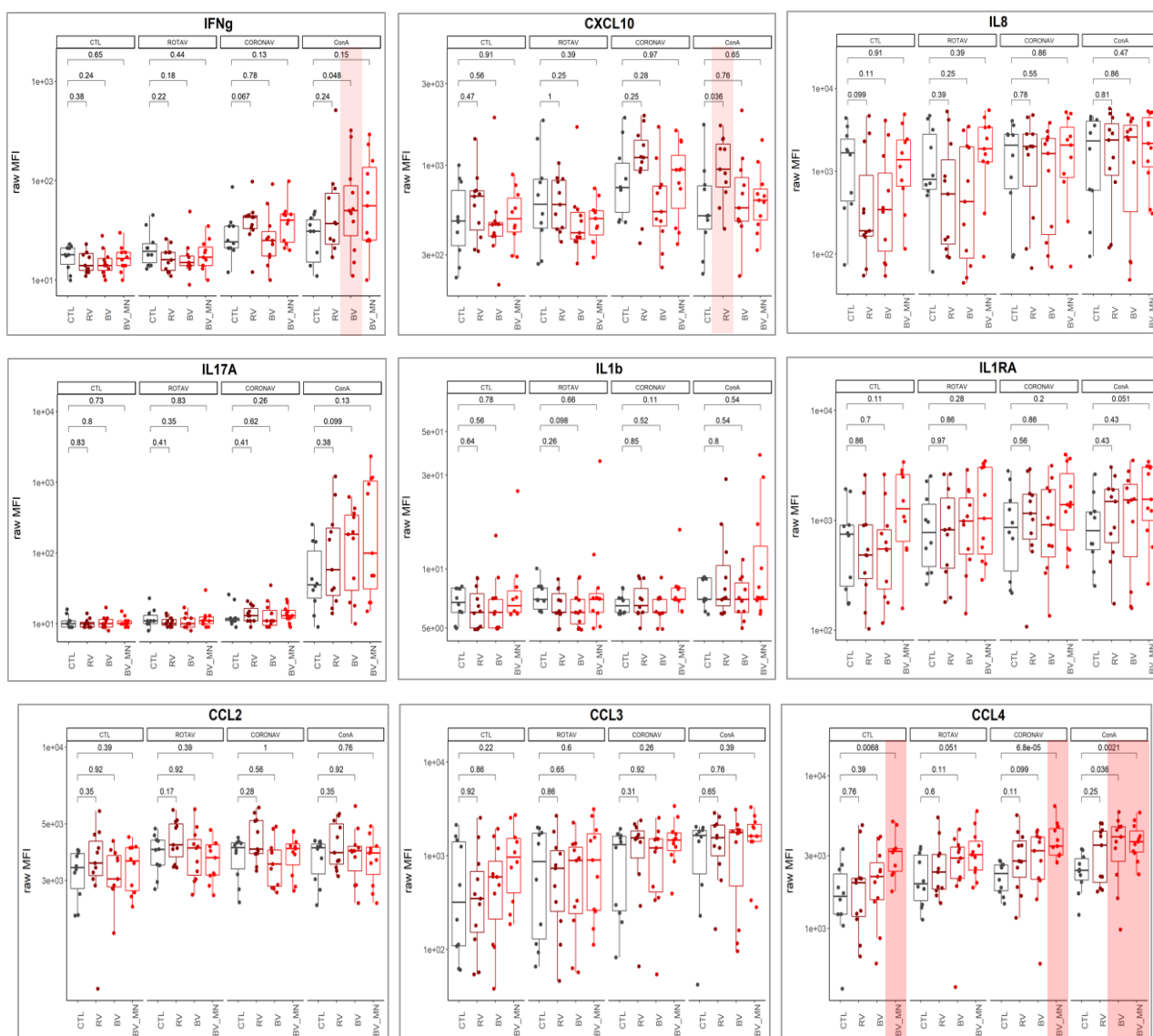


Figure 16: Réponse cellulaire des groupes avant vaccination

Cette figure synthétique présente, pour chaque cytokine et chimiokine d'intérêt, la réponse cellulaire de chaque groupe (CTL, BS, BS-MN et RC) pour chacun des ligands présents dans les monovettes (CTL, RotaV, CoronaV, ConA). Les réponses des différents groupes de vaches sont homogènes, avec la même intensité de réponse cellulaire avant vaccination. Cela permet de s'assurer qu'il n'y a pas de différence de réponse après stimulation entre les groupes avant même la vaccination.

On observe cependant une différence significative des groupes vaccinés par rapport au groupe témoin à J0, dans les cas suivants :

- Le groupe BV pour l'INF γ et la CCL4 après stimulation avec ConA
- Le groupe RV pour CXCL10 avec le ligand ConA
- Le groupe BV-MN pour CCL4 avec les conditions CoronaV et ConA

Ces différences sont majoritairement observées avec le ligand ConA, qui sert de témoin positif d'activation des cellules sanguines dans l'essai. Il est possible que les réponses au BCoV et BRV ne soient pas affectées de la même façon.

On peut également noter une grande variabilité des productions de cytokines au sein des groupes eux-mêmes : les diagrammes en boîte sont très étalés, avec des vaches qui sécrètent très peu de cytokines, alors que d'autres en sécrètent jusqu'à 100 fois plus. Ces différences très fortes entre les animaux sont prises en compte dans l'analyse : pour rechercher le lien avec un des facteurs expérimentaux, ou pour s'en affranchir dans l'analyse statistique.

b. Réponse anticorps à la vaccination

La réponse humorale a été mesurée à J0 et J28, et est présentée pour chacun des 4 groupes de vaches dans la **figure 17** ci-dessous.

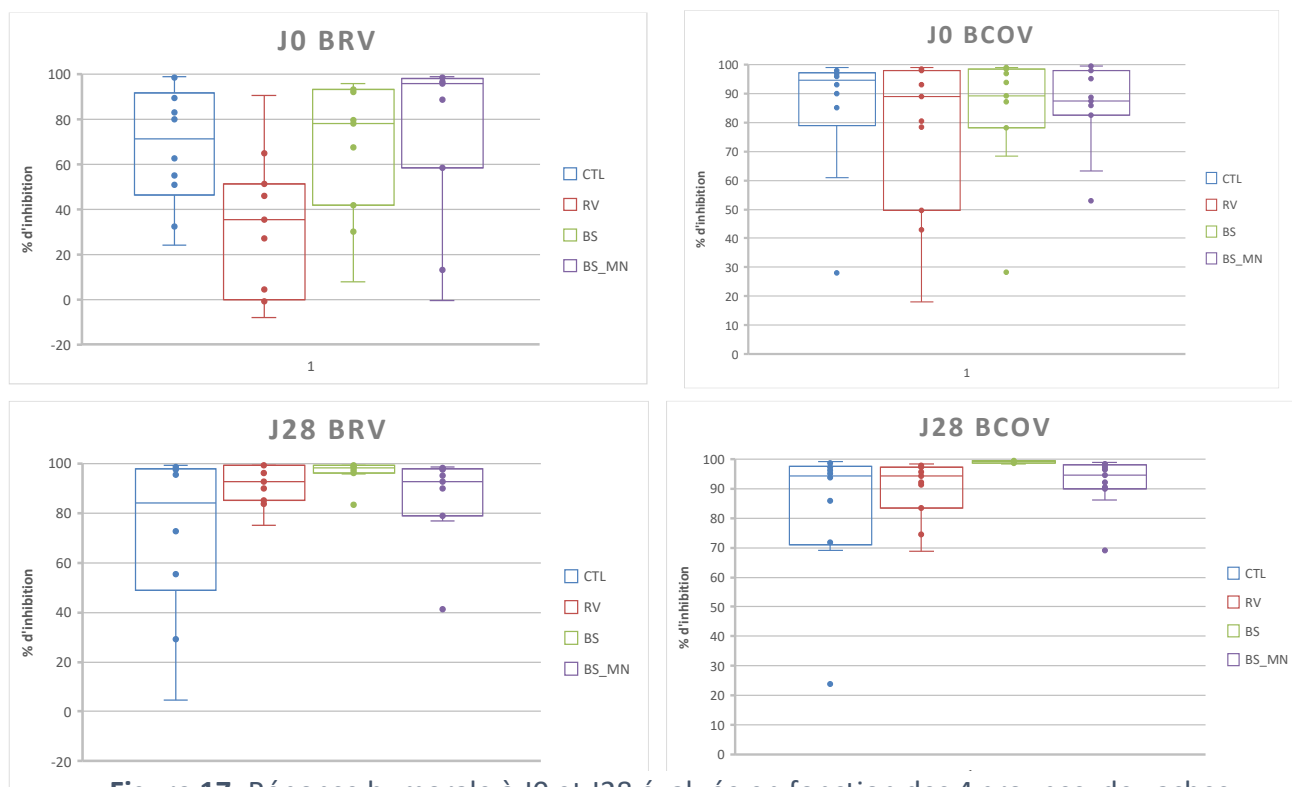


Figure 17: Réponse humorale à J0 et J28 évaluée en fonction des 4 groupes de vaches

Sur ces diagrammes en boîte, les ordonnées correspondent aux pourcentages d'inhibition et les abscisses aux 4 groupes de vaches. A J0, on peut observer que les % d'inhibition sont bien supérieurs à ceux présentés en **figures 13 et 14** (page 76-77), en particulier pour le rotavirus. Le choix d'inclusion des vaches dans l'étude reposait en effet sur un % d'inhibition inférieur à 25. Il atteint ici jusqu'à 100% selon les vaches. Ces résultats pourraient être la conséquence d'une grande variation analytique, qui reste à vérifier, ou seraient témoins d'un passage de rotavirus dans l'élevage, ayant provoqué une réponse anticorps chez les vaches. Les résultats vis-à-vis du coronavirus restent semblables aux conditions initiales, avec des statuts très variables. Les 4 groupes de vaches semblent donc moins homogènes que prévu dans les conditions préalables à l'expérimentation.

On remarque ensuite que les diagrammes sont moins étendus à J28 qu'à J0 : les minima sont situés au-dessus de 70% d'inhibition pour tous les groupes, à l'exception du groupe contrôle qui, lui, n'a que peu varié. Les groupes vaccinés possèdent visiblement plus d'anticorps que les groupes contrôles, et ces résultats sont similaires pour le BRV et le BCoV. Les vaches avec un % d'inhibition assez faible à J0 produisent des anticorps en bien plus grande concentration à J28. Ainsi, malgré une potentielle première exposition au virus avant le début des expérimentations, la vaccination semble induire une réponse immunitaire humorale.

c. Mise en évidence de la réponse cellulaire vis-à-vis des virus

La **figure 18** présente la réponse IFN γ , aux jours 0 et 28, pour les différents ligands et les différents groupes expérimentaux. En moyenne, les sécrétions de l'IFN γ sont plus élevées à J28 qu'à J0, suggérant que la vaccination a entraîné la stimulation d'une réponse cellulaire chez les vaches concernées. Cependant, cette observation est également présente dans les conditions témoins (CTL et ConA) où il est possible d'observer la même tendance indiquant une augmentation de la production d'IFN γ entre les deux dates. Outre l'immunisation, plusieurs facteurs peuvent être reliés à cette variation, dont le stade gestationnel de la vache.

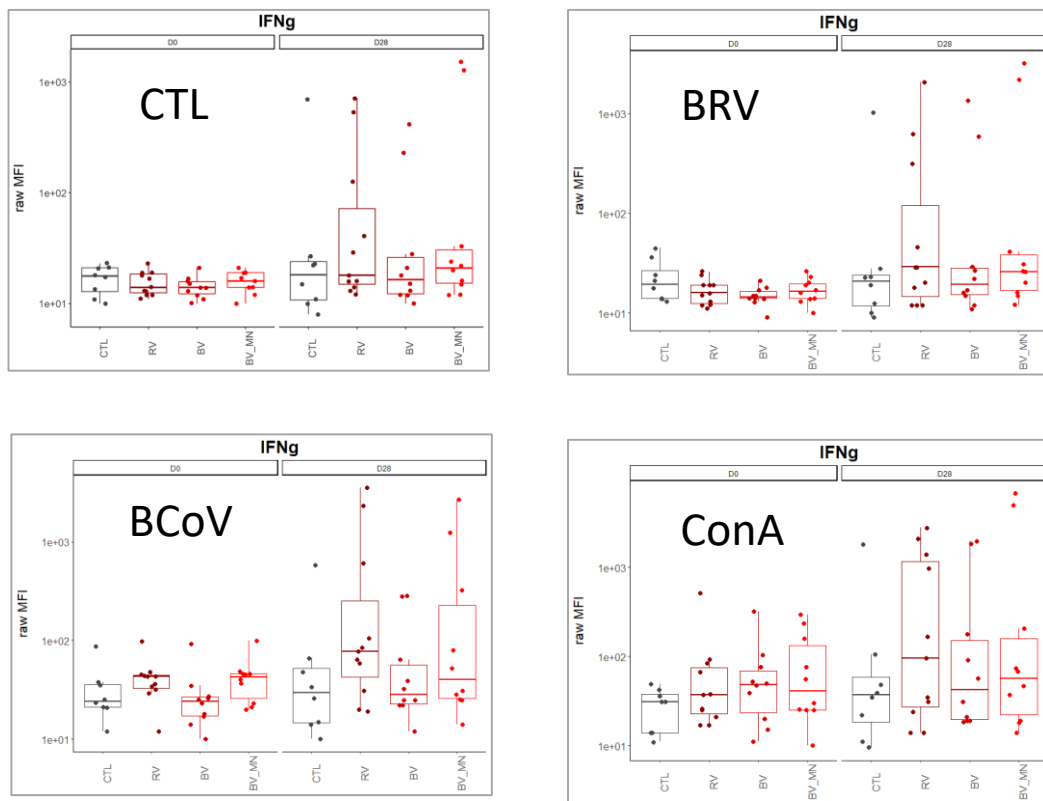


Figure 18: Réponse de l'IFN γ aux différents ligands en fonction de la vaccination aux temps 0 et 28

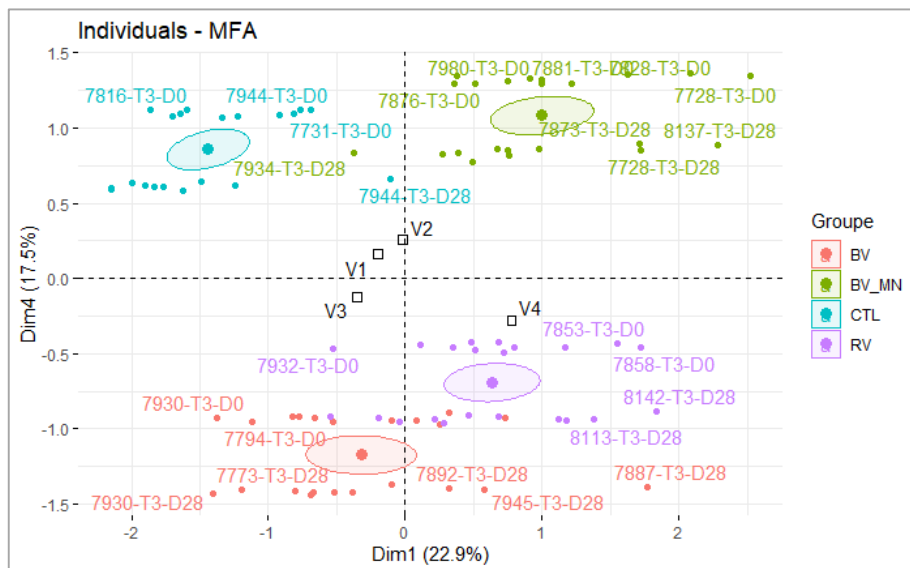


Figure 19: Réponse cellulaire des groupes en fonction du ligand CoronaV

La **figure 19** représente une analyse factorielle multiple de la réponse cellulaire des groupes en fonction du ligand CoronaV. Sur cette figure, en analyse PLS-DA, les couleurs correspondent aux 4 groupes de vaches (CTL, BV, BS, BS-MN). V1, V2, V3 et V4 désignent les différentes vagues de prélèvement. Les points situés sur le

graphique correspondent au calcul de la moyenne des réponses cellulaires de chacune des vagues. On remarque que celles-ci sont assez homogènes sauf dans le cas de la vague V4. Ces résultats sont similaires pour le ligand ConA, mais ce n'est pas le cas pour le ligand RotaV, où les résultats sont plus proches entre toutes les vagues (**figure 20**).

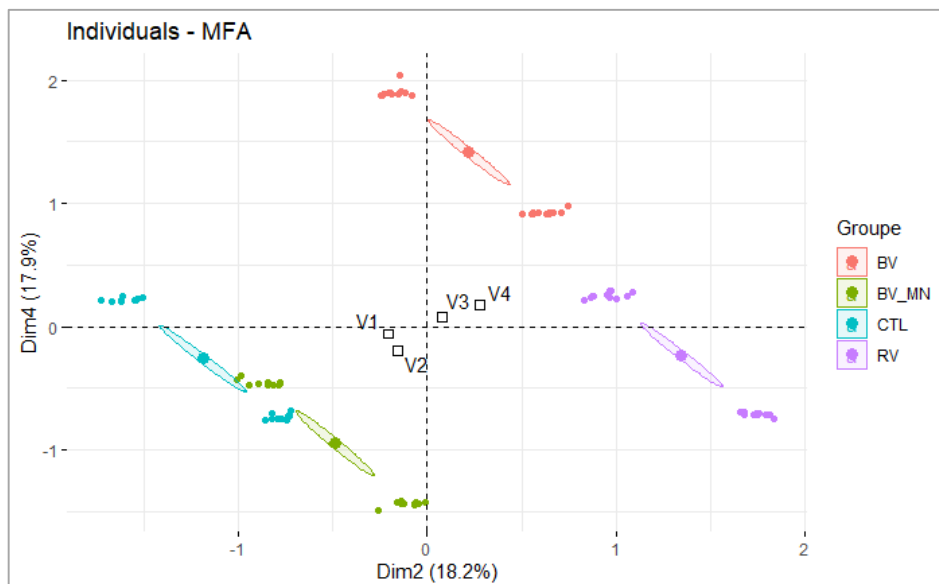


Figure 20: Réponse cellulaire des groupes en fonction du ligand RotaV

d. Qualité des réponses cellulaires et humorales en fonction de la supplémentation

Pour évaluer l'intérêt de la supplémentation en oligo-éléments sur la réponse cellulaire aux entérites néonatales, il convient de comparer les réponses provoquées par le BOVIGEN SCOUR® et le BOVIGEN SCOUR® associé au MULTIMIN™, correspondant donc aux couleurs gris et bleu dans les diagrammes en boîte des figures suivantes. Elles sont présentées dans leur intégralité en **annexe 4**. Les figures sélectionnées sont représentatives de l'ensemble des résultats.

Les valeurs relatives des concentrations en cytokines sont en ordonnées, les groupes de vaches en abscisse. Les diagrammes en boîte sont obtenus à partir des différences entre les valeurs de la condition d'intérêt et la condition témoin sans stimulation (CTL) à J28. Il s'agit donc de l'analyse de la réponse cytokinique à la suite de la vaccination après stimulation avec les ligands d'intérêt.

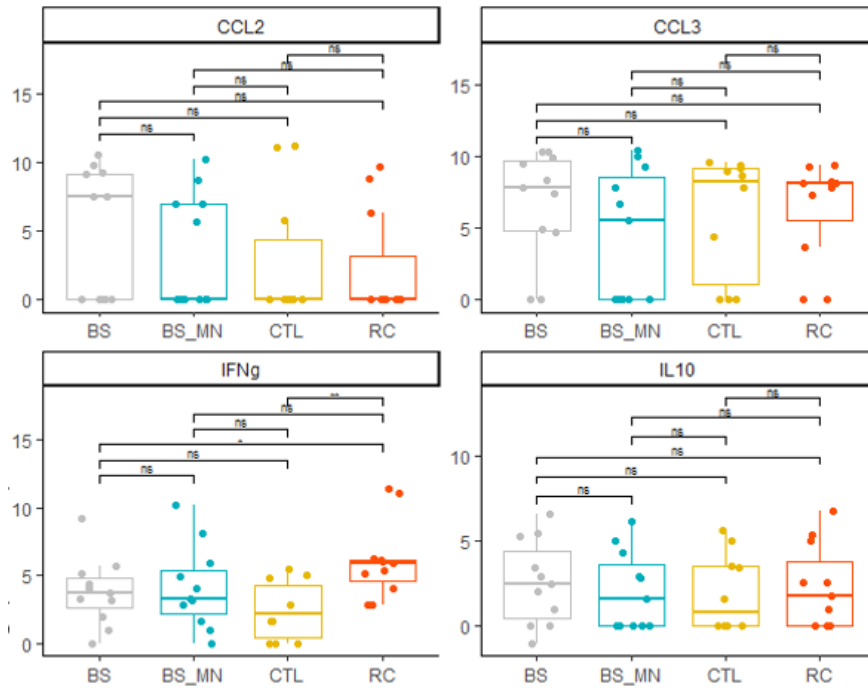


Figure 21: Analyse différentielle de la réponse vis-à-vis de 4 cytokines de chaque groupe, pour le ligand CoronaV

Sur les **figures 21 et 22**, et donc dans le cas de la stimulation par les ligands BCoV et BRV, il n'y a pas de différence significative entre les groupes BS et BS-MN, indiquant que la supplémentation des vaches en oligo-éléments ne semble pas modifier la réponse cellulaire à la vaccination contre les entérites néonatales.

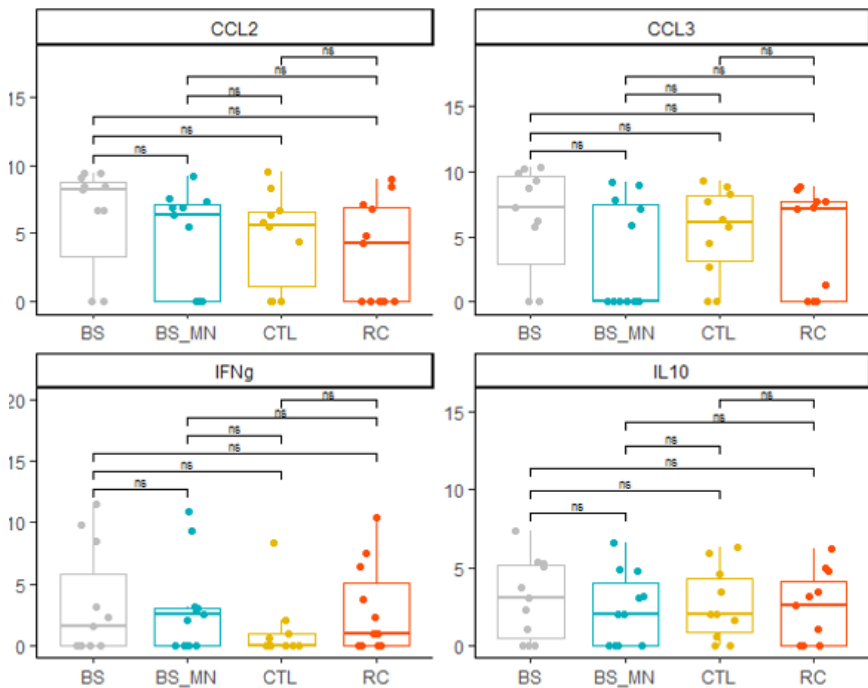


Figure 22: Analyse différentielle de la réponse vis-à-vis de 4 cytokines de chaque groupe, pour le ligand RotaV

La **figure 17** (page 81) présentant les réponses immunitaires humorales à J0 et J28 pour les 4 groupes de vaches permet l'évaluation de l'impact de la supplémentation en MULTIMIN™ sur cette réponse. Sur ces diagrammes en boîte, on n'observe pas de différence significatives des % d'inhibition entre le groupe BS et le groupe BS-MN, et ce pour le BCoV et le BRV. La supplémentation ne semble pas modifier la réponse immunitaire humorale.

e. Statut des veaux et transfert de l'immunité cellulaire

Le transfert de l'immunité cellulaire aux veaux est évalué dans les 24 à 36 heures suivant leur naissance. Toutes les vaches ont été vaccinées avec BS dans les six semaines précédant la mise-bas. Deux types de résultats sont observés en fonction des cytokines mesurées, visibles dans la **figure 23** ci-dessous.

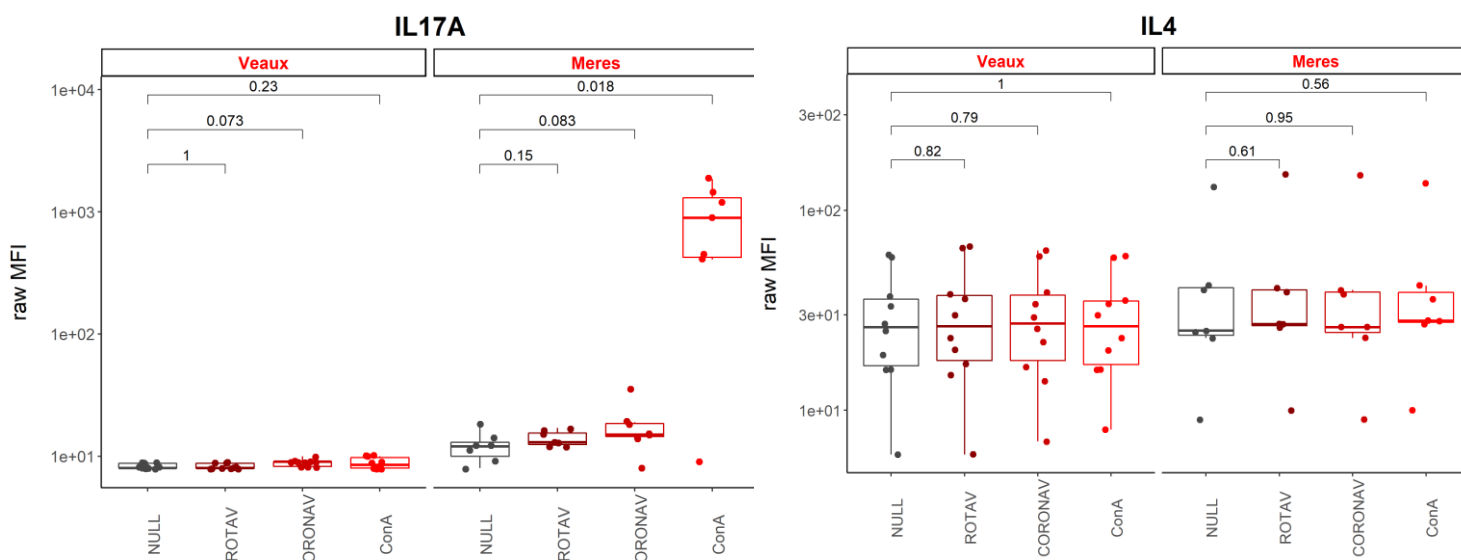


Figure 23: Comparaison de la réponse cellulaire des veaux et de leur mère pour deux cytokines, 24h après la naissance

Les profils de réponses d'IL-1 α , IL-1RA, IL-6, IL-2, IL-8, CXCL10, CCL2, CCL3, IL-10, CCL4, et TNF α sont similaires à ceux d'IL-4. Les profils de réponses d'IFN γ et IL-1b sont similaires à ceux d'IL-17A. Dans le cas des réponses catégorisées avec IL17A, on peut observer sur les diagrammes en boîte qu'il n'y a pas de réponse détectée chez les veaux, y compris avec le témoin positif ConA. Ces cytokines ne sont pas détectées dans le sang, et ne sont pas induites par la Concanavaleine A, le témoin positif. Chez leurs mères, la même stimulation avec le témoin positif est bien fonctionnelle, indiquant qu'il ne s'agit d'un problème d'ordre technique, mais bien d'une absence de réponse des cellules du veau. Les autres cytokines présentent des profils similaires à ceux de

l'IL-4 : il n'y a pas de différence significative entre les quatre ligands. Les veaux ne possèdent donc pas de cytokines stimulant spécifiquement les cellules dirigées contre ces virus. On remarque également que la quantité de cytokines, en valeur absolue, est plus élevée dans le sang des mères que dans celui des veaux dans les deux types de cas. Enfin, on remarque que le témoin positif chez les mères est équivalent au témoin négatif, sans différence significatives ; cela peut être interprété comme la baisse de l'immunité de la vache au moment de la mise-bas.

Partie 3 : Discussion

Cette étude terrain, novatrice en termes d'expérimentation, permet l'apport d'un grand nombre de données dans la connaissance et l'évaluation de la réponse vaccinale aux entérites néonatales. En effet, elle met en œuvre une nouvelle méthode d'analyse *in vitro*, permettant la description du profil de la réponse cellulaire spécifique des antigènes vaccinaux. Elle contribue également à mieux définir l'intérêt de la supplémentation en oligo-éléments dans la mise en œuvre des protocoles vaccinaux.

Un premier choix méthodologique pour cette étude a été la constitution d'une cohorte de vaches remplissant les conditions pour l'analyse des effets recherchés. Un nombre suffisant de vaches était nécessaire pour l'analyse statistique, si des différences étaient observées. Idéalement, il était souhaitable que les animaux sélectionnés soient naïfs vis-à-vis des pathogènes étudiés afin d'analyser la réponse primaire à la vaccination qui est plus fortement influencée par les facteurs extérieurs comme les adjuvants ou la supplémentation oligo-minérale. Dans ces conditions, une différence d'activité des vaccins peut être mesurée. Il est également important que les groupes de vaches soient homogènes a priori, de manière à pouvoir comparer leur réponse à l'issue du protocole vaccinal.

Les résultats présentés dans cette étude montrent que les quatre groupes de vaches constitués aléatoirement étaient homogènes : aucune différence significative n'existait au départ, ni sur le statut anticorps des vaches, ni du point de vue de la réponse cellulaire. Néanmoins, deux autres difficultés ont nécessité une adaptation de la prise en charge statistique : l'absence de vaches naïves vis-à-vis des deux agents viraux et l'étalement des vêlages à cause de l'impossibilité de synchroniser les gestations de manière à n'avoir qu'une seule vague expérimentale.

Avant immunisation, les vaches avaient une réponse cytokinique relativement forte mais variable vis-à-vis de BCoV, accompagné d'un titre anticorps élevé. Ces observations ont été faites malgré le choix pour l'étude de prélever des génisses, non précédemment vaccinées. Elles sont moins susceptibles que des vaches multipares plus âgées d'avoir été en contact avec ces agents pathogènes, sauf si ce contact se produit dans le jeune âge. Cette réponse peut potentiellement s'expliquer de deux manières : soit les vaches possèdent une réponse mémoire à la protéine Spike du BCoV, indiquant le passage d'une infection dans le groupe ou le troupeau, soit il existe des réactions croisées. La concordance entre les réponses anticorps et cellulaires sont

plutôt en faveur d'une immunisation active des animaux vis-à-vis du BCoV à la suite d'une infection.

La grande variabilité des réponses des vaches dans les conditions témoin, malgré l'homogénéité de leur répartition dans les quatre groupes (contrôle, vaccination au BOVIGEN SCOUR® avec ou sans supplémentation au MULTIMIN™, et vaccination au BOVILIS ROTAVEC CORONA®) ont compliqué l'analyse statistique.

La dispersion des dates de vêlage a induit deux autres difficultés : les vaches n'étaient pas toutes exactement au même stade de gestation, ce qui peut avoir des répercussions sur leur statut immunitaire. En outre, les vêlages n'avaient pas lieu à la même période de l'année, avec un changement des conditions environnementales et d'alimentation.

Les prélèvements sanguins des mères ont été effectués en quatre vagues successives, de janvier à avril. Nous avons pu observer une variation des conditions de départ pour la vague 4 en particulier, dernière vague à être prélevée. Pour celle-ci, les réponses aux ligands BCoV et Concanavaline A différaient des trois autres vagues de vaches. Cette vague a probablement été exposée au coronavirus de manière subclinique, ou à d'autres affections entraînant une augmentation de la réponse non spécifique.

La variabilité de la réponse en fonction de la date de mise-bas complexifie également l'analyse. En effet, le stade gestationnel d'une vache modifie la qualité de sa réponse immunitaire. Dans cette étude, les vaches ont été vaccinées entre 12 et 7 semaines avant leur date de mise-bas présumée. Il aurait été préférable de les vacciner selon le même calendrier à l'égard de leur date de mise-bas présumée, de manière à s'affranchir de ces variations d'immunité sans rapport avec l'antigène testé. De plus, les vaches vaccinées le plus tard, à 7 semaines avant le vêlage, ont été prélevées à J28 soit 3 semaines avant le vêlage, date à laquelle la sécrétion d'anticorps diminue pour un tiers des vaches, et l'activité des lymphocytes commence à décroître (Mallard et al., 1998).

La question du choix de la date de prélèvement après stimulation vaccinale se pose également, en particulier en sachant que les vaches n'étaient pas naïves avant l'injection des vaccins. La réponse cellulaire mesurée à J28 est globalement assez faible. Une explication possible est le délai tardif de la mesure par rapport à l'injection des vaccins. Il était nécessaire de trouver un compromis à propos de la date de second prélèvement choisie : un délai de trois semaines minimum entre la vaccination et le

prélèvement était nécessaire avant l'évaluation de la réponse humorale, pour que la production des anticorps soit maximale. Mais ce délai n'était probablement pas idéal pour une bonne évaluation de la réponse cellulaire, surtout dans le cas d'une réponse mémoire. En effet, dans le cas d'une seconde stimulation, la réponse des lymphocytes T est plus précoce, mais de plus courte durée. Un prélèvement une dizaine de jours après la vaccination aurait probablement permis de révéler des réponses de plus forte intensité.

Une autre explication à la faible réponse cellulaire détectée est le choix des ligands pour la stimulation. Alors que l'utilisation de la protéine Spike comme ligand pour stimuler les lymphocytes semble être un bon choix, il n'en est pas de même pour l'utilisation de VP7 de BRV. En effet, cette protéine présente à la surface de la capsid du BRV est supposée provoquer une réponse CD4. L'utilisation d'une autre protéine comme VP4 ou VP6 était possible ; elle aurait peut-être permis une réponse de plus forte intensité facilitant ainsi la mesure de la réponse spécifique du BRV.

Se pose enfin la question de la concentration des peptides utilisée dans les monovettes pour la stimulation des cellules : elle était de 0,2 µg/mL dans cette étude. Cette concentration peut être augmentée jusqu'à 1 µg/mL dans certains essais. La réponse cellulaire observée dans nos expériences étant discrète, une concentration plus élevée aurait permis une plus forte stimulation des cellules et ainsi la libération de plus grandes quantités de cytokines, conduisant potentiellement à des résultats plus tranchés.

L'absence de réponse des veaux à la naissance est intrigante et n'avait jamais été décrite auparavant : la réponse cellulaire n'a jamais été mesurée chez des veaux aussi jeunes, soit le lendemain de la naissance. Dans cette étude, deux conclusions peuvent être faites : le niveau de base de la plupart des cytokines est faible, indiquant que l'absorption de cytokines à partir du colostrum n'est pas susceptible d'avoir une activité systémique déterminante car les concentrations au moment où elles ont été mesurées sont extrêmement faibles et proches du seuil de détection. En outre, la réponse à un stimulus polyclonal comme la ConA n'induit pas la production de cytokine comme elle est observée au même moment chez leur mère. Nous pouvons légitimement penser que le veau n'absorbe pas de cellules de sa mère, du moins pas en quantité suffisante pour que l'expression des cytokines par ces cellules ne soit détectables dans le sang du veau. Il est aussi possible que les cellules et les cytokines soient très rapidement éliminées ou dégradées. Pour les autres on peut supposer que le veau a absorbé des

cytokines présentes dans le colostrum, ou qu'elles sont produites par ses propres cellules (macrophages, neutrophiles, cellules épithéliales ou endothéliales), les deux phénomènes pouvant co-exister. Le veau ne possédant pas encore de lymphocytes T mémoires, et n'en recevant visiblement pas de sa mère en quantité suffisante pour être détectés, on observe un niveau de base de cytokines qui est faible et une absence de réponse à la stimulation. Il pourrait être intéressant d'effectuer un suivi cinétique de la concentration des cytokines dans le sang du veau à des temps plus précoces, de manière à savoir si elles sont absorbées et disparaissent rapidement, ou si elles ne sont tout simplement pas absorbées à travers la barrière intestinale. Leur dosage dans le colostrum pourrait également apporter des informations pour aider à cette analyse.

Enfin, bien que la réponse cellulaire mise en évidence dans cette étude reste discrète, la réponse humorale induite par les vaccins semble quant à elle assez intense, et présente un intérêt majeur. Il est en effet documenté dans la littérature que la vaccination contre les entérites néonatales est un point majeur de la prévention de ces maladies chez les veaux. On sait que l'apport d'anticorps via un colostrum de bonne qualité est absolument nécessaire à la bonne santé du veau nouveau-né et permet la protection de ce dernier jusqu'à ce que son propre système immunitaire soit en mesure de lutter contre les nombreux pathogènes présents dans l'environnement de vie.

Cette étude avait pour deuxième objectif l'évaluation de l'effet de la supplémentation oligo-minérale par voie injectable sur la réponse vaccinale. Dans le cadre des réponses cellulaires et humorales, elle ne paraît pas avoir de répercussion majeure sur l'intensité et le profil de la réponse immunitaire des vaches à la vaccination.

Cependant, l'élevage dans lequel l'étude a été réalisée est un élevage laitier intensif, dont la ration est parfaitement contrôlée et équilibrée, afin de favoriser la productivité. Il s'agissait donc là d'une supplémentation, faite à des vaches non carencées pour les oligo-éléments présents dans la spécialité. Ce type d'élevage n'est absolument pas représentatif des élevages français moyens, laitiers et allaitants, qui sont plus souvent exposés à une situation carencielle. En France, ce type d'apports en oligo-éléments serait plutôt considéré comme de la complémentation, ce qui pourrait entraîner un résultat tout autre si une étude similaire était réalisée.

Il aurait donc été intéressant d'effectuer le même type d'analyses chez des vaches dont on savait a priori qu'elles avaient un déficit pour un ou plusieurs des oligo-éléments présents dans la spécialité. La composition du colostrum et les profils

oligoéléments précis des animaux sont autant de résultats qui permettraient une analyse plus fine de l'intérêt de la complémentation pour la santé des bovins, et en particulier des mères et de leurs veaux à un moment critique comme la période qui entoure la mise-bas.

Conclusion

Les entérites néonatales sont des maladies dont l'importance est majeure en élevage. Bien que leur prévention repose sur la mise en place de mesures fondamentales, telles que la bonne conduite d'élevage, l'application de mesures d'hygiène adaptées, la bonne gestion du vêlage et de l'alimentation de la vache, l'utilisation de la vaccination est une pratique qui doit encore être promue. Elle est particulièrement importante au regard de la placentation épithélio-choriale chez les bovins et de l'absence d'anticorps chez le veau avant l'absorption du colostrum. La vaccination permet ainsi d'optimiser le transfert d'anticorps protecteurs au veau vis-à-vis d'infections extrêmement banales dans les premiers jours de vie. Elle s'intègre également dans la démarche One Health en permettant la réduction de l'utilisation des antibiotiques en élevage. Elle doit ainsi être encouragée auprès des éleveurs, et le vétérinaire a un rôle de conseil et d'encadrement fondamental à jouer.

Par ailleurs, l'importance des oligoéléments pour la santé des bovins a été largement documentée. Ils sont nécessaires à la lutte contre le stress oxydatif dans des périodes de transition critiques pour la vache laitière, soutiennent et renforcent le système immunitaire, interviennent dans la croissance et la formation des os chez les veaux. Des carences provoquent l'apparition d'affections cliniques mais toutes les situations de déficit, même léger ont des conséquences sur le fonctionnement immunitaire. Il est ainsi particulièrement important de veiller à l'apport dans la ration des bovins et de les compléter aux périodes critiques, afin d'optimiser leur santé et, en conséquence, leur production. L'utilisation de complément par voie injectable reste une solution assez peu onéreuse, pouvant prodiguer un réel apport curatif ou préventif dans un grand nombre de cas.

L'apport régulier de ces compléments par voie orale peut également être une solution à discuter avec l'éleveur. Cette conduite fait partie intégrante du rôle de conseiller du vétérinaire, et entre dans une démarche globale de prévention de la santé dans les élevages, particulièrement cohérente face à la nécessité de production et la demande sociétale du respect du bien-être animal.

Bibliographie

- AGUILAR, J.C. and RODRIGUEZ, E.G. (2007) Vaccine adjuvants revisited. *Vaccine*, 25(19), pp. 3752–3762.
- ALFIERI, A.F. et al. (2004) G and P genotypes of group A rotavirus strains circulating in calves in Brazil, 1996–1999. *Veterinary Microbiology*, 99(3–4), pp. 167–173.
- ARTHINGTON, J.D. and HAVENGA, L.J. (2012) Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. *Journal of Animal Science*, 90(6), pp. 1966–1971.
- BENDALI, F. et al. (1999) Risk factors associated with diarrhoea in newborn calves. *Veterinary Research*, 30(5), pp. 509–522.
- BOILEAU, M.J. and KAPIL, S. (2010) Bovine Coronavirus Associated Syndromes. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 26(1), pp. 123–146.
- CALDER, P. et al. (2020) Optimal Nutritional Status for a Well-Functioning Immune System Is an Important Factor to Protect against Viral Infections. *Nutrients*, 12(4), p. 1181.
- CALDER, P.C. and KEW, S. (2002) The immune system: a target for functional foods? *British Journal of Nutrition*, 88(S2), pp. S165–S176.
- CAMPBELL, N.A. et al. (2012) *Campbell biologie*. 9e éd. Montréal Toronto Paris [etc.]: Pearson.
- CASTRUCCI, G. et al. (1988) The protection of newborn calves against experimental rotavirus infection by feeding mammary secretions from vaccinated cows. *Microbiologica*, 11(4), pp. 379–385.
- CHANDRA, R.K. (1997) Nutrition and the immune system: an introduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66(2), pp. 460S–463S.
- CHASE, C.C.L., HURLEY, D.J. and REBER, A.J. (2008) Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 24(1), pp. 87–104.
- CHIGERWE, M. et al. (2008) Frequency of detectable serum IgG concentrations in precolostral calves. *American Journal of Veterinary Research*, 69(6), pp. 791–795.
- CHO, Y. and YOON, K.-J. (2014) An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), pp. 1–17.
- CLARK, J.H. et al. (2006) Effects of Respiratory Disease Risk and a Bolus Injection of Trace Minerals at Receiving on Growing and Finishing Performance by Beef Steers. *The Professional Animal Scientist*, 22, pp. 245–251.
- COMBADIÈRE, B. (2020) Immunité adaptative contre le virus SARS-CoV-2. *médecine/sciences*, 36(10), pp. 908–913.
- CROUCH, C.F., OLIVER, S. and FRANCIS, M.J. (2001) Serological, colostral and milk responses of cows vaccinated with a single dose of a combined vaccine against rotavirus, coronavirus and *Escherichia coli* F5 (K99). *Veterinary Record*, 149(4), pp. 105–108.
- DORCHIES and ALZIEU (2016) *Impact métabolique et nutritionnel de la fasciolose bovine*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/impact-metabolique-et-nutritionnel-de-la-fasciolose-bovine/> [Accessed 10/08/22].

- DOWLING, D.J. et al. (2010) Major secretory antigens of the helminth *Fasciola hepatica* activate a suppressive dendritic cell phenotype that attenuates Th17 cells but fails to activate Th2 immune responses. *Infection and Immunity*, 78(2), pp. 793–801.
- DROKE, E.A. and LOERCH, S.C. (1989) Effects of parenteral selenium and vitamin E on performance, health and humoral immune response of steers new to the feedlot environment. *Journal of Animal Science*, 67(5), pp. 1350–1359.
- EICHER (2022) *Effet sur la diarrhée néonatale du veau de l'administration orale d'immunoglobulines spécifiques comparé à un schéma standard de vaccination des mères gestantes*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/effet-sur-la-diarrhee-neonatale-du-veau-de-ladministration-orale-dimmunoglobulines-specifiques-compare-a-un-schema-standard-de-vaccination-des-meres-gestantes/> [Accessed 09/08/22].
- ENJALBERT, F., LEBRETON, P. and SALAT, O. (2006) Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(11–12), pp. 459–466.
- FISKE, R.A. and ADAMS, L.G. (1985) Immune responsiveness and lymphoreticular morphology in cattle fed hypo- and hyperalimentary diets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 8(3), pp. 225–244.
- FOSSLER, C.P. et al. (2005) Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms I. *Salmonella* shedding in cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 70(3–4), pp. 257–277.
- FOSTER, D.M. and SMITH, G.W. (2009) Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 25(1), p. 13.
- GARTIOUX, J.-P. (2019) *Le logement des veaux : un facteur de risque pour leur santé*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/le-logement-des-veaux-un-facteur-de-risque-pour-leur-sante/> [Accessed 08/08/22].
- GENGELBACH, G.P. and SPEARS, J.W. (1998) Effects of Dietary Copper and Molybdenum on Copper Status, Cytokine Production, and Humoral Immune Response of Calves. *Journal of Dairy Science*, 81(12), pp. 3286–3292.
- GEOLLOT, S. et al. (2022) *La supplémentation injectable en oligo-éléments Se, Cu, Zn, Mn (MULTIMINTM, Virbac France) améliore la réponse immunitaire liée à la vaccination chez les vaches gestantes soumises à un stress oxydatif, ainsi que le transfert d'immunité aux veaux contre le rotavirus bovin*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/la-supplementation-injectable-en-oligo-elements-se-cu-zn-mn-multimintm-virbac-france-ameliore-la-reponse-immunitaire-liee-a-la-vaccination-chez-les-vaches-gestantes-soumises-a-un-stress-oxydatif/> [Accessed 11/08/22].
- GHOSH, S. et al. (2007) Evidence for interstate transmission and increase in prevalence of bovine group B rotavirus strains with a novel VP7 genotype among diarrhoeic calves in Eastern and Northern states of India. *Epidemiology and Infection*, 135(8), pp. 1324–1330.
- GOMEZ, D.E. and WEESE, J.S. (2017) Viral enteritis in calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 58(12), pp. 1267–1274.
- GONZALEZ, R. et al. (2021) The Specific Immune Response after Vaccination against Neonatal Calf Diarrhoea Differs between Apparent Similar Vaccines in a Case Study. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(5), p. 1238.

- GRIEBEL, P.J., SCHOONDERWOERD, M. and BABIUK, L.A. (1987) Ontogeny of the immune response: effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 51(4), pp. 428–435.
- GUIN, B. and MAILLARD, R. Consensus professionnel : Les entérites néonatales (ENN) du veau. p. 8.
- GUYOT, H. and ROLLIN, F. (2007) Le diagnostic des carences en selenium et iode chez les bovins. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 151(3), pp. 166–191.
- HEEGAARD, P.M.H. et al. (2011) Adjuvants and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments. *Archives of Virology*, 156(2), pp. 183–202.
- Immunité colostrale chez les bovins*. (2013) [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/immunité-colostrale-chez-les-bovins/> [Accessed 14/07/22].
- KLEIN-JÖBSTL, D., IWERSEN, M. and DRILLICH, M. (2014) Farm characteristics and calf management practices on dairy farms with and without diarrhea: A case-control study to investigate risk factors for calf diarrhea. *Journal of Dairy Science*, 97(8), pp. 5110–5119.
- LACREUSETTE, M. et al. (2019) Identification and removal of obstacles to vaccination against agents of neonatal enteritis. *Bulletin des G.T.V.*, (No. Numéro special), pp. 99–104.
- Le colostrum bovin : quoi de neuf ?*. (2019) [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/le-colostrum-bovin-quoi-de-neuf/> [Accessed 14/07/22].
- LEQUEUX, G. Santé et performance chez les bovins: rôle des oligo-éléments. p. 8.
- MALLARD, B.A. et al. (1998) Alteration in Immune Responsiveness During the Peripartum Period and Its Ramification on Dairy Cow and Calf Health. *Journal of Dairy Science*, 81(2), pp. 585–595.
- MARTELLA, V. et al. (2007) Identification of Group A Porcine Rotavirus Strains Bearing a Novel VP4 (P) Genotype in Italian Swine Herds. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(2), pp. 577–580.
- MCGEE, M. and EARLEY, B. (2019) Review: passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, 13(4), pp. 810–825.
- MCGLONE, J.J. (1990) Potential for improving animal health by modulation of behavior and immune function. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, 35, pp. 307–315.
- MESCHY (2008) *Facteurs de risque nutritionnel de troubles de la reproduction chez les bovins : éléments minéraux et vitamines*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/facteurs-de-risque-nutritionnel-de-troubles-de-la-reproduction-chez-les-bovins-elements-mineraux-et-vitamines/> [Accessed 11/08/22].
- MILLEMANN, Y. and MAILLARD, R. (2007) Les agents entéropathogènes du veau - Calf enteropathogenic agents. *Point Vétérinaire*, 38, pp. 53–62.
- PALOMARES, R.A. et al. (2016) Effects of injectable trace minerals on humoral and cell-mediated immune responses to Bovine viral diarrhea virus, Bovine herpes virus 1 and Bovine respiratory syncytial virus following administration of a modified-live virus vaccine in dairy calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 178, pp. 88–98.
- RABOISSON, D. Bases des échanges électrolytiques et physiopathogénie des diarrhées du jeune veau. p. 8.

- REBER, A.J. et al. (2006) Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109(1–2), pp. 139–150.
- RIDREMONT, B. (2021) Les coronavirus des bovins : clinique, épidémiologie, immunité et prévention. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 174, [Online] Available from: doi.org/10.3406/bavf.2021.70929 [Accessed 15/09/2021].
- RIDREMONT, B. (2020) Les coronavirus des bovins : virologie, diversité d'hôtes et transmission interspécifiques. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 173(1), pp. 49–54.
- SILIART, B. (2007) *Rôle des oligo-éléments dans le stress oxydatif*. [Online] SNGTV. Available from : <https://www2.sngtv.org/article-bulletin/role-des-oligo-elements-dans-le-stress-oxydatif/> [Accessed 09/08/22].
- SPEARS, J.W. (2000) Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(4), pp. 587–594.
- TSUNEMITSU, H., JIANG, B. and SAIF, L.J. (1992) Detection of group C rotavirus antigens and antibodies in animals and humans by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(8), pp. 2129–2134.
- VAN ZAANE, D., IJZERMAN, J. and DE LEEUW, P.W. (1986) Intestinal antibody response after vaccination and infection with rotavirus of calves fed colostrum with or without rotavirus antibody. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 11(1), pp. 45–63.
- VERMOUT, S. et al. (2003) Choix d'un adjuvant lors d'essais de vaccination. *undefined*, [Online] Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/Choix-d%27un-adjuvant-lors-d%27essais-de-vaccination-Vermout-Denis/0ff1b395494574b1a9dd9f5287391988064f6d2d> [Accessed 08/08/2022].
- WEAVER, D.M. et al. (2000) Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6), pp. 569–577.
- ZOBELL, D. et al. (1995) Gestational vitamin E supplementation in beef cows: effects on calf immunological competence, growth and morbidity. *Gestational vitamin E supplementation in beef cows: effects on calf immunological competence, growth and morbidity*, [Online] Available from: https://digitalcommons.usu.edu/advs_facpub/635.

ANNEXE 1 : Extrait des résumés des caractéristiques du produit BOVIGEN SCOUR®

1. Dénomination du médicament vétérinaire

BOVIGEN SCOUR

2. Composition qualitative et quantitative

Une dose de 3 mL contient :

Substance(s) active(s) :		Adjuvant(s) :	
Rotavirus bovin inactivé.....	≥ 6,0 log ₂ (VNT)*	Montanide ISA 206 VG.....	1,60 mL
souche TM-91, sérotype G6P1			
Coronavirus bovin inactivé.....	≥ 5,0 log ₂ (HIT)**	Excipient(s) :	
souche C-197			
Escherichia coli inactivée	≥ 44,8 % d'inhibition (ELISA)***	Formaldéhyde.....	max. 1,50 mg
souche EC/17 exprimant l'adhésine F5 (K99)		Thiomersal.....	max. 0,36 mg

4. Informations cliniques

4.1. Espèces cibles

Bovins (vaches et génisses gestantes).

4.2. Indications d'utilisation, en spécifiant les espèces cibles

Chez les vaches et génisses gestantes :

Immunisation active des vaches et génisses gestantes afin de produire des anticorps contre les antigènes des adhésines d'*E. coli* F5 (K99), les rotavirus et les coronavirus.

Quand les veaux sont nourris par du colostrum de vaches vaccinées pendant leur première semaine de vie, il a été démontré que les anticorps présents réduisaient la sévérité des diarrhées causées par les rotavirus bovins, les coronavirus bovins et les *E. coli* entéropathogènes F5 (K99) et réduisaient l'excrétion des rotavirus ou coronavirus bovins par les veaux infectés.

Début de l'immunité : l'immunité passive débute avec l'administration de colostrum et dépend de son apport en quantité suffisante au veau nouveau-né.

4.9. Posologie et voie d'administration

Voie intramusculaire.

Respecter les procédures d'asepsie habituelles.

Utiliser exclusivement des seringues et des aiguilles stériles.

Amener le vaccin à température ambiante avant utilisation.

Bien secouer le flacon avant et périodiquement pendant l'utilisation afin de s'assurer que le sédiment soit totalement dissous avant administration.

Pour les présentations de 90 ml et 450 ml, il est recommandé d'utiliser un pistolet doseur automatique pour éviter d'endommager le bouchon en le perçant à de multiples reprises.

Une dose = 3 mL

Une dose à chaque gestation, administrée entre la 12^{ème} et la 3^{ème} semaine avant la date prévue du vêlage.

ANNEXE 2 : Extrait des résumés des caractéristiques du produit BOVILIS ROTAVEC CORONA®

1. Dénomination du médicament vétérinaire

BOVILIS ROTAVEC CORONA

2. Composition qualitative et quantitative

Une dose de 2 mL contient :

Substance(s) active(s) :		Adjuvant(s) :	
Rotavirus bovin inactivé, souche UK-≥ 874 Compton,..... U*		Huile minérale légère / émulsifiant.....	1,40 mL
sérotypes G6 P5		Hydroxyde d'aluminium.....	2,45 - 3,32 mg
Coronavirus inactivé souche Mebus.....	≥ 3,41 log ₁₀ /mL titre anticorps ELISA**	Excipient(s) :	
Adhésine <i>E. coli</i> F5 (K99).....	≥ 0,64 titre anticorps ELISA (densité optique)**	Thiomersal.....	0,032 - 0,069 mg
		Formaldéhyde.....	≤ 0,34 mg

4. Informations cliniques

4.1. Espèces cibles

Bovins (vaches et génisses gestantes).

4.2. Indications d'utilisation, en spécifiant les espèces cibles

Chez les vaches et génisses gestantes :

- Immunisation active afin de produire des anticorps contre les adhésines d'*E. coli* F5 (K99), les rotavirus et coronavirus. Lorsque les veaux reçoivent du colostrum provenant de vaches vaccinées pendant les deux à quatre premières semaines de leur vie, il a été démontré que ces anticorps :
- réduisent la sévérité de la diarrhée provoquée par *E. coli* F5 (K99),
- réduisent l'incidence des diarrhées provoquées par les rotavirus,
- réduisent l'excrétion des virus par les veaux infectés avec des rotavirus et coronavirus.

Mise en place de l'immunité : l'immunité passive contre tous les principes actifs commencera à partir du début de la prise de colostrum]

Durée de l'immunité : chez les veaux artificiellement nourris avec des colostrums mélangés, la protection continuera jusqu'à ce que l'administration de colostrum cesse. Chez les veaux allaités naturellement à la mamelle, la protection persistera pendant au moins 7 jours contre le rotavirus et au moins 14 jours contre le coronavirus.

4.9. Posologie et voie d'administration

Utilisation Intramusculaire.

Bien mélanger avant utilisation. Les seringues et les aiguilles doivent être stérilisées avant l'injection. L'injection doit être réalisée au niveau d'une zone de peau propre et sèche en prenant des précautions contre la contamination.

Des précautions particulièrement strictes doivent être prises contre la contamination du vaccin.

L'utilisation d'une seringue multidose est recommandée pour éviter le ponctionnage excessif du bouchon. Lorsque le flacon a été ponctionné pour la première fois il peut être utilisé une nouvelle fois durant les 28 prochains jours, puis éliminé directement après utilisation.

Administration :

Administrer une dose unique de 2 mL par animal. Le site recommandé pour l'injection est au niveau de la face latérale de l'encolure. L'administration de la dose unique doit être réalisée durant chaque gestation entre la 12^{ème} semaine et la 3^{ème} semaine avant la date présumée de vêlage.

ANNEXE 3 : Extrait des résumés des caractéristiques du produit MULTIMIN™

1. Dénomination du médicament vétérinaire

MULTIMIN SOLUTION INJECTABLE POUR BOVINS

2. Composition qualitative et quantitative

Un mL contient :

Substance(s) active(s) :

Zinc 60 mg

(sous forme d'oxyde)

(soit 74,68 mg d'oxyde de zinc)

Manganèse 10 mg

(sous forme de carbonate)

(soit 20,92 mg de carbonate de manganèse)

Cuivre 15 mg

(sous forme de carbonate)

(soit 26,09 mg de carbonate de cuivre)

Sélénium 5 mg

(sous forme de sélénite de sodium)

(soit 10,95 mg de sélénite de sodium)

Excipient(s) :

Alcool benzylique (E1519) 10,4 mg

4. Informations cliniques

4.1. Espèces cibles

Bovins.

4.2. Indications d'utilisation, en spécifiant les espèces cibles

Chez les bovins :

Apport d'oligo-éléments visant à corriger les manifestations cliniques ou subcliniques des carences associées en sélénium, cuivre, manganèse et zinc pouvant survenir lors des phases critiques des cycles de production ou d'élevage.

4.9. Posologie et voie d'administration

Uniquement par voie sous-cutanée stricte.

Administrer le médicament en respectant l'asepsie lors des injections.

Veiller à respecter les bonnes pratiques relatives aux injections sous-cutanées

Posologie :

- Bovins jusqu'à 1 an : 1 mL pour 50 kg

- Bovins de 1 à 2 ans : 1 mL pour 75 kg

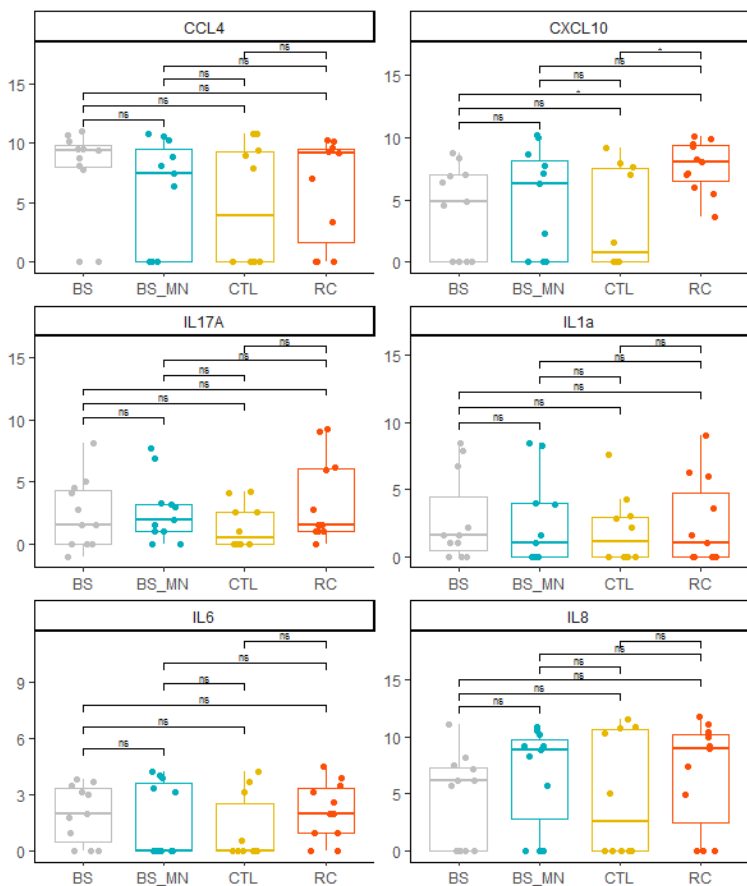
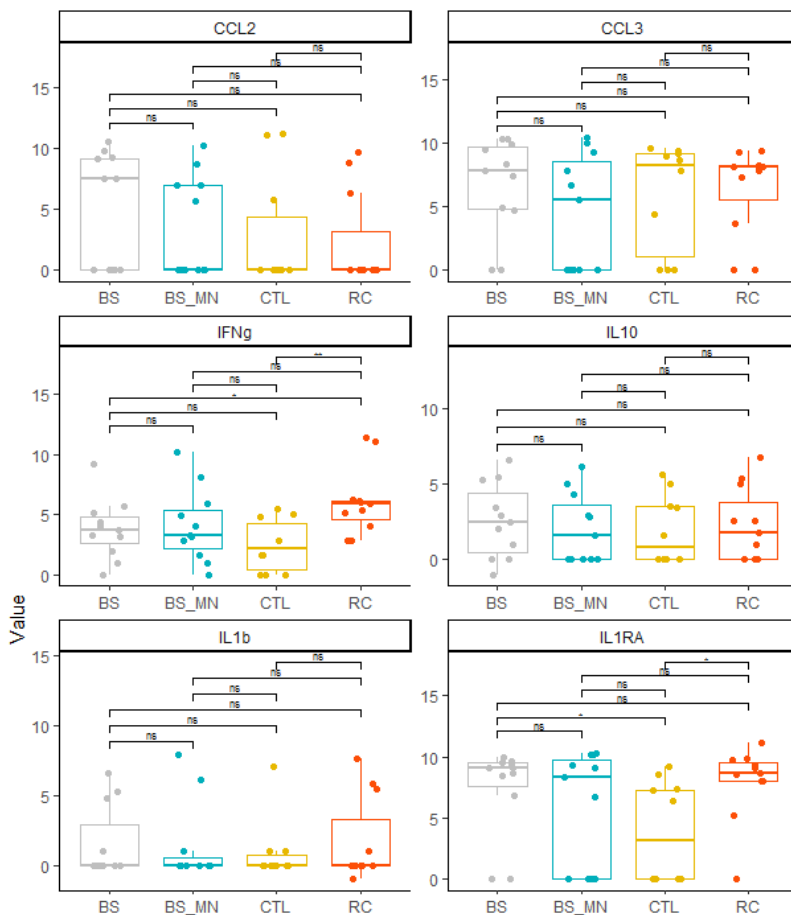
- Bovins de plus de 2 ans : 1 mL pour 100 kg

Schéma de traitement :

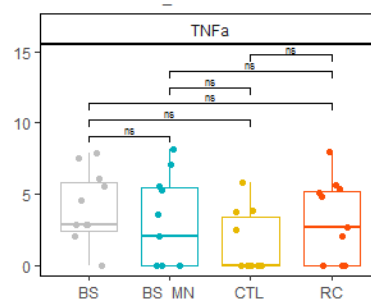
Administration unique, pendant ou en prévision de périodes de stress en cours de production ou en période de reproduction, susceptibles d'induire des carences cliniques ou subcliniques associées en zinc, manganèse, cuivre et sélénium (par exemple lors de transport, vêlage, mise à la reproduction)

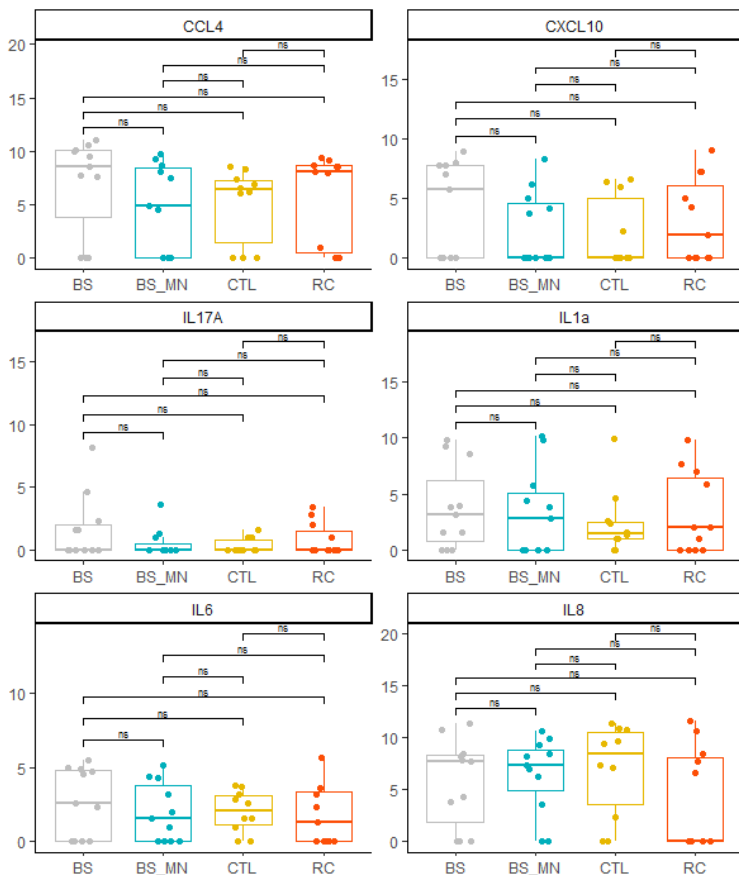
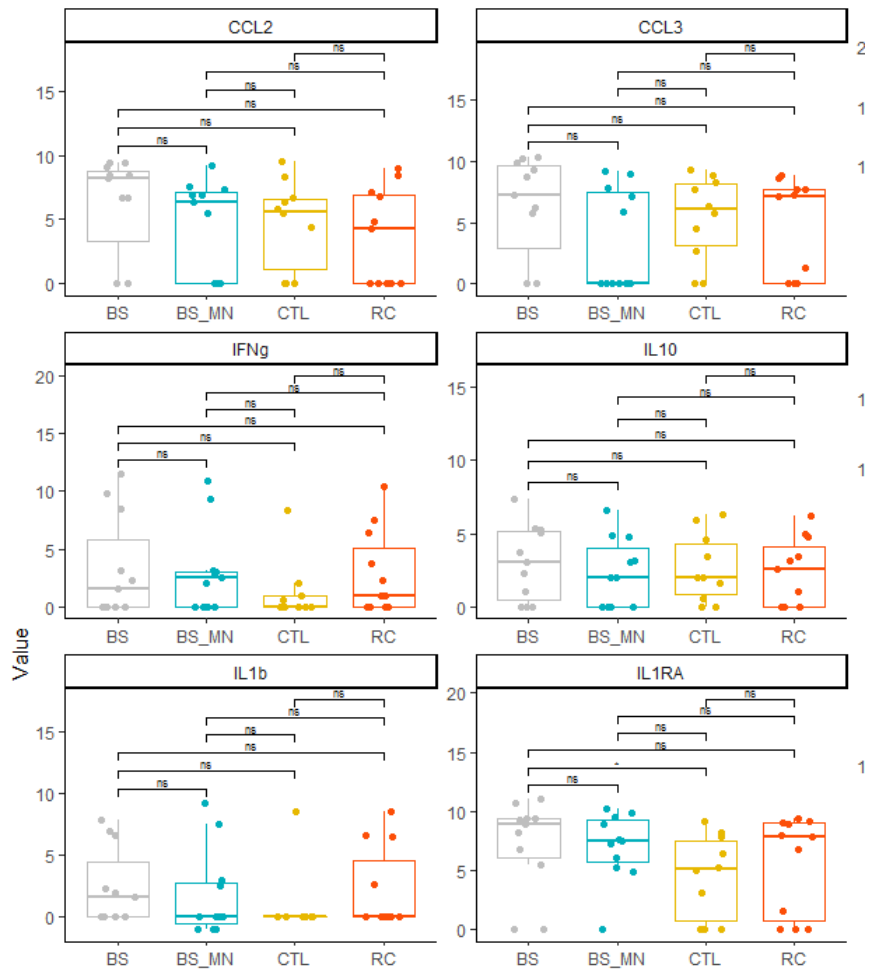
Volume maximum par site d'injection : 7 mL.

ANNEXE 4 : Analyse différentielle de la réponse vis-à-vis de 4 cytokines de chaque groupe pour les ligands coronavirus et rotavirus

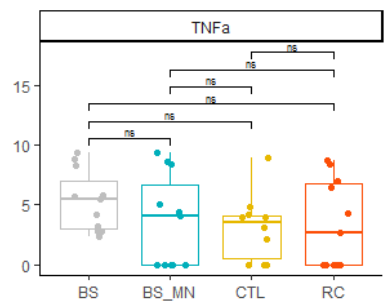


Ligand Coronavirus





Ligand Rotavirus



PICHON Annaëlle Sandrine Marie

Vaccination contre les entérites néonatales : effet de la supplémentation oligo-minérale par voie injectable sur la réponse vaccinale

Chez les bovins, quel que soit le système d'élevage, les entérites durant la période néonatale sont une dominante médicale à laquelle le vétérinaire praticien est quotidiennement confronté. Le vaccination des vaches gravides constitue un moyen de prévention à associer à la conduite d'élevage et permet d'augmenter l'immunité colostrale vis-à-vis des pathogènes responsables. Les oligo-éléments interviennent dans les fonctions métaboliques, antioxydantes et immunitaires dans l'espèce bovine.

Le but de ce travail était de connaître l'effet de la supplémentation oligo-minérale par injection sur la réponse vaccinale suscitée chez les vaches laitières primipares. L'analyse de la réponse cellulaire a été effectuée à l'aide d'un test novateur *in vitro*, permettant la description du profil spécifique de la réponse aux antigènes vaccinaux.

Bien que cette réponse soit effectivement présente, elle ne semble pas être améliorée par la supplémentation, ce qui pourrait différer chez des vaches carencées.

Mots-clés : vaccins, entérites néonatales, bovins, oligo-éléments, supplémentation

Vaccination against neonatal enteritis : effect of injectable trace mineral supplementation on the response to vaccines

In cattle, regardless of the farming system, enteritis during the neonatal period is the most reported calf disease and the major cause of mortality. The veterinary practitioner is confronted to it daily. Vaccination of pregnant cows is a means of prevention to be associated with livestock management and increases colostrum immunity. Trace elements are involved in metabolic, antioxidant and immune functions in bovine species.

The object of this work was to determine the effect of injectable trace mineral supplementation on the response to vaccines in dairy cows calving for the first time.

The analysis of the cellular response was carried out using an innovative *in vitro* test, allowing the description of the response to vaccine antigens, and its specific profile.

Although this response is indeed present, it does not seem to be improved by supplementation. Those observations could differ in cows with trace minerals deficiency.

Key words: vaccines, enteritis, cattle, trace elements, supplementation