

Année 2014

**RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES
CHEZ LES COLIBACILLES AGENTS DE
COLIBACILLOSES CHEZ LE VEAU :
contribution à une étude dans l'Allier entre 2011 et 2013**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant
LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

Le 15 mai 2014

par

Hélène, Marguerite-Marie LACROUTE

Née le 8 mars 1988 à Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Pr Yves MILLEMANN

Professeur à l'ENVA

Assesseur : Dr Sébastien PERROT

Maître de conférences à l'ENVA

Invité : Dr Philippe GISBERT

**Responsable du service santé animale du laboratoire
Eurofins – Cœur de France (Allier)**

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.

Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département par intérim : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

UNITE DE CARDIOLOGIE - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU, Praticien hospitalier UNITE DE CLINIQUE EQUINE - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - M. LECHARTIER Antoine, Maître de conférences contractuel - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Maître de conférences contractuel UNITE D'IMAGERIE MEDICALE - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier UNITE DE MEDECINE - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel - M. BLOT Stéphane, Professeur* - Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel	DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION - M. PARAGON Bernard, Professeur DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - M. CHERMETTE René, Professeur (rattaché au DSBP) - Mme FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences contractuel - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur* - Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE - M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier
--	---

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. HESKIA Bernard, Professeur contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur	UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - M. REMY Dominique, Maître de conférences* UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - M. COURREAU Jean-François, Professeur - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur
--	--

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES - M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences DISCIPLINE : ANGLAIS - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié UNITE DE BIOCHIMIE - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié DISCIPLINE : ETHOLOGIE - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*	UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE - Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Maître de conférences* UNITE DE VIROLOGIE - M. ELOIT Marc, Professeur - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences *
---	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Président du jury,

Pour avoir accepté de présider notre jury de thèse,
Votre présence nous honore,
Hommage respectueux.

À Monsieur Yves MILLEMANN, Directeur de ma thèse,

Pour votre disponibilité et votre implication dans ce projet,
Pour vos relectures assidues et votre rigueur,
Et pour votre bonne humeur.

À Monsieur Sébastien PERROT, Assesseur de ma thèse,

Pour avoir accepté cet assessorat,
Pour votre réactivité.

À Monsieur Philippe GISBERT, membre invité du jury,

Pour ton implication dans cette étude et ta disponibilité,
Pour avoir accepté d'être membre invité de ce jury.

À Messieurs BOLON, ROUMEGOUS et THIERCY,

Pour avoir rendu cette étude possible,
Pour votre sens de l'organisation.

Et à l'ensemble des vétérinaires et éleveurs de l'Allier impliqués,

Pour tout ce temps passé à remplir mes questionnaires, MERCI !

À ma famille, de sang ou de cœur, et de toutes les espèces...

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	5
LISTE DES TABLEAUX.....	7
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	9
LISTE DES ANNEXES.....	11
INTRODUCTION.....	13
PREMIERE PARTIE : étude bibliographique.....	15
1. Étiologie des diarrhées/septicémies chez le veau nouveau-né.....	15
1.1. Diarrhées/septicémies dues à des agents autres que <i>Escherichia coli</i>	15
1.1.1. Causes virales.....	15
1.1.2. Causes parasitaires.....	19
1.1.3. Causes bactériennes.....	22
1.2. Diarrhées/septicémies dues à <i>Escherichia coli</i>	24
1.2.1. Structure bactérienne.....	24
1.2.1.1. Structure globale.....	24
1.2.1.2. Le matériel génétique et ses modalités de transfert.....	28
1.2.2. Classifications.....	29
1.2.2.1. Sérotypes.....	29
1.2.2.2. Pathovars.....	30
1.2.3. Physio-pathogénie associée aux différents pathovars.....	32
2. Facteurs de risque de diarrhée/septicémie et moyens de lutte préventifs.....	35
2.1. Facteurs environnementaux et liés à la conduite d'élevage.....	35
2.1.1. Caractéristiques du logement des veaux.....	35
2.1.1.1. Densité et allotement.....	35
2.1.1.2. Ambiance du bâtiment : température, hygrométrie, ventilation.....	35
2.1.1.3. Hygiène.....	36
2.1.2. Autres éléments de conduite d'élevage.....	37
2.1.2.1. Conditions de vêlage.....	37
2.1.2.2. Gestion de l'alimentation de la vache en fin de gestation.....	37
2.1.3. Gestion médicale des animaux.....	37
2.1.3.1. Parasitisme et infections intercurrentes chez la mère.....	37
2.1.3.2. Gestion médicale du veau dans ses premières heures de vie.....	38
2.1.3.3. Intérêt de la vaccination.....	38
2.2. Défaut de transfert d'immunité passive.....	40
2.2.1. Nécessité de la prise colostrale chez les ruminants.....	40
2.2.1.1. La barrière placentaire.....	40
2.2.1.2. Composition du colostrum.....	40
2.2.1.3. L'absorption intestinale des immunoglobulines colostrales.....	42
2.2.1.4. Rôles du colostrum.....	43
2.2.2. Principales causes de mauvais transfert d'immunité passive.....	45
2.2.2.1. Défaut de qualité du colostrum.....	45
2.2.2.2. Défaut de quantité de colostrum produite par la mère.....	51
2.2.2.3. Défaut d'ingestion ou d'absorption digestive par le veau.....	51
3. Moyens de lutte curatifs non spécifiques.....	57
3.1. Fluidothérapie.....	57

3.1.1.	Déséquilibres engendrés par la diarrhée.....	57
3.1.2.	Quantification des désordres hydriques, électrolytiques et acido-basiques	58
3.1.2.1.	Évaluation de la déshydratation	58
3.1.2.2.	Évaluation de l'équilibre acido-basique.....	59
3.1.2.3.	Évaluation de l'équilibre électrolytique	61
3.1.2.4.	Évaluation de l'hypoglycémie.....	61
3.1.3.	Mise en place de la fluidothérapie.....	62
3.1.3.1.	Choix de la voie d'administration	62
3.1.3.2.	Correction des différents déséquilibres	62
3.2.	Autres traitements symptomatiques	65
4.	Moyens de lutte "curatifs" spécifiques	67
4.1.	Un diagnostic étiologique difficile à établir	67
4.1.1.	De nombreux agents impliqués	67
4.1.2.	Absence de signe clinique pathognomonique	67
4.1.3.	Tests diagnostiques disponibles en pratique	67
4.1.4.	Agent pathogène en cause	68
4.1.5.	Associations d'agents pathogènes impliqués dans la diarrhée/septicémie.....	69
4.2.	Utilisation d'antibiotiques et risques associés.....	71
4.2.1.	Justification de l'utilisation d'antibiotiques lors de diarrhée/septicémie chez le veau nouveau-né et mode d'action.....	71
4.2.2.	Risques associés à cette utilisation.....	73
4.2.2.1.	Risques toxique et technologique.....	73
4.2.2.2.	Définition et détermination de l'antibiorésistance	74
4.2.2.3.	Résistance naturelle et résistance acquise	78
4.2.2.4.	Mécanismes de résistance acquise	79
4.2.2.5.	Support génétique de la résistance et dissémination : cas d' <i>E. coli</i>	80
4.2.2.6.	Cas des multirésistances.....	82
4.2.3.	Impact de l'utilisation des antibiotiques et conduites à risque.....	83
4.2.3.1.	Sélection des mutants résistants	83
4.2.3.2.	Conséquences sur la flore commensale.....	84
4.3.	État des lieux de l'antibiorésistance en France et évolutions possibles	86
4.3.1.	Les chiffres de l'antibiorésistance chez <i>E. coli</i> au cours des dernières années	86
4.3.2.	Intérêt d'une diminution de l'utilisation des antibiotiques.....	91
4.3.3.	Autres méthodes de lutte envisagées.....	92
	DEUXIEME PARTIE : étude expérimentale.....	95
1.	Introduction	95
2.	Matériels et méthodes.....	96
2.1.	Recrutement des vétérinaires préleveurs.....	96
2.2.	Choix des élevages impliqués et des veaux prélevés	96
2.2.1.	Périodes de prélèvements	96
2.2.2.	Choix des élevages et des veaux	97
2.2.2.1.	Groupe des veaux malades.....	97
2.2.2.2.	Groupe des veaux témoins	97
2.3.	Prélèvements réalisés	98
2.3.1.	Types de prélèvements réalisés	98
2.3.2.	Nombre de prélèvements réalisés.....	98
2.4.	Analyses réalisées sur le sang : dosage des IgG1.....	99

2.5.	Analyses réalisées sur les fèces	100
2.5.1.	Virologie : recherche d'antigènes de rotavirus et de coronavirus par ELISA	100
2.5.2.	Parasitologie : recherche d'ookystes de cryptosporidies.....	102
2.5.3.	Bactériologie	103
2.5.3.1.	Dénombrement des <i>E. coli</i>	103
2.5.3.2.	Identification des <i>E. coli</i>	105
2.5.3.3.	Typage des <i>E. coli</i>	106
2.5.3.4.	Réalisation d'antibiogrammes.....	106
2.6.	Questionnaires	107
2.6.1.	Éleveur	107
2.6.2.	Questionnaires vétérinaires	108
2.7.	Analyse statistique.....	108
3.	Résultats	110
3.1.	Prélèvements réalisés	110
3.1.1.	Nombre de prélèvements par cabinet	110
3.1.2.	Nombre de prélèvements par statut des veaux	111
3.1.3.	Caractéristiques des veaux prélevés	111
3.2.	Taux de réponses aux questionnaires	114
3.2.1.	Questionnaires éleveurs.....	114
3.2.2.	Questionnaires vétérinaires par veau prélevé.....	116
3.2.3.	Questionnaires portant sur les pratiques générales des vétérinaires	117
3.3.	Dosage des IgG1	117
3.3.1.	Valeur des taux d'IgG ₁	118
3.3.1.1.	Valeurs brutes obtenues, extrêmes et moyennes.....	118
3.3.1.2.	Valeurs comparées à un seuil.....	119
3.3.2.	Analyse des commémoratifs et des réponses aux questionnaires portant sur la prise colostrale	120
3.4.	Recherche des Rotavirus, Coronavirus et de <i>Cryptosporidium parvum</i>	121
3.4.1.	Résultats obtenus.....	121
3.4.2.	Analyse des réponses aux questionnaires.....	122
3.4.2.1.	Gestion de l'hygiène	123
3.4.2.2.	Prévention médicale mise en place	123
3.5.	Recherche et typage d' <i>E. coli</i>	124
3.5.1.	Dénombrement des <i>E. coli</i>	124
3.5.1.1.	Valeurs extrêmes et moyennes.....	124
3.5.1.2.	Nombre de souches par veau.....	125
3.5.2.	Typage des <i>E. coli</i>	125
3.6.	Association d'agents pathogènes	127
3.7.	Antibiorésistance chez les <i>E. coli</i> isolés.....	129
3.7.1.	Taux de résistance global observé pour chaque antibiotique.....	129
3.7.2.	Différence de taux de résistance entre veaux malades et veaux témoins... ..	131
3.7.3.	Principaux profils de résistance observés.....	132
3.7.4.	Différence de taux de résistance en fonction du cabinet préleveur.....	133
3.7.5.	Association avec l'utilisation d'antibiotiques	135
4.	Discussion.....	136
4.1.	Choix des préleveurs et des sujets.....	136
4.2.	Méthodes d'analyses	136
4.2.1.	Dosage IgG1.....	136
4.2.2.	Kit ELISA pour la recherche de rotavirus et coronavirus.....	137

4.2.3.	<i>Cryptosporidium</i>	137
4.2.4.	Bactériologie	137
4.2.4.1.	Dénombrement.....	137
4.2.4.2.	Typage.....	139
4.2.4.3.	Antibiogrammes.....	139
4.2.5.	Statistiques	139
4.3.	Questionnaires.....	139
4.4.	Dosage des IgG1	140
4.4.1.	Valeurs obtenues	140
4.4.2.	Analyse statistique des valeurs obtenues et des réponses aux questionnaires.....	140
4.5.	Agents pathogènes isolés	141
4.5.1.	<i>E. coli</i>	141
4.5.2.	Rotavirus et coronavirus.....	142
4.5.3.	<i>Cryptosporidium</i>	143
4.5.4.	Influence de la vaccination des mères.....	143
4.6.	Association d'agents pathogènes	143
4.7.	Antibiorésistance chez les <i>E. coli</i> isolés.....	144
4.7.1.	Taux de résistance chez les germes isolés de veaux malades	144
4.7.2.	Différence de résistance en fonction du statut des veaux.....	144
4.7.3.	Lien avec l'utilisation d'antibiotiques dans les élevages	144
CONCLUSION		147
BIBLIOGRAPHIE		149
ANNEXES.....		159

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différents constituants d'une particule de rotavirus, d'après SINGER <i>et al.</i> (2010).....	15
Figure 2 : Représentation schématique des différents constituants d'une particule de coronavirus, d'après ENJUANES (2003)	17
Figure 3 : Représentation schématique des différents éléments composant un germe Gram négatif et antigènes associés (schéma personnel)	25
Figure 4 : Représentation schématique des différentes couches constituant la délimitation entre les milieux intracellulaire et extracellulaire chez les bactéries Gram négatif, d'après SZALO <i>et al.</i> (2006)	27
Figure 5 : Pourcentages des différentes classes d'immunoglobulines dans le colostrum de vache produit le premier jour post-partum, adapté d'ALLEMAND (2008)	42
Figure 6 : Schéma d'une plaque d'immunodiffusion radiale, où les puits 1 à 4 sont ceux de la gamme étalon, les six suivants permettant le dosage des Ig des échantillons à tester (schéma personnel).....	49
Figure 7 : Schéma d'une démarche possible face à une épidémie de diarrhée chez des veaux nouveau-nés selon les seuils couramment admis dans la littérature, et en complément d'un questionnement de l'éleveur sur ses pratiques d'élevage autour du part (réalisation personnelle).....	56
Figure 8 : Schéma représentant les conséquences organiques des pertes en eau dues à la diarrhée et la relation entre les équilibres hydrique, électrolytique et acido-basiques, d'après ALBIN (2002)	58
Figure 9 : Représentation de la différence entre la croissance d'une souche cultivée sans antibiotique et celle d'une même souche cultivée avec en fonction de la concentration de l'antibiotique donné dans le milieu de culture, d'après ENRIQUEZ (2002)	75
Figure 10 : Schéma d'une culture bactérienne en milieu gélosé sur lequel un disque d'antibiotique a été déposé, la courbe au-dessous représentant la concentration en antibiotique ayant diffusé dans la gélose (schéma personnel)	76
Figure 11 : Schéma d'une boîte de culture d'une souche pure d' <i>E. coli</i> utilisée pour réaliser un antibiogramme par diffusion radiale, testant trois antibiotiques et les diamètres d'inhibition étant lus après 18 heures d'incubation à 37°C (schéma personnel).....	77
Figure 12 : Taux de résistance d' <i>E. coli</i> humains aux céphalosporines de troisième génération en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011).....	89
Figure 13 : Taux de résistance d' <i>E. coli</i> humains aux aminosides en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011).....	89
Figure 14 : Taux de résistance d' <i>E. coli</i> humains aux fluoroquinolones en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011)	90
Figure 15 : Évolution du pourcentage de résistance aux principales familles d'antibiotiques d'intérêt en médecine humaine chez les <i>E. coli</i> isolés chez l'Homme en France, d'après ECDC (2011).....	91
Figure 16 : Nombre de prélèvements réalisés en fonction de la semaine et du statut des veaux	97
Figure 17 : Dispositif de lecture des plaques d'immunodiffusion radiale	100

Figure 18 : Schéma des différents composants et des différentes réactions survenant lors de la réalisation d'un test ELISA en sandwich	101
Figure 19 : Représentation du résultat obtenu pour le test de 6 échantillons testés pour rotavirus et coronavirus à l'aide du kit ELISA Pathasure® Enteritis (Biovet)	101
Figure 20 : Photographie d'un champ de microscope au grossissement 25, permettant l'observation de trois ookystes dans un prélèvement de fèces d'un veau malade (photographie personnelle).....	103
Figure 21 : Schéma représentant les différentes étapes réalisées en bactériologie sur les fèces d'un veau (schéma personnel).....	104
Figure 22 : Photographie des géloses de Drigalski ensemencées avec les solutions des dilutions 10^{-6} (à gauche) et 10^{-8} (à droite), le résultat lu sur la gélose à 10^{-8} étant de 10 colonies soit une concentration de 1.10^9 colonies / g de fèces (photographie personnelle)	105
Figure 23 : Bordereau fourni par le lecteur MiniAPI® (BioMérieux) après analyse d'une galerie réalisée à partir de l'une des trois souches d'un veau diarrhéique (photographie personnelle).....	105
Figure 24 : Schéma d'une gélose de Mueller-Hinton sur laquelle les disques antibiotiques ont été déposés pour tester la sensibilité de la souche cultivée à ces antibiotiques	106
Figure 25 : Taux de réponse aux questionnaires éleveurs par thème de questions et par statut des veaux (moyennes et écarts-types)	115
Figure 26 : Taux de réponse aux questionnaires vétérinaires par élevage, par thème de questions et par statut des veaux (moyennes et écarts-types)	116
Figure 27 : Répartition des taux d'IgG1 sérique chez les veaux en fonction de leur statut au cours des deux saisons de prélèvement	119
Figure 28 : Nombre de cas positifs pour <i>Cryptosporidium parvum</i> et nombre de prélèvements par tranche d'âge et en fonction du statut des veaux.	122
Figure 29 : Représentation du taux de résistance aux différentes familles d'antibiotiques des germes isolés par chaque cabinet vétérinaire préleveur.....	134

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Définition et espèces cibles des différents pathovars d' <i>E. coli</i> regroupés par classes, d'après MAINIL (2003).....	31
Tableau 2 : Composition moyenne du colostrum lors du premier jour post-partum chez une vache Prim'Holstein, adapté de ALLEMAND (2008) et MANGIN (2002).....	41
Tableau 3 : Guide clinique pour l'évaluation du pourcentage de déshydratation chez un veau nouveau-né atteint de gastro-entérite, d'après ROLLIN (2002).....	59
Tableau 4 : Table permettant d'obtenir un score d'acidose, et sa traduction en déficit en bases (BD) chez un veau de plus de 7 jours, d'après ROLLIN (2002).....	60
Tableau 5 : Table d'évaluation simplifiée de l'acidose chez les veaux diarrhéiques de plus ou moins de 7 jours, d'après ROLLIN (2002).....	61
Tableau 6 : Principaux agents pathogènes rencontrés et leurs associations dans les fèces de 139 veaux diarrhéiques testés par BOURGOIN (1996) et 44 testés par BEJAN (2008), pour qui les informations manquantes sont notées par un « - »	69
Tableau 7 : Mode d'action des principales familles d'antibiotiques d'usage vétérinaire, avec en gras les principales familles d'intérêt face à un cas de diarrhée néonatale, d'après ENRIQUEZ (2002)	72
Tableau 8 : Récapitulatif des mécanismes et des supports de la résistance à quelques familles d'antibiotiques chez les bactéries Gram négatif, d'après CHASLUS-DANCLA <i>et al.</i> (2002), ENRIQUEZ (2002), PIDDOCK (2006), RAHAMAN <i>et al.</i> (1998) et HARA <i>et al.</i> (1991)	82
Tableau 9 : Évolution du pourcentage de résistance aux principales familles d'antibiotique d'intérêt en médecine humaine chez les <i>E. coli</i> isolés chez l'Homme en France, d'après ECDC (2011)	90
Tableau 10 : Nombre de veaux prélevés par élevage.....	99
Tableau 11 : Nombre de prélèvements inclus dans l'analyse des agents pathogènes réalisés par chaque cabinet et pour chaque statut, avec en grisé les cabinets ne s'étant engagés que sur quelques prélèvements	110
Tableau 12 : Causes d'exclusion des veaux et nombres totaux de prélèvements inclus dans l'étude	111
Tableau 13 : Proportion des signes observés chez les veaux présentant de la diarrhée	112
Tableau 14 : Nombre de questionnaires reçus pour les veaux inclus dans l'étude en fonction de leur statut.	114
Tableau 15 : Taux de réponse minimums et maximums par groupe de questions en fonction du statut du veau	115
Tableau 16 : Taux de réponse minimums et maximums par groupe de questions en fonction du statut du veau	116
Tableau 17 : Taux de réponse aux questionnaires vétérinaires portant sur les pratiques générales de l'antibiothérapie.....	117
Tableau 18 : Données vis-à-vis du seuil de 10 g/L pour les taux sériques d'IgG1 des veaux	119
Tableau 19 : Données vis-à-vis du seuil de 15 g/L pour les taux sériques d'IgG1 des veaux	119

Tableau 20 : Résultats des recherches de rotavirus, coronavirus et <i>Cryptosporidium</i> sur l'ensemble des deux années selon le statut des veaux	121
Tableau 21 : Nombre de réponses aux principales questions portant sur l'hygiène parmi les questionnaires éleveurs et vétérinaires, et significativité statistique de la différence malade-témoin observée	123
Tableau 22 : Répartition des délais d'arrivée au laboratoire des prélèvements en fonction du statut des veaux	124
Tableau 23 : Répartition du nombre de souches présentant ou non au moins un des facteurs recherchés en fonction du statut malade ou témoin du veau et total	125
Tableau 24 : Nombre de souches de chaque type et pourcentage parmi les souches typables, selon l'année et le statut et résultats totaux.....	126
Tableau 25 : Ensemble des associations possibles et fréquence d'observation dans notre étude selon le statut du veau.....	128
Tableau 26 : Ensemble des associations observées chez les veaux malades au cours des deux années d'étude	129
Tableau 27 : Pourcentage de résistance par antibiotique sur l'ensemble des souches d' <i>E. coli</i> incluses dans l'étude.....	130
Tableau 28 : Comparaison des taux de résistance par molécule et par statut sur l'ensemble des deux années quand la comparaison est possible.....	131
Tableau 29 : Nombre de cas pour chacun des profils de résistance aux aminosides observés	133
Tableau 30 : Exposition des veaux testés aux principales molécules antibiotiques en fonction de leur statut.....	135
Tableau 31 : Délai d'acheminement au laboratoire et mode de conservation des prélèvements selon le statut des veaux.....	138

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AEEC : *Escherichia coli* attachant-effaçant
APEC : *Escherichia coli* pathogène aviaire
ARN : Acide ribonucléique
ARNm : Acide ribonucléique messenger
BD : Déficit en bases
BDIVET : Base de données d'interface pour les vétérinaires sanitaires
BLSE : Bétalactamase à spectre élargi
CA-SFM : Comité antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
C.I.50 : Concentration inhibitrice 50
CLSI : Clinical and laboratory standards institute
CMI : Concentration minimale inhibitrice
DAEC : *Escherichia coli* adhérent diffus
DGAL : Direction générale de l'alimentation
ECDC : European center for disease prevention and control
EHEC : *Escherichia coli* entéro-hémorragique
EIEC : *Escherichia coli* entéro-invasif
EPEC : *Escherichia coli* entéro-pathogène
ETEC : *Escherichia coli* entéro-toxinogène
EUCAST : European committee on antimicrobial susceptibility
GDS : Groupement de défense sanitaire
GMQ : Gain moyen quotidien
HCO₃⁻ : Ion bicarbonate
IC95% : Intervalle de confiance à 95 %
Ig : Immunoglobuline
K⁺ : Ion potassium
kg : kilogramme
LPS : Lipopolysaccharide
M : Malade
McF : Mac Farland
mL : millilitre
mmole : millimole
MPEC : *Escherichia coli* mammopathogène
Na⁺ : ion sodium
NCCLS : National committee for clinical laboratory standards
NMEC : *Escherichia coli* responsable de méningites néonatales
NTEC : *Escherichia coli* nécrotoxinogène
OR : odds ratio
PBP : Penicillin binding protein
PCR : Polymerase chain reaction
ppm : partie par million
PV : Poids vif
Résabo : Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes bovines

Résapath : Réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales

SEPEC : *Escherichia coli* septicémique

SIGAL : Système général d'information de la DGAL

STEC : *Escherichia coli* shigatoxinogène

T : Témoin

UFC : Unité formant une colonie

UPEC : *Escherichia coli* uropathogène

VTEC : *Escherichia coli* vérotoxino-gène

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Protocole de l'étude	159
Annexe 2 : Détails du financement de l'étude	163
Annexe 3 : Schéma des étiquettes apposées sur les prélèvements	164
Annexe 4 : Feuille de commémoratif veau malade	165
Annexe 5 : Feuille de commémoratif veau témoin	166
Annexe 6 : Questionnaire éleveur	167
Annexe 7 : Questionnaires vétérinaires.....	172
Annexe 8 : Extrait du fichier Excel reprenant les résultats d'analyses de laboratoire	178
Annexe 9: Communications réalisées ou prévues portant sur les résultats de cette étude.....	179
Annexe 10 : Taux de réponse aux questionnaires éleveurs pour chaque question	180
Annexe 11 : Taux de réponse aux questionnaires vétérinaires par élevage pour chaque question	184

INTRODUCTION

Les diarrhées néonatales représentent l'une des affections les plus importantes rencontrées en élevage bovin. En effet, la mortalité engendrée pénalise le renouvellement des cheptels laitiers et cause des pertes économiques majeures, encore plus préjudiciables dans les élevages allaitants, les veaux étant la principale source de revenu dans ce type de production (TORSEIN *et al.*, 2011). Ainsi en France, pour un élevage réalisant 100 naissances par an, avec un ratio mâle/femelle de 50 %, une prévalence de 20 % avec seulement 4 % de mortalité, la perte pour l'éleveur est estimée à plus de 4 250 € par an. Ceci prend en compte les frais vétérinaires et les pertes du fait de la mortalité, avec le rachat de nouvelles génisses (COLLECTIF, 2013). En effet, dans de nombreux cas, l'intervention du vétérinaire est nécessaire, afin de mettre en place une réhydratation adaptée et d'envisager l'utilisation d'un antibiotique. Les antibiotiques étant fréquemment utilisés chez les veaux diarrhéiques, de manière curative ou préventive, le risque de voir émerger des résistances bactériennes chez les germes pathogènes mais aussi chez les germes commensaux est grand. Outre le risque d'échecs thérapeutiques, l'impact possible sur la santé humaine est le point central de l'ensemble des mesures actuellement prises par les institutions. En effet, ces résistances concernent les germes animaux, mais aussi environnementaux et humains. C'est la cause même de la mise en place du plan national appelé « Ecoantibio 2012-2017 » et dont l'objectif est une réduction de 25 % en 5 ans de la consommation d'antibiotiques en médecine vétérinaire (MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT, 2013b). Cependant, la mise en place de mesures efficaces nécessite tout d'abord la connaissance de la situation initiale, puis la détermination des différents facteurs de risque et enfin la quantification de l'impact de telles mesures. La situation actuelle dans l'Allier étant assez mal connue, cette étude a pour but de décrire les diarrhées néonatales au sein des élevages du département, en déterminant les agents pathogènes et les facteurs de risque associés au développement des diarrhées chez les veaux nouveau-nés. Un point concernant l'antibiorésistance a aussi été fait, en étudiant les taux de résistance observés chez les colibacilles isolés et en recherchant certains facteurs associés à des taux de résistance plus élevés. Ainsi, les pratiques des éleveurs et des vétérinaires pourraient être adaptées afin de remplir les objectifs fixés par le gouvernement et d'améliorer la protection de la santé publique.

PREMIERE PARTIE : étude bibliographique

1. Étiologie des diarrhées/septicémies chez le veau nouveau-né

1.1. Diarrhées/septicémies dues à des agents autres que *Escherichia coli*

Plusieurs éléments peuvent provoquer de la diarrhée chez les veaux nouveau-nés. Des facteurs environnementaux et liés à la conduite d'élevage sont évoqués, tels que des carences en molybdène ou en cuivre, ou la distribution d'un lactoremplaceur de mauvaise qualité (BLANCHARD, 2012). Cependant il semble que les causes infectieuses soient prédominantes chez les veaux nouveau-nés, qu'elles en soient la cause primaire ou qu'elles découlent de fautes dans la conduite d'élevage. Ces affections peuvent être responsables d'une morbidité et d'une mortalité importante. Ce paragraphe a pour objet de décrire les principaux agents pathogènes rencontrés chez le veau dans ses premiers jours de vie.

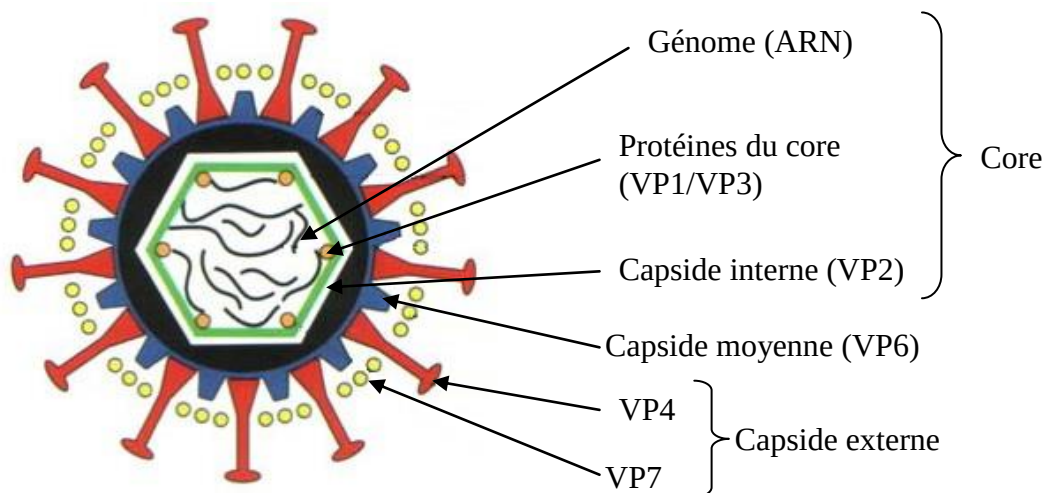
1.1.1. Causes virales

Plusieurs virus peuvent être isolés chez le veau nouveau-né présentant de la diarrhée. Leur implication est parfois discutée, mais elle semble admise pour deux d'entre eux, qui sont prédominants dans les premiers jours de vie du veau : les rotavirus et les coronavirus.

1.1.1.1. Les rotavirus

Ce genre appartient à la famille des *Reoviridae*. Ce sont des particules sphériques d'environ 70 nm de diamètre. La forme infectante est composée de 3 éléments structuraux représentés sur la Figure 1 ci-dessous :

Figure 1 : Représentation schématique des différents constituants d'une particule de rotavirus, d'après SINGER *et al.* (2010)



- un core central, qui contient un ARN bicaténaire fragmenté. Ce core est formé par des protéines, telles que VP2, constituant d'une capside interne, ou encore des enzymes. Certaines jouent un rôle majeur dans le cycle viral, comme l'ARN polymérase ARN dépendante qui transcrit l'ARN viral en ARNm, permettant la synthèse des protéines virales en détournant les voies de synthèse des cellules infectées ;

- une capside moyenne, constituée par un seul polypeptide (VP6) ;
- une capside externe comprenant plusieurs polypeptides, dont deux interviennent dans l'attachement aux cellules cibles. En l'absence de cette seconde capsule, les virions dits « incomplets » ne sont pas infectants, puisqu'il a été observé qu'ils ne pouvaient pas pénétrer dans les cellules (DUFRASNE, 2003). La variabilité des polypeptides capsulaires est aussi utilisée pour typer les rotavirus. Ainsi, la protéine VP6 de la capsule moyenne permet de différencier au moins 7 sérogroupes (de A à G), dont 3 sont retrouvés chez les bovins (A, B et C), le séro groupe A étant le plus fréquemment retrouvé chez le veau diarrhéique. Chaque séro groupe comprend ensuite plusieurs génotypes, déterminés par les gènes codant les protéines de la capsule externe. Dans le séro groupe A par exemple, la glycoprotéine VP7 et la protéine VP4 permettent de déterminer au moins 19 et 27 génotypes respectivement (MILLEMANN & BELBIS, 2011). Mais outre leur utilisation pour la classification, ces antigènes de surface jouent un rôle pathogénique majeur pour ce virus. En effet, VP4 est une hémagglutinine, protéine d'attachement aux récepteurs cellulaires, facteur de virulence pour ce virus. VP7 quant à elle est très immunogène, et est la cible des anticorps neutralisants (issus du colostrum ou synthétisés par le veau).

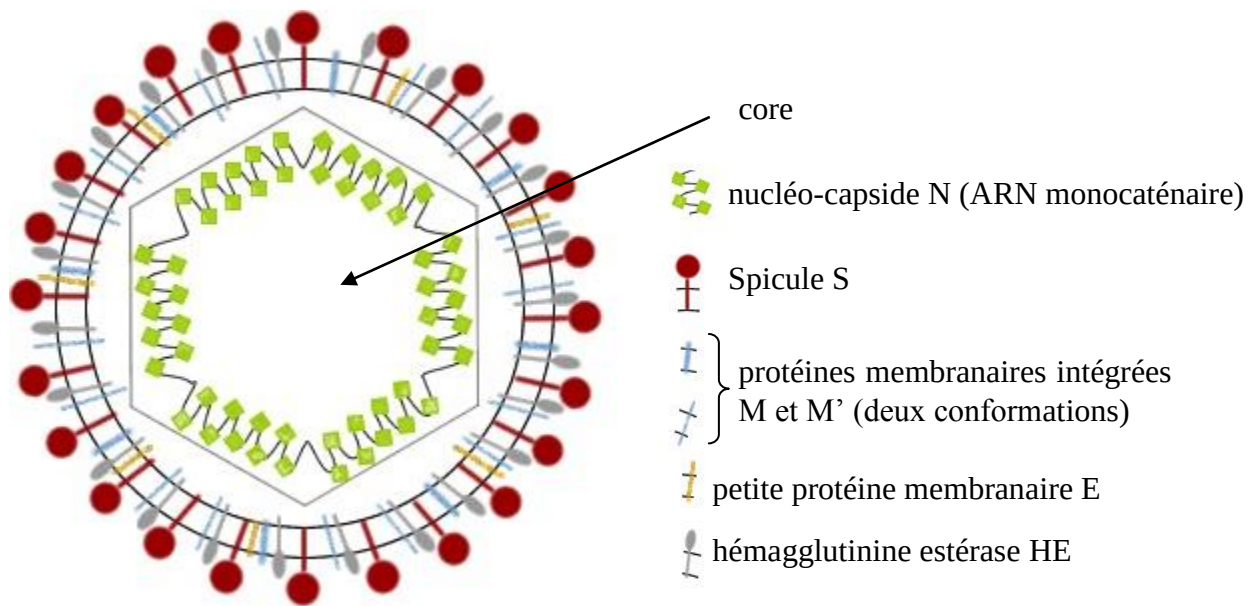
Les veaux atteints ont le plus souvent entre 1 et 8 semaines d'âge, avec un pic à 2 semaines, mais on peut en trouver à tout âge, même chez les bovins adultes (CONSTANT, 2001). Les animaux malades s'infectent à partir d'autres qui excrètent massivement. Ceux-ci, malades ou infectés subcliniques, excrètent en continu. De plus, en tant que virus nu, il présente globalement une grande résistance dans l'environnement, faisant de ce dernier une autre source de contamination possible. Ainsi il peut persister plusieurs semaines dans l'eau. Sur les surfaces non poreuses ou dans l'air, il peut rester infectant jusqu'à plusieurs heures, surtout lorsque l'humidité relative ne dépasse pas 50 %. Enfin, il peut persister jusqu'à 4 heures sur les mains de l'Homme, qui devient lui aussi un vecteur d'un animal à l'autre. Le rotavirus est de plus résistant à la majorité des désinfectants usuels ou des produits d'hygiène des mains, rendant encore plus difficile son élimination au sein des élevages (ANSARI *et al.*, 1991). En France, la prévalence de l'excrétion de ce virus varie selon les études entre 20 et 95 % chez les veaux à diarrhée et entre 10 et 20 % chez les veaux sains (BLANCHARD, 2012 ; BOUQUET, 2011 ; CONSTANT, 2001 ; MAËS, 2010 ; NACIRI *et al.*, 1999). En effet, pour BLANCHARD (2012), lors du pic compris entre 7 et 14 jours *postpartum*, l'excrétion concerne 53 à 95 % des veaux malades.

Les rotavirus déclenchent des diarrhées pâteuses à liquides, parfois mucoïdes, et pouvant contenir du sang. Des signes généraux sont parfois associés à ces diarrhées : abattement, anorexie, voire déshydratation et hyperthermie. La phase clinique dure en général 1 à 6 jours, et le taux de mortalité est faible en l'absence d'autres affections concomitantes, et à l'exception de certaines souches plus virulentes.

1.1.1.2. Les coronavirus

Les coronavirus appartiennent à la famille des *Coronaviridae*. Ce sont des particules le plus souvent sphériques ou ovales, d'un diamètre d'environ 120 nm. Leur schéma structural est présenté en Figure 2 ci-après :

Figure 2 : Représentation schématique des différents constituants d'une particule de coronavirus, d'après ENJUANES (2003)



L'ARN monocaténaire est enfermé dans une enveloppe membranaire, dans laquelle sont enchâssées des spicules. Ces structures boursoufflées à leurs extrémités confèrent à ces virus un aspect en couronne au microscope électronique, à l'origine du nom donné à cette famille.

La contamination se fait le plus souvent par voie orale, mais la voie respiratoire est aussi possible. Les principales sources de contamination sont, d'une part, les veaux et, d'autre part, les adultes cliniquement sains, chez qui l'excrétion est plus importante l'hiver et autour du part. Le caractère enveloppé de ce virus le rend moins résistant dans l'environnement, où il reste infectant quatre jours dans les matières organiques (MILLEMANN & BELBIS, 2011). Cette résistance se trouve augmentée dans un environnement froid et humide, mais il reste cependant sensible à la majorité des désinfectants. Le milieu extérieur n'est donc pas une source majeure de contamination, mais la présence de porteurs sains permet la persistance des virus dans l'élevage infecté d'une année sur l'autre. Leur prévalence est très variable, mais ils sont retrouvés chez 10 à 15 % des veaux à diarrhée et moins de 5 % des veaux sains en moyenne (MAËS, 2010). Certains auteurs rapportent tout de même un portage asymptomatique chez 5 à 30 % des veaux (MILLEMANN & BELBIS, 2011). BLANCHARD (2012) a observé une prévalence de 30,5 % chez les animaux malades, qui ont un âge moyen de 10,4 jours, allant de 1 à 30 jours. Cet agent pathogène touche en effet principalement les veaux de 1 à 2 semaines, mais peut être retrouvé chez les animaux de 1 jour à 3 mois. Nous avons vu que les adultes peuvent également être porteurs sains (MILLEMANN & BELBIS, 2011). À l'âge adulte, le taux de séroprévalence dans les troupeaux atteint fréquemment 90%. La grande majorité des bovins a donc déjà été en contact avec ce virus. Certains peuvent même présenter une expression clinique, les coronavirus étant également responsables de la dysenterie hivernale, affection rencontrée chez les vaches laitières.

Les coronavirus provoquent des symptômes digestifs et respiratoires. La diarrhée observée ressemble à celle provoquée par les rotavirus, mais les signes sont souvent plus sévères. Les selles contiennent parfois du lait caillé. L'appétit est conservé le plus souvent, et la diarrhée guérit en 3 à 6 jours en moyenne. Il peut cependant exister des cas plus sévères, présentant alors hyperthermie, déshydratation, léthargie voire un état de choc hypovolémique.

1.1.1.3. Pathogénie des affections à rotavirus et coronavirus

Rotavirus et coronavirus agissent de façon assez similaire. Ils se fixent aux cellules épithéliales de l'intestin grêle le plus souvent, dans lesquelles ils pénètrent et gagnent le cytoplasme où ils se répliquent. Leur libération dans la lumière intestinale entraîne alors une dégénérescence des microvillosités de la bordure en brosse et une lyse cellulaire (DUFRASNE, 2003). Cela concerne les cellules de l'apex des villosités pour les rotavirus, alors que l'ensemble des villosités est touché par les coronavirus, ce qui explique la plus grande sévérité clinique de cette infection. Un renouvellement par des cellules immatures issues des cryptes a alors lieu. Ces dernières étant insensibles aux virus, la diarrhée se trouve autolimitée. Cependant, ce bénéfice tiré de la faible différenciation de ces cellules entraîne aussi un inconvénient majeur. Leur équipement enzymatique incomplet réduit leur rôle dans la digestion des aliments. L'augmentation de la part de ces cellules au sein de l'épithélium digestif entraîne un défaut de digestion par absence de lactase et un défaut d'absorption des nutriments, des électrolytes et donc de l'eau. La diarrhée est alors due dans un premier temps à une maldigestion-malabsorption. Ensuite, le lactose non digéré entraîne une multiplication bactérienne dans le tube digestif et un appel d'eau par effet osmotique. L'hypertrophie des cryptes est également responsable d'une hypersécrétion, d'où une diarrhée qui devient mixte. Ceci rentre dans l'ordre en quelques jours après élimination fécale des virus et des débris cellulaires associés, par différenciation des cellules immatures des cryptes (CONSTANT, 2001).

1.1.1.4. Autres virus pouvant intervenir

D'autres virus moins connus peuvent être impliqués dans les diarrhées néo-natales des bovins. Ceci peut être dû à l'émergence de nouveaux virus, ou au perfectionnement des techniques diagnostiques qui permettent la mise en évidence de virus déjà existants. Ils sont souvent moins bien connus, et leur rôle pathogène dans les diarrhées est encore parfois controversé. Les torovirus ont récemment été identifiés en tant qu'agent causal, mais aucun test diagnostique de routine n'a pu être mis sur le marché face à la complexité de leur mise en évidence. Ils toucheraient des veaux d'âge très variable, allant de quelques jours à une dizaine de mois (BLANCHARD, 2012), voire parfois des adultes. La prévalence de l'infection est variable selon les pays, mais peut être élevée. HERRERA-LUNA *et al.* (2009) ont identifié ce virus chez 11 % des veaux malades et 0,7 % des veaux témoins testés. Une forte circulation au sein des troupeaux est aussi notée, avec 55 % de séropositifs au Royaume-Uni et jusqu'à 95 % en Allemagne ou aux Pays-Bas (MILLEMANN & BELBIS, 2011). La gravité clinique d'une telle infection est elle aussi variable, selon la qualité du transfert colostrale. Sur le plan histopathologique, les torovirus présentent la particularité d'atteindre à la fois les villosités et les cryptes, créant des zones de nécrose (MILLEMANN & BELBIS, 2011).

Les parvovirus seraient aussi responsables de diarrhée du veau, principalement lors du sevrage, mais leur rôle chez le nouveau-né reste peu connu (NAYLOR, 2005).

Les adénovirus, outre leur tropisme respiratoire, peuvent aussi être à l'origine de diarrhée chez le jeune veau (KEY & DERBYSHIRE, 1984). Des cas mortels ont été rapportés, comme le cas d'un veau Holstein de 3 semaines atteint d'une entérite nécrosante sévère ayant entraîné diarrhée avec sang, anorexie et mort en 24 heures (ORR, 1984).

L'intervention du virus de la diarrhée virale bovine est elle aussi discutée. Cependant, ce virus peut être responsable d'un affaiblissement des défenses immunitaires du veau infecté à sa naissance. Le veau infecté sera donc plus sensible aux différents agents, et le traitement sera souvent moins efficace. Enfin, la circulation de ce virus chez l'adulte est responsable d'un défaut de qualité du colostrum, augmentant encore la sensibilité des veaux nouveau-nés (MILLEMANN & BELBIS, 2011).

De nombreux autres virus ont été retrouvés associés à des diarrhées (calicivirus, bocavirus, astrovirus, picornavirus...) (MILLEMANN & BELBIS, 2011), mais leur rôle et leur caractère pathogène sont encore discutés.

1.1.2. Causes parasitaires

Le principal parasite semblant impliqué dans les diarrhées néo-natales des veaux est *Cryptosporidium parvum*. Ce protozoaire appartient à la sous-classe *Coccidia*, à l'ordre *Eimeriina* et est le seul genre de la famille des *Cryptosporidiidae* (CONSTANT, 2001).

Cependant, son rôle dans l'apparition des diarrhées néonatales n'est pas clair. En effet, chez les veaux malades, il est très souvent associé à un ou plusieurs autres agents pathogènes. De plus, il existe des veaux porteurs sains. Cependant, des expériences d'ingestion d'ookystes ont mis en évidence son rôle pathogène. Ainsi, de nos jours, il est admis que *Cryptosporidium parvum* intervient dans les diarrhées néonatales, mais la discussion persiste quant à son caractère pathogène strict ou opportuniste. Il mérite cependant d'être recherché en cas de diarrhée chez le veau ne serait-ce qu'en raison de son caractère zoonotique. En effet, sa très faible spécificité d'hôte en fait un parasite à répartition mondiale et retrouvé chez de très nombreux mammifères dont l'Homme, des infestations croisées ayant souvent été observées (BOURGOIN, 1996).

Le cycle de développement de ce parasite est présenté sur la ci-après. Il se déroule en trois étapes : une reproduction asexuée (schizogonie), une reproduction sexuée (gamétogonie) et une sporulation (sporogonie). La période pré-patente est de 2 à 7 jours.

Des ookystes sporulés sont excrétés dans les fèces. Ainsi les veaux infestés sont une source majeure de contamination directe ou indirecte, ainsi que les adultes porteurs sains et d'autres espèces animales, comme les rongeurs. De plus, les ookystes sporulés sont extrêmement résistants dans le milieu extérieur, et il existe peu de désinfectants efficaces. Ceci conduit à des taux de morbidité parfois proches de 100 % dans les élevages. NACIRI *et al.* (1999) ont observé une prévalence d'infestation de presque 35 % chez les veaux de 4 à 7 jours présentant de la diarrhée, contre 15 % chez les veaux sains. Des résultats similaires chez les veaux de 3 à 10 jours ont été notés (BOUQUET, 2011). En Corrèze en 1996, près de 50 % des veaux à diarrhées inclus dans l'étude de BOURGOIN (1996) étaient positifs pour ce protozoaire. Les diarrhées dues à cet agent touchent surtout les veaux âgés de plus d'une semaine, avec un pic entre 8 jours et 2-3 semaines selon les études. Cependant, on peut en retrouver chez les veaux allant de 2 jours à plusieurs mois. NACIRI *et al.* (1999) ont mis en évidence l'excrétion d'ookystes chez 16 % des veaux de 4 jours. Ceci implique qu'ils se soient contaminés très précocement, lors de la mise-bas. De même, l'excrétion atteint 90 à 95 % chez les veaux prélevés à 8 jours. En prenant en compte la phase d'incubation, ceci implique qu'entre 70 et 80 % des veaux de 4 jours soient déjà contaminés. D'après BOURGOIN (1996), la prévalence varie beaucoup selon les pays et selon les études de 8,7 à 97,5 % concernant l'excrétion d'ookystes. Concernant la séroprévalence, elle est supérieure à 80 % chez la majorité des espèces testées, atteignant 100 % chez les 25 bovins pris en compte (BOURGOIN, 1996).

Outre cette morbidité parfois importante, le taux de mortalité due à *Cryptosporidium parvum* seul reste faible. Il joue cependant un rôle défavorable sur les défenses immunitaires du veau, qui sera plus sensible aux autres agents pathogènes. Ainsi, parmi les 12 veaux morts de diarrhée dans l'étude de NACIRI (1999), 10 étaient excréteurs d'oocystes de *Cryptosporidium parvum*.

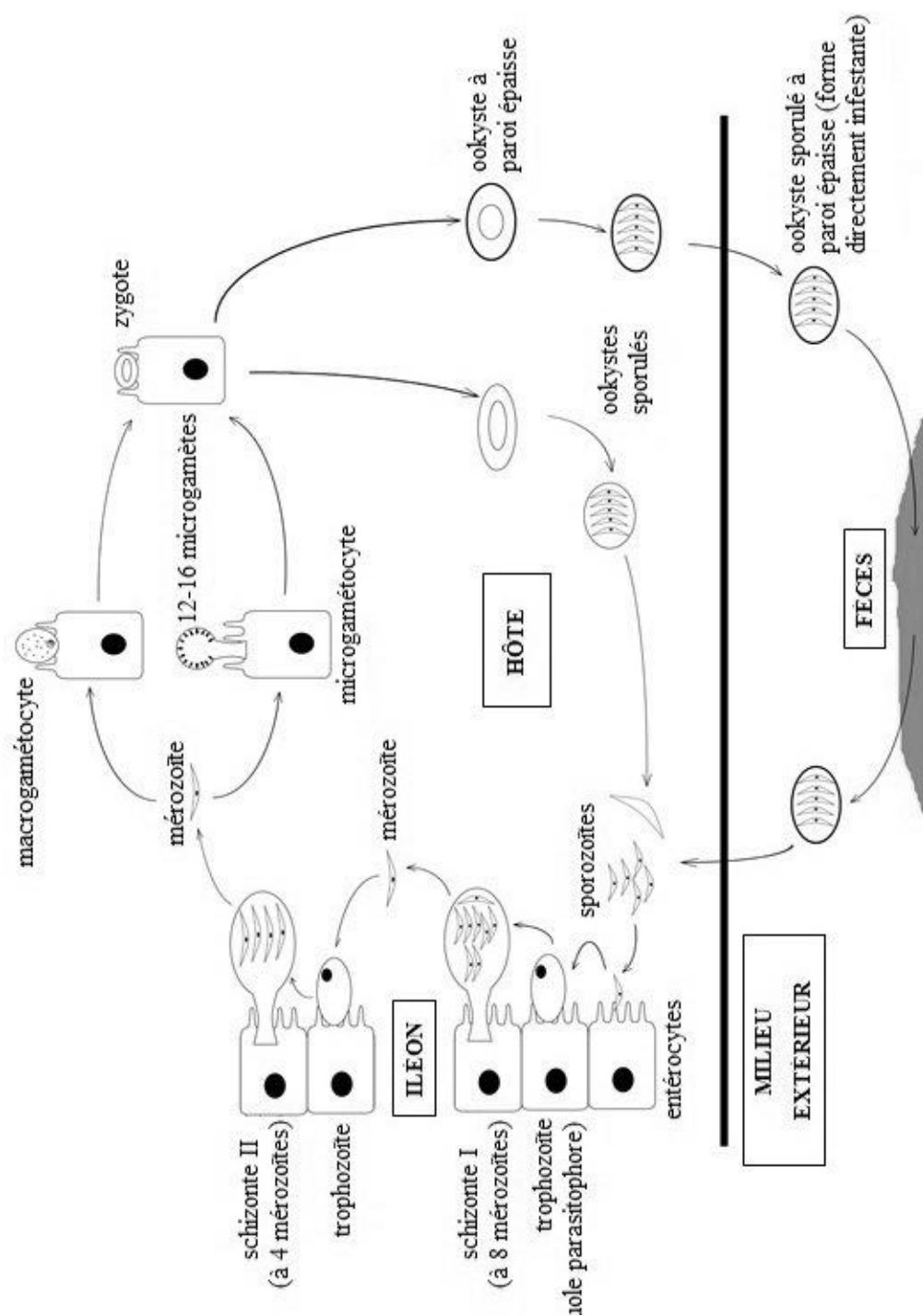
Les signes cliniques ne sont pas spécifiques, avec une diarrhée d'aspect variable, parfois intermittente, assez souvent associée à une atteinte de l'état général : dépression, anorexie, déshydratation, hyperthermie. La mort peut survenir alors en 1 à 2 jours. Sinon, la convalescence est longue et des rechutes sont possibles (CONSTANT, 2001).

La pathogénie de l'infestation par ce parasite est encore mal connue. En effet, une altération de la structure des villosités causerait une diarrhée par malabsorption-maldigestion, mais des facteurs entérotoxiques ou une inhibition de l'absorption du sodium sont aussi envisagés.

Il est prouvé chez l'Homme et la souris que la réponse immunitaire la plus cruciale pour lutter contre cette infestation est celle à médiation cellulaire. Ainsi, les anticorps colostraux ne suffiraient pas à prévenir l'infestation ou l'apparition de la diarrhée due aux cryptosporidies chez les jeunes veaux (BOURGOIN, 1996).

D'autres parasites tels que des *Eimeria* ou des *Giardia* peuvent aussi causer des diarrhées chez les veaux. Leur rôle est cependant contesté et ils interviendraient chez les veaux plus âgés, puisque les durées d'incubation correspondantes ne permettent pas l'apparition de signes cliniques avant plusieurs semaines même sous l'hypothèse d'une contamination dès la naissance (NAYLOR, 2005).

Figure 3 : Cycle de développement de *Cryptosporidium parvum*, schéma personnel adapté de CONSTANT (2001)



1.1.3. Causes bactériennes

La principale bactérie impliquée dans les diarrhées/septicémies du très jeune veau est *Escherichia. coli*. Ce germe occupe une place majeure dans un grand nombre d'études portant sur ces affections néo-natales, et la partie suivante lui sera spécifiquement dédiée.

Outre *Escherichia. coli*, *Salmonella* est l'autre bactérie principalement impliquée dans les diarrhées néo-natales. En effet, bien que la fréquence d'infection par cette bactérie soit plus faible, en particulier chez le veau de moins d'une semaine, sa gravité et son caractère zoonotique en font un pathogène important à considérer.

La classification des salmonelles repose sur la recherche d'antigènes somatiques (O), flagellaires (H), et parfois de virulence (Vi). On obtient ainsi plus de 2600 sérotypes différents. Cependant, deux principaux sérotypes posent un réel problème de santé publique vétérinaire, tous deux retrouvés chez les bovins : *S. Typhimurium* et *S. Dublin* (CONSTANT, 2001).

Les bovins adultes peuvent être porteurs sains, excréant de façon intermittente des salmonelles dans leurs fèces et dans le lait, rendant ainsi leur détection difficile. Certains sérovars comme *S. Dublin* sont aussi fréquemment associés à des avortements chez la vache, qui excrète alors intensément des salmonelles dans ses sécrétions vaginales et son placenta (MARTEL, 2002). Ils sont alors à la fois réservoir et source de contamination pour les veaux. De plus, les fèces des rongeurs et des oiseaux contaminent les aliments et l'environnement, où ces bactéries peuvent persister plusieurs mois. Les veaux s'infectent alors par voie orale, principalement entre leur 3^{ème} et leur 6^{ème} semaine de vie.

Sur le plan clinique, il existe peu de différences entre les infections par *S. Typhimurium* (la plus fréquente en France) et celles par *S. Dublin* (MAËS, 2010). Dans les deux cas, une fièvre souvent marquée est notée (40-41 °C) ainsi qu'une dysorexie, puis une diarrhée aiguë accompagnée d'une forte déshydratation survient. Les fèces peuvent parfois contenir du sang, du mucus ou des lambeaux de muqueuse accompagnés de fibrine (CONSTANT, 2001). La distinction de ces deux sérotypes face à un veau malade nécessite donc le recours à des analyses de laboratoire. *Salmonella* peut aussi être impliquée dans des formes septicémiques, ainsi que dans des méningites, des bronchopneumonies infectieuses enzootiques ou encore des mammites (CAMART-PERIE, 2006). Dans les cas de diarrhée, le taux de morbidité est souvent élevé, et celui de mortalité peut dépasser 50 %, en particulier en l'absence de traitement. Le décès survient le plus souvent en quelques jours après l'apparition d'une déshydratation importante, le veau se trouvant très affaibli. MARTEL (2002) rapporte même une mortalité pouvant atteindre 80 % sans traitement, contre 10 % si des mesures thérapeutiques adaptées sont mises en place. Si le veau survit à cette phase aiguë, des troubles articulaires peuvent alors apparaître, pouvant aller jusqu'à la nécrose ischémique des extrémités.

La pathogénie de ces infections est assez bien connue (MILLEMANN *et al.*, 2011). Une première phase d'entéro-invasion est observée dans les 15 minutes suivant l'infection. Les bactéries se fixent à des sites d'attachement aux entérocytes. Ces sites sont en général masqués par la flore commensale, mais la destruction de celle-ci rend possible l'attachement des salmonelles (suite à un traitement antibiotique ou à une diète par exemple). Cette fixation permet à ces germes de pénétrer dans les cellules épithéliales. Survient alors au niveau digestif une phase inflammatoire, avec une réaction en chaîne conduisant à l'excrétion d'ions bicarbonate et chlorure dans la lumière du tube digestif. En parallèle, des substances vasoactives augmentent la perméabilité de la barrière digestive. Une diarrhée est alors engendrée par l'inflammation digestive. De plus, des polynucléaires neutrophiles envahissent la paroi, entraînant iléite et colite aiguës. Enfin, la sécrétion d'entérotoxines pourrait intervenir, tout comme de nombreux autres facteurs de virulence (CONSTANT, 2001). La

deuxième phase dite de translocation consiste en la migration des germes, principalement ceux situés dans la partie distale de l'iléon et dans le colon, vers la *lamina propria* au niveau des plaques de Peyer. Ils entrent alors dans les macrophages et les polynucléaires neutrophiles, où ils peuvent survivre un certain temps. Une migration jusqu'aux nœuds lymphatiques mésentériques s'observe ensuite, puis trois scénarios sont possibles. Tout d'abord, il peut y avoir destruction des salmonelles avec guérison de l'animal. C'est le plus souvent le cas avec des bactéries ubiquistes, mal adaptées à cet hôte. Lorsque le germe est adapté à l'hôte comme *S. Dublin* chez les bovins, il est aussi possible que la bactérie persiste en localisation intra-macrophagique dans les nœuds lymphatiques mésentériques, rendant le veau porteur latent (CAMART-PERIE, 2006). Enfin, si la souche est particulièrement pathogène, le système immunitaire du veau peut se trouver dépassé. Une phase de bactériémie primaire permet alors au germe de migrer vers le foie et la rate, ce qui s'accompagne de signes généraux sévères, pouvant conduire à la mort de l'animal. C'est par exemple ce que l'on observe fréquemment avec le lysotype DT104 de *S. Typhimurium*. Une seconde phase de bactériémie est ensuite possible. Les germes gagnent ainsi les zones peu accessibles au système immunitaire (articulation, poumons, système nerveux...). Des signes cliniques propres à l'organe atteint peuvent alors être notés, telles que des méningites chez le veau (MARTEL, 2002).

Lors de l'appel au vétérinaire, les veaux atteints sont souvent bactériémiques, ce qui justifie la mise en place d'un traitement antibiotique par voie générale. Cependant, si celui-ci n'est pas bien conduit, il y a un risque de destruction de la flore commensale (et donc d'aggravation de la diarrhée/septicémie par libération des sites d'attachement), ainsi qu'un risque de sélection de germes résistants comme nous le verrons ensuite. Or, face à des germes zoonotiques, ceci n'est pas acceptable, puisque la transmission de ces résistances à l'Homme est ensuite possible. Il faut donc également prévenir l'éleveur et sa famille du risque encouru, et mettre en place des mesures de gestion pour prévenir la transmission à l'Homme (CONSTANT, 2001).

D'autres bactéries peuvent aussi jouer un rôle pathogène dans les diarrhées néonatales, mais leur implication est souvent plus discutée.

C'est par exemple le cas des clostridies, dont l'implication est bien documentée lors des diarrhées des porcelets. *Clostridium perfringens* peut causer des affections plus ou moins sévères selon le type impliqué. Ainsi lors d'une infection par un type C, l'affection est souvent tellement aiguë chez le veau de moins de 8 jours que le décès survient avant l'observation de la diarrhée. Avec le type A, les signes sont beaucoup plus discrets, avec des selles molles, parfois accompagnées de sang ou de mucus (NAYLOR, 2005). Dans une étude menée en France en 2011, BOUQUET (2011) a mis en évidence la présence de toxines α de *Clostridium perfringens* de type A chez 7 veaux morts de diarrhée entre 3 et 10 jours d'âge, dont deux chez lesquels aucun autre agent pathogène n'a pu être mis en évidence. Parallèlement, l'administration par voie orale d'un bouillon de culture avec cette même bactérie a permis de provoquer expérimentalement une diarrhée catarrhale, non observée chez les veaux témoins qui ont reçu un placebo. Une autre étude a permis de détecter la toxine α chez 10 à 27 % des veaux prélevés, seule ou associée à d'autres agents pathogènes classiquement recherchés (MANTECA *et al.*, 2009). La forme sporulée confère aux clostridies une très bonne résistance dans le milieu extérieur. Les veaux peuvent alors se contaminer par voie orale (MARTEL, 2002). La difficulté de mise en évidence expérimentale des clostridies ou de leurs toxines peut expliquer en partie la découverte récente de leur potentiel rôle pathogène dans les diarrhées néonatales du veau.

Campylobacter jejuni et *Campylobacter fecalis* pourraient aussi intervenir, mais leur implication resterait mineure (NAYLOR, 2005).

1.2. Diarrhées/septicémies dues à *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie ubiquitaire de la flore commensale du tube digestif des mammifères. Selon les méthodes d'analyse utilisées, elle représente une proportion très variable de cette flore. Chez le nouveau-né humain, c'est la bactérie majoritaire. Elle est ensuite supplantée par les *Bifidobacteries*, puis par des *Bacteroides*, *Eubacteria* et *Peptococci* (GOULET, 2009). Lors des recherches par culture bactérienne, *Escherichia* est l'une des espèces les plus fréquemment observées. Cependant il existe un biais dû à la facilité de culture de ce germe en comparaison avec la culture d'autres germes comme les anaérobies (*Clostridium*...). *E. coli* a ainsi été mis en évidence chez la totalité des vaches testées dans plusieurs études (PANNAUX, 2012). L'utilisation de techniques moléculaires telles que le séquençage de l'ADN ribosomal (technique bTEFAP) ont donné des résultats légèrement différents. DOWD *et al.* (2008) ont testé cette technique sur les fèces de vingt vaches laitières saines. Dix-sept hébergeaient effectivement des *E. coli*, soit 85 %, mais ce germe ne représentait que moins d'un pourcent de la population bactérienne fécale totale. Les clostridies occupaient quant à elles une place prépondérante par cette méthode.

E. coli se multiplie très rapidement à 37 °C, par réplication de son matériel génétique, croissance cellulaire puis division transversale. Si la durée de la croissance est variable, la division a lieu en 20 minutes environ après la fin de la réplication dans les conditions optimales (PRESCOTT *et al.*, 2002). Il présente de plus une bonne résistance dans le milieu extérieur, pouvant persister plusieurs mois dans le sol, l'eau ou les aliments souillés par des fèces. La contamination des veaux nouveau-nés se fait dans les premières heures de vie, par voie oro-fécale, à partir de l'environnement ou des mamelles souillées (PANNAUX, 2012).

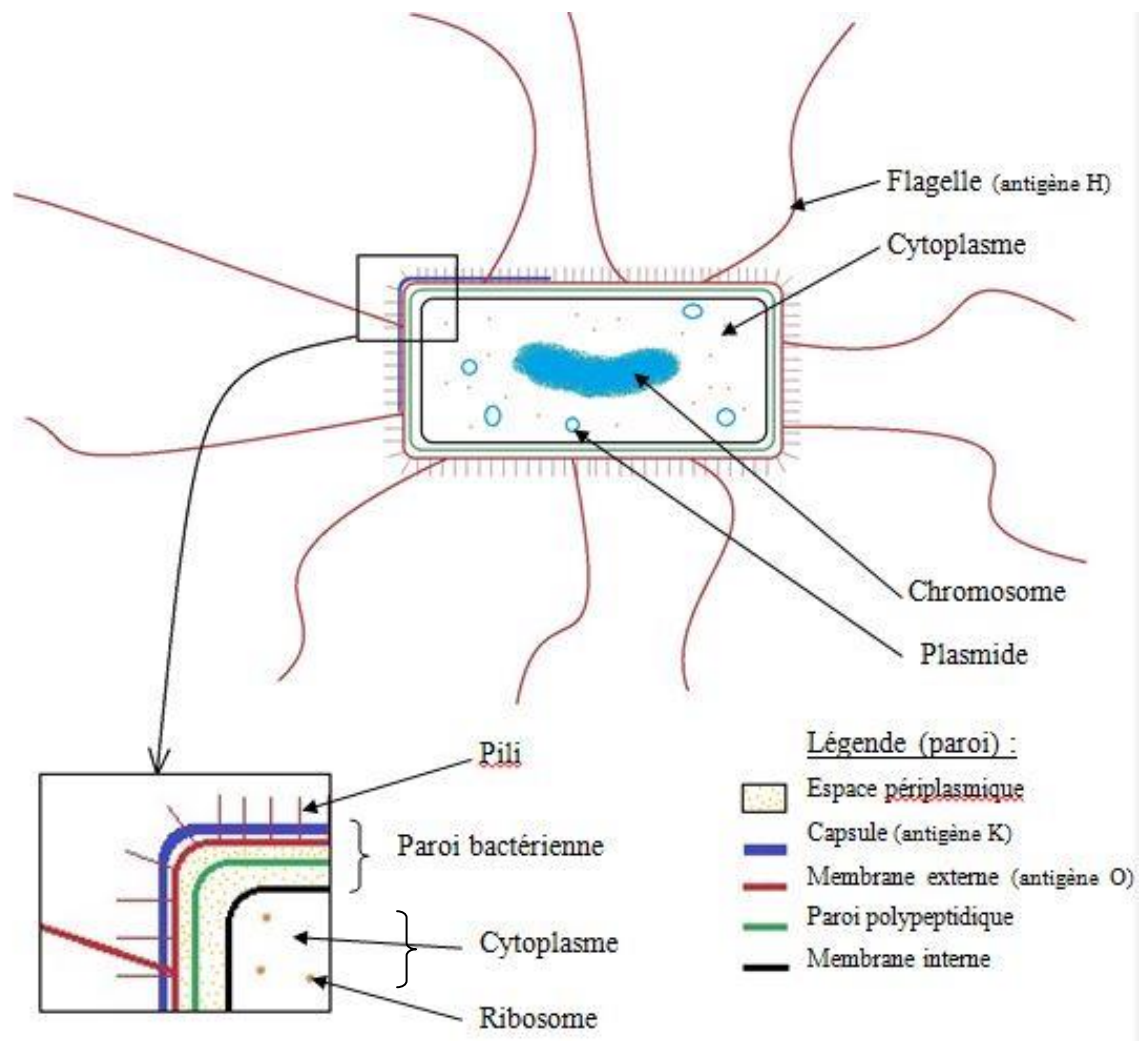
Les colibacilles hébergés dans le tube digestif ne causent généralement aucun signe clinique. Cependant, certaines souches présentent des facteurs de virulence leur conférant un pouvoir pathogène. De même, chez un individu immunodéprimé, diverses affections peuvent être observées : troubles digestifs, urinaires, septicémie...

1.2.1. Structure bactérienne

1.2.1.1. Structure globale

E. coli est un bacille Gram négatif. Il est constitué de plusieurs éléments schématisés sur la Figure 3 ci-après :

Figure 3 : Représentation schématisque des différents éléments composant un germe Gram négatif et antigènes associés (schéma personnel)



La paroi bactérienne est constituée de trois éléments, qui délimitent trois espaces distincts :

- un milieu intracellulaire, cytoplasme dans lequel flottent le matériel génétique (chromosome circulaire et plasmides, détaillés ensuite) et divers organites. Parmi ceux-ci, le plus important en nombre est le ribosome, allant en moyenne de 6700 par cellule en cas de faible taux de division (toutes les 100 minutes) à 71000 par cellule lors de divisions fréquentes (toutes les 24 minutes). Il existe en effet un équilibre entre la production d'énergie et la synthèse protéique au sein de la cellule, justifiant ces grandes variations (BERMER & DENNIS, 1996). Tout comme pour les cellules eucaryotes, les ribosomes sont le site de la transduction, et donc de la synthèse protéique. On ne retrouve pas la majorité des autres organites observés dans les cellules eucaryotes. Cependant, il a récemment été déterminé que des molécules de cytosquelette sont aussi présentes, et sont similaires à celles retrouvées dans les cellules eucaryotes. Certaines de ces molécules contiennent des régions conservées caractéristiques de la superfamille de l'actine, d'autres de la tubuline. Leurs rôles au sein des cellules eucaryotes sont nombreux. Elles sont en particulier le support de la mobilité membranaire, mise en jeu par exemple lors de la phagocytose. Ce phénomène entre en jeu au cours des infections bactériennes. En effet, les bactéries entéro-invasives pénètrent dans les cellules épithéliales par ce mécanisme, qui représente l'un des éléments majeurs de la pathogénie de ces germes.

De même, leur élimination par le système immunitaire repose également sur ce mécanisme, cette phagocytose étant principalement réalisée par les macrophages (JONES *et al.*, 1993). Le rôle de ces molécules du cytosquelette n'est pas encore très bien défini dans les cellules procaryotes, mais elles pourraient intervenir dans la communication entre les milieux intra- et extra-cellulaires (SHIH & ROTHFIELD, 2006) ;

- une membrane cytoplasmique, constituée d'une bicouche lipidique classique. Dans celle-ci se trouvent enchâssés divers constituants. On trouve en particulier des protéines assurant les échanges entre le cytoplasme et l'espace périplasmique ou ayant un rôle majeur dans le métabolisme bactérien tel que l'ATP-synthase ;

- un espace périplasmique, constitué d'un mélange de protéines et de polysaccharides formant probablement un gel. Il contient également de nombreuses macromolécules : enzymes, protéines de transport, molécules transitant du milieu extérieur vers le milieu intracellulaire ou au contraire molécules sécrétées par la bactérie vers le milieu extérieur... (BEVERIDGE, 1999) ;

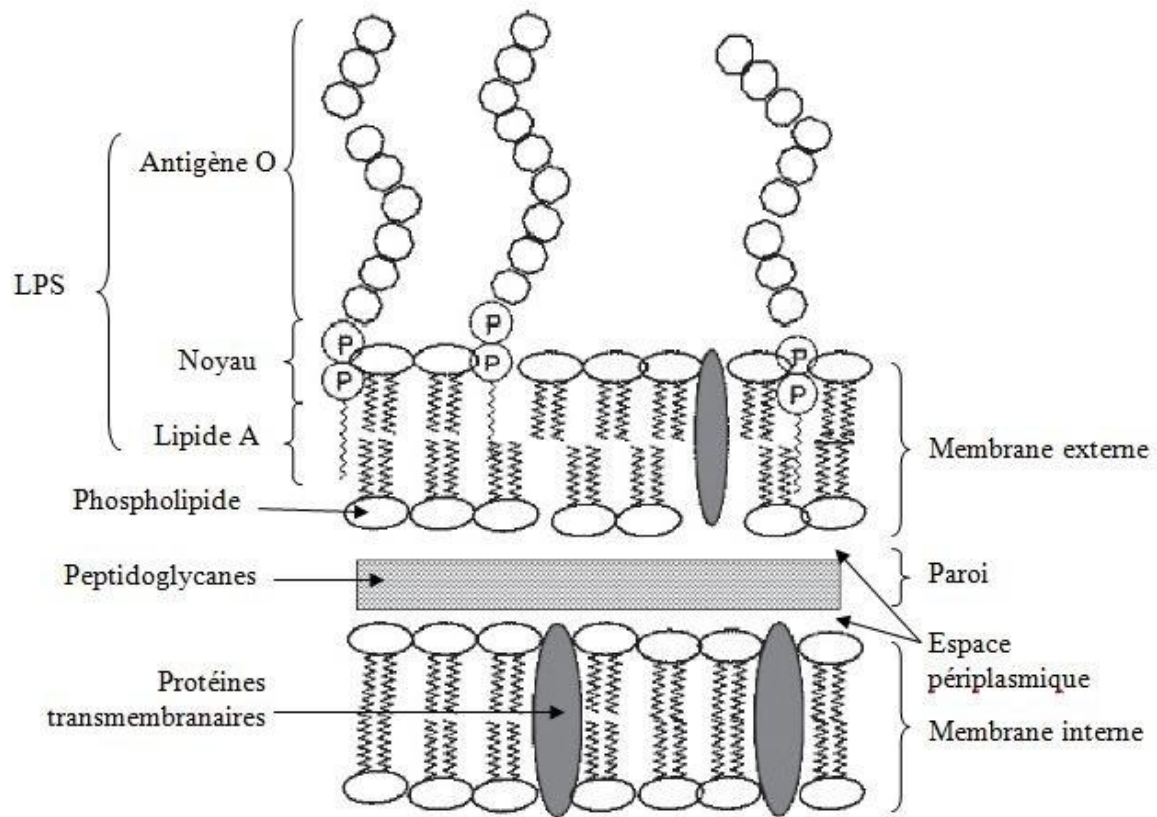
- une paroi, constituée d'une mince couche de peptidoglycanes ;

- une membrane externe, elle aussi constituée d'une bicouche lipidique, dans laquelle sont enchâssées de nombreuses protéines. Elle a un rôle majeur dans les échanges avec le milieu extérieur. L'un des constituants inclus dans cette membrane joue aussi un rôle majeur dans la pathogénie : le lipopolysaccharide (LPS) (SZALO *et al.*, 2006). Il est constitué de trois parties : le lipide A (un disaccharide de D-glucosamines, point d'ancrage dans la membrane externe, élément pathogène majeur, aussi appelé endotoxine et responsable de l'activation de la réponse immunitaire non spécifique et des chocs endotoxiniques), le noyau (composé d'hydrates de carbone, noyau interne très conservé et noyau externe plus variable, intermédiaire entre le lipide A et l'antigène O, indispensable à la survie de la bactérie) et l'antigène O. Ce dernier est composé d'un oligosaccharide, chaîne d'hydrates de carbone identiques entre eux ou non, et représente l'interface entre la bactérie et son milieu. Une très grande variabilité intraspécifique concernant l'antigène O est observée, selon le type d'hydrate de carbone, leur nombre et la présence de substitutions latérales. Plus de 170 sérogroupes O ont ainsi été distingués chez *E. coli*.

Le LPS d'une bactérie donnée ne porte généralement qu'un seul type d'antigène O. Mais chez *E. coli*, le LPS peut aussi être le support des antigènes capsulaires K1 et K4 (SZALO *et al.*, 2006).

La structure pariétale est représentée à l'échelle moléculaire sur la Figure 4 ci-après :

Figure 4 : Représentation schématique des différentes couches constituant la délimitation entre les milieux intracellulaire et extracellulaire chez les bactéries Gram négatif, d'après SZALO *et al.* (2006)



- d'autres éléments faisant protrusion dans le milieu extracellulaire : plusieurs éléments bactériens sont ici concernés. C'est le cas tout d'abord de la capsule. Cette couche la plus externe est présente chez certains *E. coli* et leur confère une meilleure résistance dans le milieu. Elle est composée d'acides polysaccharidiques, correspondant aux antigènes K. On distingue environ 80 sérotypes K chez *E. coli*. Leur pouvoir immunogène est variable, mais certains sérotypes sont plus fréquemment observés dans certains tropismes (par exemple, chez l'Homme, 80 % des souches responsables de méningites chez l'enfant présentent un antigène capsulaire K1) (ROBERTS, *et al.*, 1988). Certains de ces sérotypes possèderaient donc des caractéristiques leur conférant un pouvoir pathogène propre, tandis que d'autres ne sont pas associés à un tel pouvoir pathogène. Outre la capsule, des pili sont également observés à la surface des bactéries. Ils sont des évaginations de la membrane interne qui font protrusion dans le milieu extérieur. Ils jouent un rôle majeur dans l'adhésion entre la bactérie et sa cellule cible, mais aussi entre bactéries comme nous le verrons dans la partie suivante concernant les échanges de matériel génétique (BLACKBURN, 2010). Plus de 25 pili différents, aussi appelés facteurs de colonisation, ont été identifiés chez les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) (BLACKBURN *et al.*, 2009). Le détail de la classification de ces ETEC sera revu dans un paragraphe ultérieur. Chez les bovins, l'antigène F5, anciennement nommé K99, a été le plus étudié. Les *E. coli* en étant dépourvus présentent un attachement moindre à la muqueuse intestinale, d'où son rôle dans la pathogénie des bactéries K99⁺ (DUBOURGUIER *et al.*, 1978). Cependant, seuls les veaux présentent des récepteurs à cet antigène à la surface de leurs entérocytes. Les adultes en sont dépourvus, ce qui explique la très grande sensibilité des veaux à ces souches, tandis qu'elle est presque nulle chez les bovins adultes (COUJARD *et al.*, 1980). Enfin, les derniers éléments majeurs observés à la surface des colibacilles sont les

flagelles, organites de forme hélicoïdale tournant sur eux-mêmes, transformant l'énergie chimique de la cellule (ATP) en énergie mécanique. Ceci permet à la bactérie de se déplacer dans les milieux liquides ou visqueux (WANG *et al.*, 2012). Les mouvements cellulaires peuvent être orientés par chimiotactisme. Enfin, les flagelles pourraient également intervenir dans l'adhésion cellulaire (CHANG *et al.*, 2012). Ils sont également porteurs de l'antigène H.

1.2.1.2. Le matériel génétique et ses modalités de transfert

Le matériel génétique d'*Escherichia coli* est constitué par de l'ADN. Un chromosome circulaire est présent dans chaque cellule, et est répliqué en vue d'une division cellulaire. La particularité des cellules bactériennes repose sur la présence de matériel génétique extra-chromosomique. Ce sont les plasmides, molécules d'ADN généralement circulaires se répliquant indépendamment du chromosome bactérien et codant un ou plusieurs gènes (CARRIERE, 2007).

Des mutations génétiques peuvent faire apparaître de nouveaux caractères chez les êtres vivants. Ces mutations sont cependant assez rares. Mais face à la très grande rapidité de réplication d'*E. coli*, elles surviennent environ toutes les 10^6 à 10^8 réplifications, ce qui est donc plutôt fréquent dans une population vivant dans un milieu adapté. Bien que souvent délétères voire létales, les modifications qu'elles engendrent peuvent de façon assez exceptionnelle conférer un avantage sélectif au germe mutant dans un milieu donné. Dans ce cas, celui-ci se développera davantage et la part de la population présentant cet avantage grandira par compétition avec les germes n'en bénéficiant pas.

Plusieurs mécanismes permettent le passage de matériel génétique d'une bactérie à une autre. Ce matériel s'inclura dans le chromosome bactérien par recombinaison ou restera libre dans le cytoplasme pour ce qui est des plasmides. Ces transferts sont en général partiels (1 à 2 % du matériel est transféré) et peu efficaces (une recombinaison sur 10^6 transferts). Mais là encore, si la concentration bactérienne est importante dans le milieu, le nombre d'échanges et en particulier d'échanges réussis le seront aussi (CARRIERE, 2007).

Ces mécanismes de transfert sont au nombre de trois (CARRIERE, 2007) :

- Le transformation bactérienne : ce mécanisme est observé chez quelques espèces bactériennes et ne concerne qu'une petite partie de leur génome (quelques pourcents, soit quelques kilobases). Lorsque de l'ADN bactérien est libéré dans le milieu (en cas de lyse cellulaire par exemple), les bactéries vivantes en phase de compétence ont la capacité de faire pénétrer ces fragments d'ADN dans leur cytoplasme. Si l'espèce est assez proche, il peut y avoir recombinaison, c'est-à-dire que l'exogénote peut être inséré dans le chromosome bactérien. Les nouveaux caractères ainsi acquis pourront alors s'exprimer, et ils seront transmis au cours des divisions cellulaires. Ce mécanisme pose problème en santé publique, puisque des antibiorésistances peuvent ainsi se transmettre d'une espèce peu virulente à une espèce très virulente ;

- La transduction : ce mécanisme fait intervenir un bactériophage comme vecteur. Celui-ci infecte une cellule, ses différents constituants s'y multiplient, puis les particules virales se reconstituent. C'est au cours de cette phase d'encapsidation que des fragments d'ADN bactérien peuvent être incorporés aux virions, à raison de quelques dizaines de kilobases. Ces nouveaux virions vont alors passivement les transférer aux bactéries qu'ils infecteront ensuite. Ce phénomène concerne par exemple certaines vérotoxines d'*E. coli* ;

- La conjugaison : c'est le mode de reproduction sexuée des bactéries. Elle est possible entre deux bactéries de même espèce, et répandue chez les bactéries Gram négatif. Un plasmide bactérien confère à certaines bactéries un facteur de fertilité (F). Ces bactéries sont

considérées comme des mâles. Ce facteur leur permet de développer des pili sexuels. Ceux-ci reconnaissent des zones d'ancrage aux bactéries femelles et interviennent dans la polarisation du chromosome bactérien de la bactérie donneuse (le mâle). Une fois le pont cytoplasmique créé entre les deux bactéries appariées, l'un des deux brins du chromosome de la bactérie donatrice est transféré à la bactérie femelle, à raison de plusieurs centaines de kilobases voire parfois dans son intégralité. À 37 °C, cela peut prendre une centaine de minutes. Une fois dans le cytoplasme de la bactérie femelle, la recombinaison est possible, mais là encore peu efficace.

Ce mode de fonctionnement permet aussi et surtout le transfert de plasmides. Ce mécanisme très efficace est prépondérant dans l'évolution bactérienne, et en particulier concernant l'antibiorésistance (DUBOURGUIER *et al.*, 1978). Ainsi des plasmides portant à la fois des gènes de résistance aux antibiotiques et des gènes codant des facteurs de virulence peuvent être transmis d'une bactérie à une autre. C'est par exemple le cas d'un plasmide identifié portant simultanément les gènes codant la toxine ST, le pilus F5 et un gène de résistance aux tétracyclines (HARNETT & GYLES, 1985) ;

- La transduction : ce mécanisme fait intervenir un bactériophage comme vecteur. Celui-ci infecte une cellule, ses différents constituants s'y multiplient, puis les particules virales se reconstituent. C'est au cours de cette phase d'encapsidation que des fragments d'ADN bactérien peuvent être incorporés aux virions. Ceux-ci vont alors passivement les transférer aux bactéries qu'ils infecteront ensuite. Ce phénomène concerne par exemple certaines vérotoxines d'*E. coli*.

Ces différents mécanismes permettent la dissémination de nouveaux caractères au sein d'une population bactérienne, tels que la résistance à un voire plusieurs antibiotiques. Ceci est couplé à la sélection naturelle opérant dans les milieux où ces caractères sont avantageux. Ces nouveaux phénotypes peuvent ainsi se répandre très rapidement au sein de la flore d'un individu ou à l'échelle de l'élevage (CARRIERE, 2007).

1.2.2. Classifications

Plusieurs classifications des *E. coli* existent. Les deux principales développées ici reposent sur les caractères antigéniques pour la première et sur les caractères physio-pathogéniques pour la seconde.

1.2.2.1. Sérotypes

L'étude de la structure bactérienne a permis de mettre en évidence trois principaux antigènes portés par *E. coli*. Il s'agit des antigènes somatiques O, des antigènes flagellaires H et des antigènes capsulaires K. Ces derniers ne sont pas toujours présents, mais quand ils le sont, il arrive qu'ils masquent l'antigène O.

Pour déterminer le sérotype d'un *E. coli* préalablement isolé, plusieurs techniques sont possibles. Les plus couramment utilisées en laboratoire sont la PCR et la séroagglutination sur lame. Cette dernière technique nécessite l'utilisation d'antiséras spécifiques. Une goutte est déposée sur une lame et une colonie pure y est mélangée. Si des amas se forment, c'est que la bactérie présentait l'antigène testé puisqu'il y a agglutination. On peut ainsi rechercher certains types d'*E. coli*, en cherchant successivement les antigènes O, H et K les plus souvent retrouvés. Cependant, face à la très grande diversité parmi ces trois sortes d'antigène, il est aisé de comprendre qu'une recherche exhaustive est impossible. Cette méthode présente un intérêt dans l'identification des colibacilles isolés dans l'alimentation humaine, certains sérotypes posant particulièrement problème en hygiène alimentaire. C'est par exemple le cas d'*E. coli* O157:H7, retrouvé dans les denrées transformées comme le steak haché. Cette

classification aura peu d'intérêt en pathologie bovine (même si la présence d'*E. coli* O157:H7 dans un élevage augmente le risque de contamination des denrées qu'il produit).

1.2.2.2. Pathovars

Il est aussi possible de classer les *E. coli* par leur pouvoir pathogène, qui est intimement lié à la présence ou non des différents facteurs de virulence. Cette classification permet de distinguer de nombreux pathovars, regroupés par classe dans le Tableau 1 ci-après :

Tableau 1 : Définition et espèces cibles des différents pathovars d'*E. coli* regroupés par classes, d'après MAINIL (2003)

Classe, maladies provoquées	Nom	Acronyme anglophone	Définition	Espèces cibles
Diarrhéogènes, Entérites Entérocolites	Entéro-invasifs	EIEC	Envahissement des entérocytes	Homme, primates
	Entérotoxinogènes	ETEC	Production d'entérotoxines, accumulation de liquide dans l'intestin. Fimbriae F2 à F5 et F41	Ruminants, porc, Homme, (chien)
	Entéropathogènes	EPEC	Production de lésions d'attachement et d'effacement (A/E)	Animaux, Homme
	Vérotoxinogènes (Shigatoxinogènes)	VTEC (STEC)	Production de toxines active sur les cellules Vero en culture	Ruminants ? Homme ?
	Entérohémorragiques	EHEC	Entérocolite souvent hémorragique, production de lésions d'A/E et toxines Vero	Homme, Ruminants
	« Diffuse adherent »	DAEC	Adhésion diffuse sur cellules de culture	Homme (animaux ?)
	Nécrotoxinogènes	NTEC	Production de facteurs cytotoxiques nécrosants (CNF 1 et 2), fimbriae P, S et/ou F17, adhésines Afa, hémolysine α	Animaux et Homme (NTEC1), Ruminants (NTEC2)
Entéro-toxémiques, Maladie de l'œdème du porcelet	Vérotoxinogènes (Shigatoxinogènes)	VTEC (STEC)	Production de toxines active sur les cellules Vero en culture	Porcelet
Uro-pathogènes : Cystites Pyélonéphrites	Nécrotoxinogènes	NTEC	Production CNF 1 et CNF2, de toxines cytoléthales distendantes (CDT), de fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, hémolysine α	Homme, chien, chat
	Autres dont Uropathogènes	UPEC	Production de fimbriae P et/ou S, adhésine Afa, hémolysine α	Homme, animaux
Mammo-pathogènes : Mammites	Mammopathogènes	MPEC	Pas de facteur de virulence spécifique : origine fécale	Animaux, surtout ruminants
Invasives : Septicémie Bactériémie Infections systémiques	Nécrotoxinogènes	NTEC	Production de CNF 1 et CNF2, de CDT, de fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, hémolysine α ...	Animaux, Homme
	« Neonatal meningitis <i>E. coli</i> »	NMEC	Production d'aérobactine, résistance au complément, fimbriae P, S et/ou F17 et/ou adhésines Afa, antigène capsulaire K1	Homme
	« Avian pathogenic <i>E. coli</i> »	APEC		Oiseaux
	Autres dont Septicémiques	SEPEC	Production d'aérobactine, résistance au complément	Animaux, Homme

En pathologie digestive bovine, cinq principaux sérovars sont à envisager :

- ✓ Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) : ces souches sont munies d'adhésines telles que l'adhésine F5 (anciennement K99) ou encore F41, qui confèrent à ces germes la possibilité de s'ancrer solidement aux entérocytes. Ainsi, les germes impliqués dans les diarrhées des veaux présentent un taux d'attachement de 80 %, contre seulement 10 à 20 % chez ceux isolés dans les fèces de veaux sains (FOSTER & SMITH, 2009). Ils peuvent aussi produire des entérotoxines thermostables (ST1 ou ST2) ou thermolabiles (LT, non retrouvées chez les colibacilles des ruminants) (LAPLAZE, 2002) ;
- ✓ Les *E. coli* entéropathogènes (EPEC) : ces souches peuvent elles aussi s'ancrer aux entérocytes, et entraînent ensuite un effacement des villosités ;
- ✓ Les *E. coli* vétérotoxigènes (VTEC) ou shigatoxinogènes (STEC) : ces souches sont capables de produire des toxines actives sur les cellules Vero en culture, d'où le nom de vérotoxines ;
- ✓ Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) : ces souches associent les capacités d'attachement et d'effacement des villosités des EPEC et la production de vérotoxines ;
- ✓ Les *E. coli* entéronécrotoxigènes (NTEC) : ces souches produisent deux types de toxines : les facteurs cytotoxiques nécrosants (CNF1 et CNF2) et la toxine cytoléthale distendante (CDT) qui agissent en synergie au niveau de l'épithélium intestinal.

Chacun de ces groupes présentant des facteurs de virulence qui leur sont propres, leurs mécanismes physiopathologiques diffèrent, comme nous le verrons dans la partie suivante. Cependant, sur le plan clinique, il est encore une fois impossible de déterminer le pathovar incriminé sur la seule base de l'examen clinique d'un veau en diarrhée. Le recours à des examens de laboratoire est nécessaire pour cela (TOUZEAU, 2009). La détermination précise du sérotype ou du pathovar face auquel nous nous trouvons présente généralement peu d'intérêt clinique. Cependant, certaines souches jouent un rôle essentiel en pathologie humaine. C'est par exemple le cas des souches O157:H7, ou encore des EHEC responsables d'un syndrome hémolytique et urémique chez l'Homme, et dont l'animal peut être un réservoir. Une telle détermination présente donc un intérêt majeur en termes de santé publique (LAPLAZE, 2002).

1.2.3. Physio-pathogénie associée aux différents pathovars

Nous avons déjà mentionné le rôle pathogénique majeur du LPS, aussi appelé endotoxine. En effet, il peut se fixer à des récepteurs spécifiques, situés sur les macrophages ou libres dans le sang. Ceci déclenche une cascade de réactions avec libération de cytokines pro-inflammatoires, responsables de l'apparition de la fièvre et de troubles cardiovasculaires (vasodilatation et dépression de la contraction cardiaque associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire, responsables d'une hypotension généralisée). On observe aussi des CIVD, des hyperglycémies et de la diarrhée. Enfin, en cas de relargage massif de LPS (lyse bactérienne en cas d'infection massive), une atteinte irréversible de certains organes peut entraîner un choc endotoxinique avec une défaillance multi-organique, menant au coma et à la mort de l'animal (SZALO *et al.*, 2006).

En tant qu'interface entre la bactérie et son milieu, l'antigène O joue lui aussi un rôle important dans la pathogénie, par plusieurs mécanismes (SZALO *et al.*, 2006) :

- Résistance à l'action du complément. En temps normal, le complément peut se fixer sur un complexe anticorps spécifique – antigène O, voire directement au LPS. Ceci entraîne une réaction en chaîne qui aboutit à la formation d'un pore dans la membrane bactérienne externe, qui s'étend à la membrane interne et entraîne la lyse cellulaire. Cependant, certains antigènes O présenteraient une résistance à cette réaction. Ceci est probablement dû à une

conformation tridimensionnelle gênant la réalisation de la cascade. Ce serait le cas des antigènes O longs, ramifiés ou présentant une composition biochimique favorable ;

- Résistance à la phagocytose. Les antigènes O et K (K1 en particulier) seraient responsables de cette capacité. Les mécanismes en sont cependant encore mal compris ;

- Mimétisme moléculaire. Ceci intervient lorsqu'il existe une similitude entre les épitopes des cellules de l'hôte et ceux produits par la bactérie. Une telle ressemblance antigénique peut avoir des conséquences de deux façons différentes. La première consiste pour la bactérie à se dissimuler au sein de l'organisme hôte. Présentant les mêmes antigènes de surface, l'agent pathogène n'est plus reconnu comme du « non-soi » par le système immunitaire, qui ne l'attaque donc pas. L'autre possibilité est que cette similitude entraîne le déclenchement d'un processus auto-immun. Dans ce cas, les cellules de l'hôte présentant les antigènes communs seront reconnus comme du « non-soi » et seront détruits au même titre qu'un agent pathogène ;

- Adhésion aux tissus de l'hôte. Ce rôle peut être joué par chacune des parties du LPS. Cette adhésion est plus ou moins forte selon le germe et son LPS spécifique. Elle est un point crucial dans la pathogénie des germes, tout comme leur tropisme (SZALO *et al.*, 2006). La présence d'autres facteurs de virulence intervient aussi dans la pathogénie, qui diffère ainsi d'un pathovar à l'autre. Nous avons vu que les pathovars pouvaient être regroupés en trois classes, chacune présentant un mécanisme d'action distinct.

En ce qui concerne les AEEC, pathovars regroupant EPEC et VTEC, ils agissent par une adhésion forte aux entérocytes, suivie de la disparition des microvillosités de la bordure en brosse. Le facteur d'adhésion en question est une intimine, codée par le gène *eae* (pour *E. coli* attachant-effaçant), présent sur le chromosome bactérien. La disparition des microvillosités réduit la capacité d'absorption des entérocytes touchés. Cette malabsorption est à l'origine de la diarrhée observée. Ceci s'accompagne également d'un phénomène inflammatoire, avec infiltration de polynucléaires neutrophiles. L'augmentation de la perméabilité intestinale associée augmente le passage d'eau vers la lumière, aggravant encore la diarrhée. De plus, les toxines produites par certaines souches comme les VTEC ont des actions entérotoxique et neurotoxique, responsables de la destruction complète des entérocytes (TOUZEAU, 2009).

Les ETEC adhèrent eux aussi fortement aux entérocytes, grâce à des adhésines comme le fimbriae F5 (anciennement K99) (LAPLAZE, 2002). Celles-ci se lient à des récepteurs spécifiques, uniquement présents sur les cellules immatures de la muqueuse digestive du veau nouveau-né. Ceci explique pourquoi ces germes sont à l'origine de diarrhée uniquement chez les veaux dans leurs premiers jours de vie, puisque le renouvellement cellulaire est très rapide, de l'ordre de trois jours (COUJARD *et al.*, 1980). Celui-ci peut cependant être ralenti par les modifications morphologiques dues à une infection conjointe par les virus décrits précédemment, augmentant la fenêtre de sensibilité aux ETEC. Lorsqu'ils sont les seuls agents pathogènes impliqués, la morphologie des microvillosités auxquelles ils se fixent ne se trouve pas altérée (MARTEL, 2002). Les germes, une fois adhérents aux entérocytes, produisent une entérotoxine (principalement ST1 chez les ruminants (LAPLAZE, 2002)), qui augmente le passage d'eau et d'électrolytes vers la lumière digestive grâce à la stimulation des systèmes nerveux digestif et autonome. Ceci provoque la libération de substances vasoactives et de substances inflammatoires comme les prostaglandines E2 (FOSTER & SMITH, 2009) L'absorption digestive se trouve aussi diminuée. Ce sont donc les toxines qui sont responsables de l'apparition de la diarrhée par hypersécrétion (TOUZEAU, 2009). C'est

le pathovar le plus souvent isolé chez les veaux nouveau-nés présentant de la diarrhée (MARTEL, 2002).

Enfin, la dernière classe de pathovars regroupe des germes à tropisme digestif et non digestif. En effet, les souches dites invasives ainsi que certains NTEC ont la capacité de passer la barrière digestive. Comme nous l'avons vu, les NTEC produisent deux types de toxines : les toxines CNF stimulent la polymérisation de filaments d'actine. Les toxines CDT bloquent les cellules en phase G2 de mitose (TOUZEAU, 2009). L'action synergique de ces deux toxines aboutit à la formation de cellules géantes multinucléées. Ces dernières seraient plus perméables, permettant à certaines souches de NTEC de devenir invasives (LAPLAZE, 2002).

Les souches d'*E. coli* impliquées dans les diarrhées néonatales sont nombreuses et leurs mécanismes physio-pathologiques sont variés. Face à l'importance, en particulier économique de ces affections, il convient de lutter efficacement contre leur apparition et leur dissémination au sein des élevages. Ceci nécessite de connaître les facteurs favorisant le développement de ces maladies, et de mettre en place des moyens de lutte préventifs et curatifs adaptés.

Ainsi, les principaux agents impliqués dans les diarrhées/septicémies des veaux nouveau-nés sont :

- des virus, les principaux identifiés à ce jour étant les rotavirus et les coronavirus, bien que d'autres puissent également jouer un rôle important (torovirus...) ;**
- des parasites, *Cryptosporidium parvum* pouvant être excrété par des veaux dès quelques jours de vie ;**
- des bactéries, telles que *E. coli*, *Salmonella* ou *Clostridium perfringens*.**

2. Facteurs de risque de diarrhée/septicémie et moyens de lutte préventifs

Les diarrhées/septicémies touchant principalement les veaux très jeunes, les principaux facteurs de risque sont ceux responsables d'une part d'une augmentation de l'exposition aux agents pathogènes et d'autre part d'un défaut de protection immunitaire du veau. Les moyens de prévention des diarrhées des veaux portent donc essentiellement sur des modifications de l'environnement du veau, sur sa mère, et sur la conduite d'élevage, en particulier la gestion du peripartum.

2.1. Facteurs environnementaux et liés à la conduite d'élevage

2.1.1. Caractéristiques du logement des veaux

2.1.1.1. Densité et allotement

Une trop forte densité de peuplement des cases dédiées aux veaux entraîne une augmentation de la pression d'infection. En effet, les veaux malades ou porteurs sains excrètent parfois intensément les principaux agents pathogènes responsables de diarrhée/septicémie. L'intervention d'un autre facteur de risque comme des échecs de transfert d'immunité passive pourra alors déclencher une véritable épizootie dans l'élevage. Il a été montré qu'une réduction même peu importante de cette densité réduisait le risque de tomber malade de manière importante. BENDALI *et al.* (1999) ont ainsi montré que pour une densité supérieure à un veau par mètre carré, le risque relatif d'apparition d'une diarrhée était de 1,74 ($p = 0,009$). Pour une stabulation libre, il est conseillé d'assurer une surface au sol de 9 à 11 m² par vache. En ce qui concerne les cases collectives des veaux, il faut prévoir 1,5 m² par veau lorsque ceux-ci pèsent moins de 150 kg (ROUSSEAU, 2007).

De même, l'augmentation de taille des troupeaux augmente l'exposition des veaux. L'incidence des diarrhées est multipliée par 3,4 ($p < 0,001$) lorsque le nombre de mères dépasse 70 (GULLIKSEN, *et al.*, 2009). Cet effet n'est pas retrouvé dans toutes les études.

La présence de veaux plus âgés en contact avec des nouveau-nés augmente aussi le risque de voir ces derniers tomber malade. En effet, leur système immunitaire ayant déjà été stimulé, les veaux plus âgés peuvent être porteurs sains et excréter intensément bactéries, parasites et virus. Les plus jeunes, plus sensibles, peuvent alors se contaminer à leur contact. L'expression de la maladie est là encore aggravée par un déficit immunitaire (défaut de transfert colostrale, stress créé par les ré-allotements...). Dans la même étude, BENDALI *et al.* (1999) n'ont pu mettre en évidence l'effet de l'introduction d'un veau d'un autre élevage, mais l'introduction d'un adulte étranger à l'élevage multiplie le risque de diarrhée néo-natale par 1,62 ($p = 0,09$). D'autres études ont trouvé un effet significatif de l'achat de veaux l'année précédant l'étude. C'est par exemple le cas de GULLIKSEN, *et al.* (2009), qui ont observé une incidence des diarrhées 1,5 fois supérieure dans les élevages ayant acheté des veaux l'année précédente ($p < 0,05$).

2.1.1.2. Ambiance du bâtiment : température, hygrométrie, ventilation

En élevage allaitant, deux types de bâtiments sont couramment utilisés. Historiquement, les vaches vivaient en étables, leurs veaux attachés derrière elles. Ces bâtiments très fermés permettent de conserver une température assez élevée l'hiver, mais le défaut de circulation d'air est souvent important. Outre l'apparition de troubles respiratoires, l'accumulation

d'humidité favorise le développement des *Cryptosporidium* et des *E. coli* en particulier (BOSSE, 2010). L'accumulation d'ammoniac peut aussi être associée à la survenue des gastro-entérites néonatales d'après BENDALI *et al.* (1999). Un mauvais drainage augmente également ce risque à partir de 5 % de la surface occupée par de l'eau stagnante (NAYLOR, 2005).

Depuis plusieurs décennies, ce mode de logement est progressivement remplacé par des stabulations libres, sur aire paillée. Si ces bâtiments sont bien conçus, la ventilation est en général bien meilleure que dans les bâtiments traditionnels. Cependant, la température y est inférieure et des courants d'air sont parfois ressentis, le long des murs en particulier, où se trouvent souvent les cases des veaux. Dans ces bâtiments, les veaux sont aussi en contact avec les adultes et les veaux plus âgés, d'où une pression d'infection importante là aussi.

En élevage laitier, les veaux sont séparés des mères et gardés en lots d'âges assez homogènes dans des cases paillées. Selon le type de bâtiment, la ventilation peut présenter les mêmes défauts qu'en élevage allaitant. Les élevages de taille importante sont le plus souvent dans de grands bâtiments récents, bien ventilés mais avec le risque de courant d'air déjà décrit. Les élevages en étable sont le plus souvent de petite taille, d'où une pression d'infection moindre. BENDALI *et al.* (1999) n'ont cependant pas mis en évidence d'aggravation du risque de diarrhée en fonction du type de logement des veaux, contrairement à GULLIKSEN *et al.* (2009), qui ont observé que le logement en stabulation libre multiplie l'incidence des diarrhées par 2,3 ($p < 0,001$) chez les veaux laitiers de Norvège.

La saison de vêlage semble avoir une importance. Les veaux nés en hiver présentent plus fréquemment de la diarrhée (BOURGOIN, 1996), bien que certains auteurs fassent l'observation contraire (TROTZ-WILLIAMS *et al.* 2007). L'influence de la saison de vêlage est donc peu claire, probablement à cause du caractère multifactoriel des affections digestives néo-natales.

2.1.1.3. Hygiène

La litière de paille absorbe l'humidité des fèces, devenant chaude et humide. C'est alors un très bon milieu de culture pour les bactéries, et très propice à la survie des virus et parasites. Les litières accumulées doivent donc être fréquemment paillées et ce en quantité suffisante. Ceci permet de garder les vaches propres, ce qui diminue le risque de contamination oro-fécale des veaux, avec un risque de diarrhée presque diminué de moitié par rapport à un élevage où les vaches présentent une note de propreté inférieure à 3 d'après BENDALI *et al.* (1999) ($p = 0,05$). Cependant les litières profondes sur les aires de repos sont associées à l'apparition 3,4 fois plus fréquentes de diarrhée ($p < 0,001$) (GULLIKSEN, *et al.*, 2009). Le curage des boxes individuels réalisé moins d'une fois par semaine multiplie lui-aussi l'incidence par 4,1 ($p < 0,001$) selon la même étude. Cependant, avec un plancher ajouré en béton, surviendraient également davantage de troubles digestifs chez les veaux, ceux-ci étant trois fois plus fréquents ($p < 0,001$) qu'avec n'importe quel autre type de sol.

Une contamination importante de l'environnement provoquera logiquement une augmentation du risque de contamination des veaux. Or il a été montré que la taille de l'inoculum influence la survenue de la maladie, celle-ci étant donc plus probable en cas de défaut d'hygiène. Ainsi pour un inoculum dépassant $1,5.10^8$ UFC administré par voie intraveineuse à des veaux de trois semaines ayant correctement reçu leur colostrum, des signes cliniques et biologiques de septicémie étaient mis en évidence. Les veaux recevant des doses inférieures ne manifestaient qu'un syndrome fébrile (BALLOU *et al.*, 2011).

HEIDARI *et al.* (2011) ont également mis en évidence des contaminations possibles par l'intermédiaire du matériel de nourrissage des veaux et même par les mains du personnel. L'hygiène des animaux et des locaux est donc importante, mais l'hygiène du personnel l'est tout autant, indépendamment du caractère zoonotique de certains agents.

Il est important de curer les zones fortement contaminées, et de les désinfecter avec des produits adaptés, puisque nous avons vu que la majorité des agents pathogènes impliqués dans les diarrhées/septicémies sont résistants aux désinfectants usuels. Ainsi, si la prévalence atteint 5 % une année, le risque de diarrhée néonatale est presque doublé l'année suivante (RR = 1,92, $p = 0,04$). Le produit utilisé doit être choisi en fonction des agents pathogènes rencontrés dans l'élevage considéré. Un tel nettoyage en fin de saison de vêlage diminue de moitié le risque de diarrhée l'année suivante (BENDALI *et al.* 1999).

2.1.2. Autres éléments de conduite d'élevage

2.1.2.1. Conditions de vêlage

Outre la propreté de la zone dédiée aux vêlages, plusieurs paramètres liés à la facilité et à la gestion de la mise bas peuvent favoriser l'apparition de diarrhée chez les veaux nouveau-nés. Tout d'abord, le déroulement de la mise-bas a une grande influence. En cas de dystocie, il est possible que le veau soit moins vigoureux et tarde à se lever. Son exposition aux agents pathogènes est donc plus longue et la première ingestion colostrale est souvent plus tardive. La mère peut aussi rejeter son veau dans les premières heures. Si l'extraction du veau prend trop de temps, celui-ci risque de souffrir d'hypoxie. Or BENDALI *et al.* (1999) ont mis en évidence que la dyspnée associée multipliait le risque de diarrhée par 1,85 chez le veau nouveau-né ($p = 0,03$). Ces veaux seront donc plus exposés et nécessiteront une prise en charge particulière.

2.1.2.2. Gestion de l'alimentation de la vache en fin de gestation

L'effet de l'utilisation de concentrés chez les mères sur l'incidence des diarrhées chez leurs veaux n'est pas clair, le recueil de données précises sur les rations distribuées étant difficile. BENDALI *et al.* (1999) ont mis en évidence un risque relatif de 1,57 en l'absence d'administration de concentrés pendant le tarissement ($p = 0,06$). On peut supposer que cet apport permet d'améliorer la santé des vaches en fin de gestation et la qualité de leur colostrum.

Outre l'apport énergétique, l'équilibre en minéraux et vitamines semble également jouer un rôle important. La supplémentation des mères réduirait de moitié le risque de diarrhée chez le veau ($p = 0,07$). *A contrario*, l'administration de complément minéral et vitaminique aux veaux montre un effet délétère dans l'étude de BENDALI *et al.* (1999). Cela pourrait être dû au stress de l'administration, qui se combine avec une inefficacité dans les premiers jours de vie, période pendant laquelle le veau nouveau-né est le plus exposé.

2.1.3. Gestion médicale des animaux

2.1.3.1. Parasitisme et infections intercurrentes chez la mère

Il paraît évident que toute affection maternelle au moment du part, et en particulier une affection mammaire, peut provoquer un défaut de transfert d'immunité passive chez le veau nouveau-né. Le lait peut même constituer une source de contamination bactérienne (NAYLOR, 2005). HEIDARI *et al.* (2011) ont même mis en évidence une corrélation ($p < 0,05$) entre le dénombrement bactérien réalisé sur le lait ou le colostrum et le statut malade ou non des veaux.

De plus, la mère présentant une mammite se laissera moins facilement téter, exposant aussi le veau à un affaiblissement, or celui-ci a peu de réserves comme nous le verrons plus en détail dans une partie consacrée au rôle du colostrum. Le manque de vigueur associé expose logiquement le veau à des affections variées, digestives comme respiratoires.

2.1.3.2. Gestion médicale du veau dans ses premières heures de vie

La naissance est une période de stress non seulement pour la vache, mais aussi pour son veau. Celui-ci doit commencer à respirer tout en assurant lui-même sa thermorégulation. Ceci nécessite qu'il se lève rapidement pour se nourrir dès les premières heures de vie.

Tous ces événements rendent le veau vulnérable aux maladies, en particulier lorsque la mise bas est longue et difficile. Nous avons déjà mentionné que dans ce cas, le veau reste plus longtemps près du sol, source de contamination majeure. Ceci est d'autant plus vrai que la mère excrète souvent les agents pathogènes en grande quantité lors du part, du fait du stress physiologique important qu'il provoque. L'anoxie subie par le veau en cas de vêlage difficile provoque également la production de lactates par l'organisme qui fonctionne en anaérobiose. Le veau nouveau-né se retrouve alors en acidose à la fois respiratoire et métabolique. Ces déséquilibres acido-basiques entraînent un défaut d'absorption des immunoglobulines colostrales, comme nous le verrons dans la partie suivante.

Enfin, les affections ombilicales paraissent également être un facteur de risque. Cependant, les différentes études ne sont pas unanimes à ce sujet. BENDALI *et al.* (1999) par exemple ne montrent pas d'impact de la présence ou non d'une affection ombilicale sur la survenue d'une diarrhée ($p = 0,41$). Ils expliquent cela par le fait qu'une bonne qualité de paillage réduit à la fois la nécessité de soins ombilicaux et le risque de diarrhée. Ainsi, dans ces conditions, l'absence de désinfection du nombril n'implique pas nécessairement un risque important d'affection digestive.

2.1.3.3. Intérêt de la vaccination

Les diarrhées/septicémies néonatales sont des affections touchant le veau dans ses premiers jours de vie. Nous avons vu que son système immunitaire n'est pas encore apte à le défendre lors des premiers contacts avec les agents pathogènes. Cependant vacciner le veau présente peu d'intérêt face à ces maladies. En effet, la vaccination ne permet l'augmentation du taux sérique en anticorps qu'après plusieurs jours voire semaines, et nécessite souvent une deuxième injection lors de la primovaccination. Pour DZIVA *et al.* (2007), le taux d'IgG1 augmente à partir de 14 jours après la première inoculation orale. Or les diarrhées néonatales concernent surtout les veaux dans leur première semaine de vie. Il a donc fallu trouver d'autres moyens de protéger les veaux des principaux agents pathogènes impliqués.

Nous avons vu que l'immunité du veau nouveau-né lui provient du colostrum qu'il ingère dans ses premières heures de vie. La vaccination des mères a donc été envisagée, non pour protéger celles-ci, mais pour augmenter les taux d'anticorps spécifiques dans leur sang et dans leur colostrum. Plusieurs vaccins, inactivés pour la plupart, ont ainsi été mis sur le marché. Ils protègent contre un ou plusieurs agents pathogènes, parmi les plus fréquemment rencontrés (rotavirus, coronavirus, *E. coli* F5, F17, F41 et CS31A). Les protocoles vaccinaux comptent généralement une primovaccination en une injection proche du part ou à deux injections, l'une plusieurs semaines avant le terme, la suivante proche du part. Un rappel est ensuite nécessaire avant chaque mise-bas. L'intérêt de ces différents vaccins est qu'ils permettent de diriger la protection vers les agents pathogènes rencontrés dans l'élevage. Plusieurs inconvénients sont cependant à signaler. Tout d'abord, certains échecs vaccinaux sont directement liés à des défauts d'observance du protocole. C'est en particulier le cas chez les vaches allaitantes, la date prévisionnelle de mise-bas étant parfois connue de façon approximative. Mais le plus grand défaut de la vaccination des mères pour protéger le veau concerne le mode de transmission de cette immunité passive. En effet, pour en bénéficier, le veau devra impérativement boire le colostrum de sa mère dans un certain délai. Or nous allons voir par la suite que les causes d'échec de transfert d'immunité passive sont nombreuses (MILLEMANN & BELBIS, 2011).

Ainsi plusieurs points cruciaux sont à prendre en compte pour réduire le risque de diarrhée chez les veaux nouveau-nés :

- préparation au vêlage : gestion de l'alimentation, déparasitage et vaccination des vaches gestantes ;**
- gestion du peripartum : hygiène autour du vêlage, gestion des vêlages dystociques et prise en charge adaptée du veau ;**
- conditions de logement des veaux nouveau-nés : hygiène et ambiance du bâtiment, densité et gestion de l'allotement.**

2.2. Défaut de transfert d'immunité passive

2.2.1. Nécessité de la prise colostrale chez les ruminants

2.2.1.1. La barrière placentaire

Chez les ruminants, la placentation est de type épithéliochoriale. Ainsi, le transfert de molécules du sang de la mère vers le sang du fœtus se fait à travers plusieurs couches (HYTTEL *et al.*, 2010) :

- l'endothélium vasculaire maternel ;
- le tissu conjonctif de la muqueuse utérine ;
- l'épithélium muqueux utérin ;
- le trophoblaste ;
- le tissu conjonctif fœtal ;
- l'endothélium vasculaire fœtal.

Ces nombreuses barrières rendent les échanges difficiles voire impossibles pour les éléments de trop grande taille, tels que les cellules ou les molécules de poids moléculaire supérieur à 150 kDa. C'est par exemple le cas des anticorps maternels, qui vont de 150 kDa pour les IgG à 200 kDa pour les IgE. Ainsi, le veau naît presque agammaglobulinémique, puisque les concentrations plasmatiques en IgG et en IgM sont respectivement de 0,044 mg/mL et 0,126 mg/mL (MANGIN, 2002). La synthèse endogène des anticorps ne commence qu'à partir du 28ème jour post-partum environ (MECH *et al.*, 2011). Les cellules de l'immunité sont elles aussi retrouvées dans le sang du veau en quantités très inférieures à celles observées chez l'adulte (ALLEMAND, 2008). De plus, le système immunitaire du veau nouveau-né n'a encore jamais été stimulé (sauf en cas d'infection intra-utérine) et n'est pas encore apte à défendre efficacement l'organisme. Des substances immunosuppressives sont également produites par la vache gestante et par le placenta, probablement afin d'éviter que le système immunitaire de la mère n'attaque le fœtus, considéré comme du non soi puisque présentant aussi des allèles paternels. À sa naissance, le veau n'est donc pas protégé contre les agents extérieurs, et en particulier contre les agents de diarrhée/septicémie déjà décrits.

2.2.1.2. Composition du colostrum

Le rôle primordial de la prise colostrale dans les espèces douées de ce type de placentation paraît évident. En effet, cette sécrétion lactée produite dans les quelques jours péri-partum (jusqu'à 7 jours post-partum dans sa définition légale) a une composition très particulière, qui varie selon de nombreux facteurs, influençant sa qualité.

Il comprend en moyenne 75 % d'eau et 25 % de matière sèche. Celle-ci compte la matière grasse (5 %), la matière azotée sous forme de protéines principalement (16 %), les glucides sous forme de lactose (3 %) et les minéraux (1 %). Outre la caséine (34,3 %) et l'albumine (6,4 %), les immunoglobulines représentent une part importante des protéines colostrales, au niveau quantitatif (42,9 %) mais aussi au niveau qualitatif.

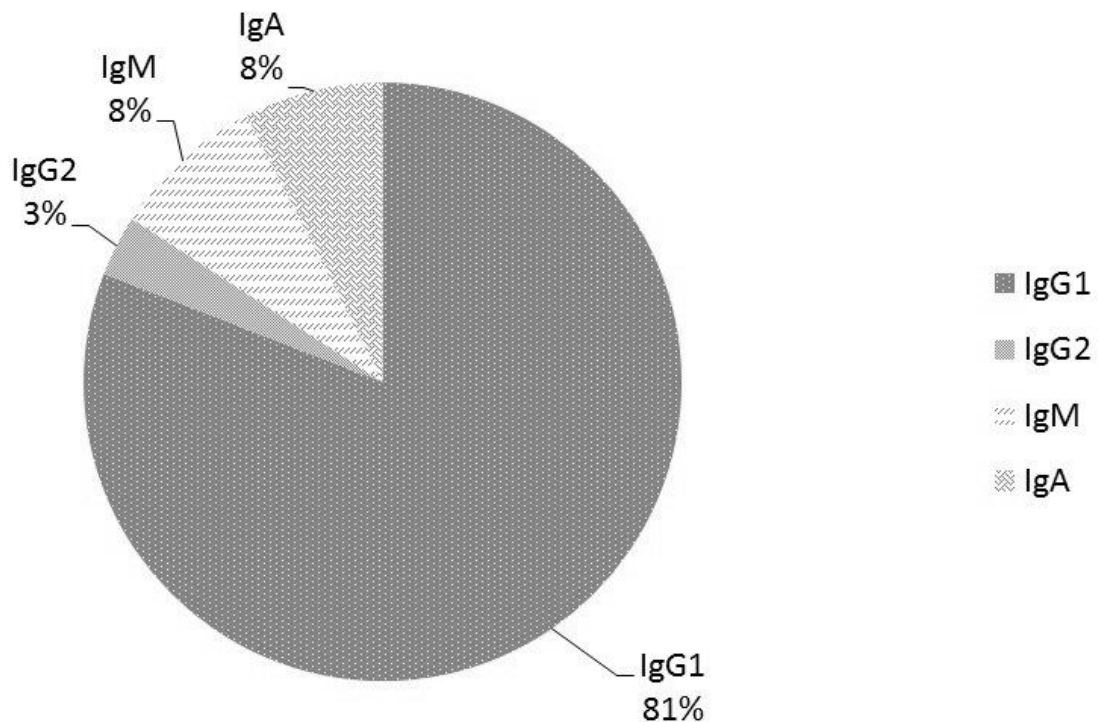
Le Tableau 2 ci-après donne la composition moyenne d'un colostrum de vache laitière.

Tableau 2 : Composition moyenne du colostrum lors du premier jour post-partum chez une vache Prim'Holstein, adapté de ALLEMAND (2008) et MANGIN (2002)

COLOSTRUM (1000g)					Eau : 748 g (74,8 %)
Matière sèche : 252 g (25,2 %)					
Matière grasse : 50 g (19,8 %)	Lactose : 30 g (11,9 %)	Matière protéique : 160 g (63,5 %) dont protéines : 140 g (55,6 %)			Matière minérale : 12 g (4,8 %)
		Caséine : 48 g (34,3 %)	Albumine : 9 g (6,4 %)		
		Ig : 83 g (59,3 %)			Calcium (2,6 g) Phosphore (1,8 g) Potassium (1,4 g) Magnésium (0,4 g) Sodium (0,7 g) Chlore (1,2 g) Zinc (12000 µg/kg) Manganèse (100 µg/kg) Fer (1000 µg/kg) Cuivre (300 µg/kg) Cobalt (75 µg/kg) Silicium (20000 µg/kg) Aluminium (1200 µg/kg) Selenium (50 µg/kg) Vitamine A (10000 UI/L) Vitamine D (10 UI/L) Vitamine E (10000 µg/L) Vitamine B1 (800 µg/L) Vitamine B2 (6000 µg/L) Vitamine B12 (6 µg/L) Acide folique (8 µg/L) Vitamine C (4 µg/L)
		IgG1 : 20 à 100 g (86,2 % en moyenne)			
		IgG2 : 2 g (2,4 %)			
		IgM : 5 g (6,0 %)			
		IgA : 4,5 g (5,4 %)			

On remarque la forte teneur du colostrum en immunoglobulines, qui représentent 33 % de la matière sèche et presque 60 % des protéines colostrales. La Figure 5 ci-dessous représente la répartition des différentes classes d'immunoglobulines dans le colostrum de vache.

Figure 5 : Pourcentages des différentes classes d'immunoglobulines dans le colostrum de vache produit le premier jour post-partum, adapté d'ALLEMAND (2008)



Les IgG1 sont très majoritaires. Elles sont pourtant présentes en quantité égale à celle des IgG2 dans le sang maternel. Il y a donc une concentration au niveau de la mamelle, pour arriver à un ratio d'environ 1 / 7. Ceci fait intervenir des récepteurs spécifiques au niveau des cellules sécrétoires de la mamelle. Il en va de même pour le transfert des IgG2, qui ont elles aussi leurs récepteurs spécifiques. Les autres immunoglobulines passent dans le colostrum par un transfert passif, mais ce phénomène est limité puisqu'un gradient de concentration s'installe rapidement et empêche un nouveau transfert vers la mamelle. À l'exception du cas des IgG1, ces mécanismes sont complétés par une synthèse locale, par les plasmocytes logés dans le tissu mammaire (ALLEMAND, 2008).

Enfin, même en l'absence d'infection mammaire, le colostrum de vache contient aussi de nombreuses cellules, somatiques ou immunitaires. Ces dernières sont de plusieurs sortes, dont les proportions sont différentes de celles rencontrées dans le sang maternel. En effet, on retrouve 40 à 50 % de macrophages, 22 à 25 % de granulocytes neutrophiles, et 22 à 25 % de lymphocytes, dont 88 à 89 % de lymphocytes T (LT), 5 à 15 % de lymphocytes natural killers (NK), et 2,5 à 3,5 % de lymphocytes B (LB) (ALLEMAND, 2008).

2.2.1.3. L'absorption intestinale des immunoglobulines colostrales

2.2.1.3.1. Modalité de transfert

Le colostrum tété passe d'abord dans la caillette du veau. Celle-ci n'ayant pas encore fonctionné, les conditions physico-chimiques qui y règnent ne sont pas les mêmes qu'après les premiers repas. Ainsi son pH est différent de celui mesuré chez des veaux plus âgés, et la

quantité d'enzymes digestives qui interviendront ensuite n'est pas suffisamment importante pour altérer les molécules du colostrum. Celui-ci contient également des quantités importantes de facteurs inhibant ces enzymes, favorisant encore le passage sans transformation des Ig colostrales vers l'intestin grêle. C'est exclusivement dans ce segment du tube digestif qu'elles sont absorbées, et en particulier dans le jéjunum, où le transfert est le plus important (MANGIN, 2002). Cette absorption se fait par pinocytose, au niveau de la muqueuse intestinale. Les macromolécules passent ainsi de la lumière intestinale vers les cellules épithéliales, puis des cellules épithéliales vers la circulation lymphatique, avant que celle-ci ne rejoigne enfin la circulation sanguine. Le transfert d'Ig n'est pas sélectif. Ainsi, la proportion des différents isotypes dans le sang du veau est très comparable à celle décrite dans le colostrum. Cependant, les IgG pouvant diffuser dans des espaces extra-vasculaires, le seul dosage sérique sous-estime la quantité absorbée. Le transfert de cet isotype est donc meilleur que celui des isotypes à localisation exclusivement intravasculaire, comme les IgM.

2.2.1.3.2. Limites de l'absorption digestive

Le transfert de la lumière digestive vers le flux sanguin ne peut cependant se faire que dans les premières heures de vie. L'absorption des IgG ne serait plus que de 66 % à 6 heures, et de 7 % à 36 heures de vie (MANGIN, 2002). Ceci vient du fait que la muqueuse intestinale du fœtus et du veau tout juste né est très perméable, et les immunoglobulines peuvent alors traverser (tout comme certaines bactéries, ce qui augmente encore la fragilité des nouveau-nés). Au fil des heures, plusieurs mécanismes interviennent et rendent plus imperméable la barrière digestive :

- l'ingestion rapide d'une grande quantité de colostrum crée un apport massif d'Ig dans l'intestin grêle. Un phénomène appelé « fermeture » a alors lieu, par saturation des capacités d'absorption des cellules épithéliales. En effet, l'efflux qui a normalement lieu à travers la membrane basale cesse, entraînant une forte concentration des macromolécules et des vésicules de pinocytose dans ces cellules. Les systèmes tubulaires responsables de leur migration intracellulaire sont débordés. Cette accumulation intracellulaire fait également cesser le prélèvement des éléments au pôle apical, donc les Ig restent dans la lumière digestive. Ce mécanisme joue un rôle important, puisqu'il a été montré qu'en assurant au veau de petits repas précoces, permettant d'éviter ce phénomène de saturation, l'absorption des Ig était encore conséquente à 24 heures de vie (ALLEMAND, 2008) ;
 - ensuite, et à partir de 12 heures de vie, la maturation enzymatique des cellules intestinales immatures réduit encore l'absorption, jusqu'à 50 % (MANGIN, 2002) ;
 - enfin, les cellules du tube digestif sont parmi celles se renouvelant le plus dans l'organisme, la durée de vie moyenne d'une cellule épithéliale étant d'environ 3 jours (COUJARD *et al.*, 1980). Ainsi, les cellules embryonnaires sont rapidement remplacées par des cellules épithéliales matures, ceci en moins de deux jours. Or ces nouvelles cellules matures ne présentent plus de capacité de pinocytose, l'efficacité de l'absorption diminue donc drastiquement, ceci à partir de 36 heures de vie environ.
- Ces différents mécanismes expliquent que l'absorption soit maximale dans les premières heures de vie du veau, et diminue progressivement pour devenir nulle vers 24 à 36 heures.

2.2.1.4. Rôles du colostrum

Outre la composition déjà citée, le colostrum est riche en molécules telles que des enzymes. Les rôles de ces nombreuses molécules ne sont pas toujours parfaitement clairs, mais il est admis que la buvée colostrale aurait grâce à elles de nombreux effets bénéfiques sur le veau. Elles participeraient par exemple à des régulations métaboliques, en modulant le catabolisme protéique, en participant à la synthèse des hormones thyroïdiennes ou en régulant la glycémie et le métabolisme lipidique pour ne citer que cela (ALLEMAND, 2008).

Cependant, deux rôles majeurs sont attribués au colostrum.

2.2.1.4.1. Apport énergétique

À sa naissance, les réserves énergétiques du veau sont constituées par du glycogène stocké dans le foie, et des lipides stockés dans le tissu adipeux brun. Cependant, ces réserves sont peu importantes, et ne suffisent pas à assurer la thermorégulation du veau (PERIE, 2009). Un apport énergétique exogène est donc nécessaire. Or le colostrum est très riche en énergie, puisqu'à volume égal, il en apporte deux fois plus que du lait. En effet, sa teneur en matière sèche est elle-aussi deux fois plus élevée, et le colostrum est très digestible (plus de 90 % de digestibilité) (ALLEMAND, 2008).

Cet apport est essentiel, permettant au veau de réguler sa température, ce qui est particulièrement important lors des naissances hivernales.

2.2.1.4.2. Impact sur l'immunité du veau

Comme nous l'avons souligné, le rôle du colostrum dans le renforcement du système immunitaire du veau est essentiel. Il se joue par ailleurs à deux niveaux :

- le colostrum a une action systémique. Celle-ci est permise par l'absorption des Ig colostrales, dont nous avons déjà parlé. L'immunité ainsi acquise empêche la dissémination systémique des agents pathogènes ayant franchi les barrières locales. Elle permet également de neutraliser les toxines bactériennes. Les IgM agiraient par agglutination, alors que les IgG seraient opsonisantes. Ceci aboutirait donc à la phagocytose des germes circulants. Au niveau des cellules immunitaires colostrales, une très faible proportion serait absorbée (environ 0,1 %). Cependant, elles pourraient jouer un rôle protecteur, en agissant directement ou indirectement, ceci en stimulant le système immunitaire du veau nouveau-né. Suite à une infection par *E. coli*, elles permettraient de réduire l'excrétion du germe et le taux d'anticorps circulant chez les veaux ayant reçu du colostrum avec cellules serait supérieur à celui des veaux ayant reçu du colostrum dépourvu de cellules immunitaires intactes (MANGIN, 2002) ;
- le colostrum, tout comme le lait de transition produit ensuite, a également une action locale sur la muqueuse digestive du veau. Tout d'abord, la simple buvée colostrale permet un tapissage de la muqueuse digestive, empêchant ainsi la fixation des bactéries sur les bordures en brosse des entérocytes. De plus, les IgA et les IgM peuvent avoir une action bactéricide en présence de complément et de lysozyme. Ils sont aussi agglutinants. Les bactéries ainsi fixées sont alors éliminées par le péristaltisme intestinal. Les anticorps colostraux accumulés dans les cellules épithéliales lors du phénomène de fermeture peuvent aussi jouer un rôle. En effet, pour traverser la barrière digestive, les bactéries utilisent les mêmes systèmes tubulaires, qui sont alors saturés, les bloquant dans la lumière ou dans les entérocytes (MANGIN, 2002). Enfin, certains anticorps réalisent un cycle entérohépatique. C'est par exemple le cas des anticorps anti-rotavirus, qui sont éliminés par la bile sans transformation. Ils sont donc excrétés fonctionnels dans la lumière digestive, où ils peuvent jouer leur rôle protecteur. Cependant, il a été observé que l'administration des seules Ig était moins efficace que l'administration de colostrum entier, laissant supposer que ce dernier apporte également une immunité non spécifique. Le simple fait de stimuler le péristaltisme peut expliquer en partie cet effet, empêchant la fixation des bactéries aux entérocytes. D'autre part, des facteurs antimicrobiens non spécifiques y sont contenus, et sont actifs dans les conditions rencontrées dans le tube digestif du veau. La présence de cellules immunitaires dans le colostrum peut également jouer un rôle. En effet, nous avons vu que les immunoglobulines peuvent agir de différentes façons. Ainsi, les macrophages permettraient la phagocytose favorisée par les IgG1 par exemple, et les polynucléaires neutrophiles participeraient à l'opsonisation favorisées par les IgG2 (MANGIN, 2002).

Tous ces mécanismes, spécifiques ou non, permettent de réduire l'incidence et la gravité des gastroentérites chez le veau (ALLEMAND, 2008).

Il faut cependant bien garder à l'esprit que la seule présence des anticorps ne suffit pas toujours à protéger le veau. En effet, ceux-ci étant spécifiques, rien ne garantit que les anticorps absorbés soient dirigés contre l'agent pathogène en cause lors de l'apparition d'une infection. Ainsi, le veau peut tomber malade malgré un transfert d'immunité passive optimal.

2.2.2. Principales causes de mauvais transfert d'immunité passive

Les échecs de transfert colostral sont fréquents. VAN DE VEN & MAKOSCHEY (2009) ont mis en évidence un tel échec chez plus de 30 % des veaux dans 18 élevages parmi les 27 testés.

2.2.2.1. Défaut de qualité du colostrum

La qualité du colostrum produit par la vache est très variable d'un individu à un autre, qu'il s'agisse de la composition globale ou plus particulièrement de la teneur en Ig. Plusieurs facteurs ont déjà été identifiés.

2.2.2.1.1. L'individu

D'importantes variations individuelles ont été mesurées quant à la teneur en Ig des colostrums de vache. Dans une étude portant sur 704 vaches laitières, CONNEELY *et al.* (2013) ont obtenu des valeurs d'IgG colostrales allant de 13 à 256 g/L selon les individus, avec une moyenne de 112 g/L. Ce caractère présente une héritabilité relativement élevée (héritabilité maternelle de 0,18 chez la vache charolaise). Pour un individu donné, la qualité du colostrum sera alors constante d'une année sur l'autre, si les autres facteurs de variation restent eux aussi inchangés (MANGIN, 2002).

On voit ici se dessiner un facteur possible de sélection. Cependant, chez les vaches laitières, les revenus des exploitations sont basés sur la production laitière et non sur la vente des veaux. Les critères de sélection génétique sont donc plus souvent orientés vers cette production que vers les qualités maternelles de la mère, qui ne sont presque jamais exploitées. En race allaitante, le produit étant le veau lui-même, les qualités maternelles sont beaucoup plus souvent favorisées. Pourtant, les éleveurs ne semblent pas considérer la qualité colostrale comme étant un critère important pour la production, et ils favorisent ainsi le plus souvent la taille du veau, la facilité de vêlage ou le caractère maternel de la mère au sens strict (à savoir l'acceptation du veau par la mère).

Il serait donc intéressant de prendre en compte la qualité du colostrum dans les critères de sélection génétique, en particulier en race à viande.

2.2.2.1.2. La race

Des variations raciales de la teneur colostrale en Ig ont été observées, même s'il est difficile de conclure à de telles variations face à l'hétérogénéité déjà décrite au sein d'une même race. D'une manière générale, les vaches de race allaitante produisent un colostrum plus riche que les vaches de race laitière, avec une moyenne d'environ 100 mg/mL chez les vaches de race charolaise contre environ 50 mg/mL chez celles de race Prim'Holstein (ALLEMAND, 2008). Il semble que la concentration en Ig soit en effet corrélée à la quantité produite. On peut ainsi supposer que les vaches laitières produisent de plus grands volumes colostraux, d'où leur plus faible concentration en Ig par un phénomène de dilution. Chez les vaches produisant moins de 8,5 L de colostrum, celui-ci était significativement plus concentré en IgG1 que chez celles en produisant plus (WEAVER *et al.*, 2000). De même, CONNEELY *et al.* (2013) ont observé que lorsqu'un kilogramme de colostrum supplémentaire était produit, son taux d'IgG diminuait de 1,7 g/L (CONNEELY, *et al.*, 2013). Des variations raciales au sein de mêmes

types de production sont aussi observées. Ainsi au sein des races laitières, le colostrum produit par les vaches Prim'Holstein serait plus pauvre en IgG que celui des vaches de race Gernesey, mais plus riche en IgA et en IgM (MULLER & ELLINGER, 1981). Ce critère de variation ne semble cependant pas majeur face à l'importance de la variation individuelle. Le choix d'une race produisant un meilleur colostrum pourrait donc être utile, mais cela s'accompagne souvent d'une moins bonne production laitière et la sélection individuelle aurait probablement plus d'impact.

2.2.2.1.3. L'âge et la parité

Malgré de nombreuses études sur le sujet, il est très difficile de mettre en évidence des différences significatives selon ce critère. Cependant, quel que soit l'âge au premier vêlage, il semble que les primipares aient un colostrum moins riche et produit en quantité plus faible que les multipares. Ainsi si le troupeau compte plus de 20 % de génisses, le risque de diarrhée néonatale semble augmenter (NAYLOR, 2005). Ensuite, la concentration en IgG resterait stable au cours des première et deuxième lactations, puis serait significativement supérieure lors des lactations suivantes (WEAVER *et al.*, 2000). Une diminution surviendrait ensuite à partir de 7 ans en moyenne (MANGIN, 2002). Cependant, en race laitière, les vaches sont rarement exploitées jusqu'à cet âge. Par contre, en production allaitante, cela arrive régulièrement. Une surveillance particulière du transfert colostral devrait donc se faire chez les veaux nés de ces vaches, et l'utilisation d'un complément colostral peut être à conseiller, soit systématiquement, soit seulement en cas de pathologie néonatale importante dans l'élevage. La réforme de ces vaches âgées peut aussi être envisagée.

2.2.2.1.4. La durée du tarissement

Au cours du tarissement, l'épithélium mammaire se renouvelle. Ainsi, cette phase est nécessaire pour que le transfert sélectif des IgG1 se fasse efficacement. CAJA *et al.* (2006) ont mis en évidence l'effet négatif d'un abandon total du tarissement sur la concentration du colostrum en Ig chez la chèvre. En effet, ces concentrations en l'absence de période sèche étaient six fois inférieures à celles observées après une période de tarissement de 27 jours, et presque huit fois inférieures à celles obtenues après un tarissement de 56 jours. Cet effet n'est pas aussi clair chez la vache. Certaines études rapportent tout de même une dilution du colostrum en l'absence totale de période sèche. Aucun effet n'est observé par le simple raccourcissement de sa durée (MANSFELD *et al.*, 2012). Cependant, il a été montré qu'un tarissement trop long entraîne également un mauvais transfert d'immunité passive chez le veau. La conduite d'élevage en production laitière devrait donc assurer une phase de tarissement de 25 à 90 jours. En élevage allaitant, la production laitière n'est importante que dans les premiers mois, pour assurer une croissance optimale des veaux. Les volumes de production demandés aux vaches sont donc très inférieurs à ceux demandés aux vaches laitières, ce qui ménage davantage la mamelle. De plus, les veaux sont sevrés vers 6 mois (BONAÏTI *et al.*, 1988), ce qui provoque une interruption de la production lactée en l'absence de traite. Cette phase du cycle de lactation n'entre pas du tout en compte dans la conduite d'élevage en production bouchère. Ce ne semble pas être un point important pour la qualité du colostrum dans ce type d'élevage, et il serait de toute façon impossible de raccourcir significativement cette durée.

2.2.2.1.5. L'alimentation et l'état corporel des vaches en fin de gestation

Au cours de la gestation, les besoins alimentaires de la vache varient beaucoup. En effet, les besoins dans les deux premiers tiers de la gestation ne sont que très peu augmentés par rapport à ceux d'une vache non gravide. Mais dans le dernier tiers de gestation, la croissance du fœtus

augmente beaucoup le besoin alimentaire. Or durant cette période, les vaches laitières sont taries. L'alimentation de ces lots est rarement contrôlée, ce qui peut mener à des carences. Chez les vaches allaitantes, la gestion de l'alimentation à cette période du cycle dépend beaucoup de la saison de vêlage, les vaches étant alors soit au pâturage, soit en bâtiment. Cependant, des études ont montré qu'une restriction énergétique même importante (15 % par exemple) n'avait que peu d'effet sur la qualité du colostrum produit (DARDILLAT *et al.*, 1978). Chez la brebis, SWANSON *et al.* (2008) ont mis en évidence que la concentration colostrale en IgG étaient maximale lorsque l'apport énergétique était restreint à 60 % des besoins, par opposition aux groupes recevant 100 % et 140 % des besoins. Cependant, le volume produit étant plus faible en cas de déficit ou d'excès énergétique, la quantité d'Ig totale excrétée dans le colostrum était meilleure lorsque les besoins énergétiques étaient couverts sans excès. De même, une restriction protéique sévère dans les 90 derniers jours de gestation diminuait la quantité de colostrum produite mais ceci était compensé par une augmentation de la concentration en Ig. D'autres études ne montrent pas de différence de concentration en Ig colostrale chez des vaches allaitantes recevant seulement 57 % de leurs besoins énergétiques et protéiques dans les 90 derniers jours de gestation par rapport à celles nourries avec 100 % de leurs besoins (HOUGH *et al.*, 1990). Par contre, d'autres études ont réussi à montrer qu'un déséquilibre de la ration ou un apport en quantité insuffisante réduisait la masse d'Ig dans le colostrum (MANGIN, 2002).

L'équilibre et le niveau alimentaire en fin de gestation pourraient donc avoir un impact sur la qualité du colostrum produit, bien que les auteurs ne soient pas unanimes à ce sujet. Cependant, le contrôle de la ration de ces vaches présente d'autres intérêts qu'il ne faut pas négliger. En effet, un déséquilibre alimentaire à cette période prédispose la vache laitière à des troubles métaboliques tels que l'acido-cétose, des troubles de la reproduction (rétention placentaire, infertilité) ou encore des troubles locomoteurs. Les déséquilibres en calcium sont aussi associés à l'hypocalcémie *peri-partum* (SMITH *et al.*, 2007).

2.2.2.1.6. L'état sanitaire des vaches

La santé des mères influe également sur la qualité du colostrum produit. Par exemple, en cas de mammites, le colostrum est moins riche en Ig, tout comme le sérum du veau nouveau-né qui présente un risque de mortalité plus important (PERINO *et al.*, 1995).

Il en va de même en cas de parasitose, puisque les parasites comme *Fasciola hepatica* provoquent une perturbation et un détournement de la synthèse protéique. Le colostrum est alors notamment plus riche en IgE, qui peuvent être allergisantes pour le veau (MANGIN, 2002).

D'une manière générale, il faudra donc s'assurer du bon état de santé des mères, en traitant et en prévenant les maladies et les infestations parasitaires.

2.2.2.1.7. La vaccination

La vaccination des mères permet une augmentation des taux d'IgG1 en particulier dans leur sérum. Le colostrum est alors lui aussi plus riche pour cet isotype, tout comme le lait, puisque cette augmentation est aussi plus durable (RABINOVITZ *et al.*, 2012). De plus, les anticorps ainsi transférés sont spécifiques d'un ou plusieurs agents pathogènes. Il est donc très intéressant de vacciner les mères contre les agents rencontrés dans l'élevage, puisque les veaux seront alors mieux protégés contre ceux-ci, et les veaux s'infectant quand même excrèteront en moins grande quantité, réduisant la pression d'infection pour les veaux naissant ensuite dans l'élevage. Ainsi, JAYAPPA *et al.* (2008) ont testé l'effet de la vaccination des mères contre *E. coli* F5 à environ trois mois de gestation. Après inoculation des veaux à un jour de vie, le taux de diarrhée sévère chez ceux dont les mères étaient vaccinées avait atteint 28,6 %, contre 75 % chez les témoins, dont les mères n'avaient pas été vaccinées. La

différence entre ces deux groupes est encore plus marquée en ce qui concerne le taux de mortalité associé, puisqu'il n'est que de 14 % dans le groupe avec vaccination, contre 80 % chez les veaux témoins ainsi inoculés. Concernant l'excrétion, il a été prouvé qu'elle était réduite en durée et en intensité par la vaccination des veaux.

Pour conclure cette partie sur la qualité du colostrum, il faut noter la multiplicité des facteurs à prendre en compte. Or son évaluation est essentielle, à l'échelle individuelle comme à celle du troupeau. En effet, cette qualité est une première condition à la bonne réalisation du transfert d'immunité passive chez le veau nouveau-né. Outre prévenir les causes de diminution de la teneur en Ig, plusieurs méthodes existent pour mesurer cette dernière, méthodes qui seront détaillées dans une prochaine partie.

2.2.2.1.8. Moyens de contrôle de la qualité colostrale

Ce contrôle est souvent facile à réaliser, quel que soit le type de production. Plusieurs tests sont disponibles, au chevet de l'animal ou en laboratoire :

- observation directe du colostrum : ceci peut être réalisé sur le terrain, directement par l'éleveur. En l'absence d'anomalie, il doit être visqueux, collant, propre, de couleur jaune à orange. Plusieurs anomalies peuvent ainsi être détectées. Tout d'abord, des anomalies de texture telles que la présence de grumeaux sont très en faveur d'un défaut de qualité. Des anomalies de couleur peuvent aussi amener à cette conclusion (couleur rose en cas d'hémolactation...). Enfin, un colostrum ayant un aspect de lait peut laisser supposer qu'il y a eu perte du colostrum avant le prélèvement, et donc possiblement avant la première tétée (ALLEMAND, 2008). Cependant, le degré de corrélation entre l'évaluation par observation directe et la teneur en IgG du colostrum est faible, quel que soit le critère retenu, comme l'ont montré HAMILTON & GIESEN (2003) concernant la couleur, la viscosité ou le caractère collant ;

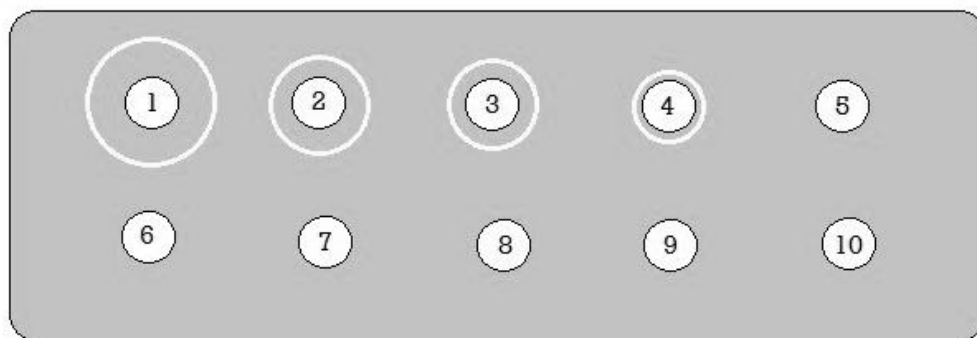
- utilisation d'un pèse-colostrum : cet instrument se base sur la mesure de la densité colostrale pour en déterminer la qualité. Cet instrument est peu coûteux et son utilisation est très simple. Cependant, il a été calibré avec du colostrum de vaches Prim'Holstein. Les vaches allaitantes ayant en général une teneur en IgG colostrale plus élevée, un tel test n'est pas très sensible chez ces races. En effet, le seuil fixé pour qualifier la qualité de « bonne » est de 50 g/L. Une telle évaluation ne permettra donc pas de comparer les qualités des colostrums de deux vaches charolaises à respectivement 100 g/L et 300 g/L. Or pour une quantité ingérée égale, le veau de la première recevra trois fois moins d'immunoglobulines. La répétabilité des mesures obtenues est également assez faible, puisque les conditions d'utilisation du pèse-colostrum sont strictes (ALLEMAND, 2008). Par exemple, lors de la réalisation du test, la température doit être comprise entre 15 et 20 °C, ce qui est rarement le cas dans les stabulations, lors des vêlages d'hiver en particulier. Cet outil n'est donc pas parfaitement adapté à l'élevage allaitant, mais il permet de détecter les colostrums de très mauvaise qualité. En considérant de plus son faible coût et sa facilité d'utilisation, il peut tout de même constituer un atout dans les élevages où de tels problèmes sont suspectés ;

- utilisation d'un réfractomètre : le dépôt d'une goutte de colostrum sur le prisme permet d'en évaluer rapidement la qualité. Il peut alors être classé en « bon » ou « mauvais » en comparant la valeur obtenue (en degré pour les réfractomètres fonctionnant à l'alcool ou en pourcent pour ceux fonctionnant au sucre) à un seuil établi par le fabricant. Les résultats de cette méthode sur le colostrum de jument sont répétables et fiables, par comparaison avec une méthode de laboratoire basée sur la mesure de la densité optique du colostrum (CHAVATTE *et al.*, 1998). Chez la vache laitière, BIELMANN *et al.* (2010) obtiennent également des

résultats satisfaisant avec les réfractomètres optiques utilisés, dont les résultats présentent une bonne corrélation avec ceux obtenus par immunodiffusion radiale (technique détaillée ensuite) ;

- dosages : plusieurs dosages sont réalisables sur le terrain, au cabinet vétérinaire ou en laboratoire. Les méthodes immunologiques sont très répandues, par le biais de kits rapides par exemple. En laboratoire, la technique de l'immunodiffusion radiale est la technique de référence. Une plaque, comportant un nombre de puits variable, est composée d'une gélose d'agar-agar le plus souvent, dans lequel un anti-sérum spécifique des Ig recherchées (les IgG1 par exemple) a été incorporé. La concentration de ces anticorps est connue. Les quatre premiers puits sont utilisés pour faire une gamme étalon, et sont donc remplis avec plusieurs dilutions d'une solution dont on connaît le titrage en anticorps. Les autres puits sont remplis avec les échantillons à tester, comme représenté par la Figure 6 ci-dessous. Les Ig des échantillons migrent alors radialement, leur concentration décroissant en s'éloignant du puits. En rencontrant les anticorps anti-isotype, un précipité circulaire apparaît lorsque les concentrations sont optimales. Le diamètre de ce cercle blanc est alors proportionnel à la concentration en Ig dans l'échantillon. La comparaison avec les diamètres obtenus pour la gamme étalon permet de convertir cette valeur en une concentration en anticorps en grammes par litre (LEVIEUX, 1991) ;

Figure 6 : Schéma d'une plaque d'immunodiffusion radiale, où les puits 1 à 4 sont ceux de la gamme étalon, les six suivants permettant le dosage des Ig des échantillons à tester (schéma personnel)



- d'autres techniques permettant des mesures de qualité ont été développées, mais sont beaucoup plus rarement utilisées, face à des problèmes de coût ou de praticité. Des techniques ELISA sont ainsi parfois utilisées (ALLEMAND, 2008). Enfin, après un étalonnage précis, la spectrophotométrie permet un dosage des immunoglobulines colostrales tout aussi fiable que l'immunodiffusion radiale. Elle présente également l'avantage de pouvoir doser d'autres constituants du colostrum, tels que la teneur en matière grasse par exemple (RIVERO, 2012).

2.2.2.1.9. Interprétation des résultats de ces tests

On qualifie couramment le colostrum de « mauvais » pour une concentration en Ig inférieure à 50g/L. Si une mère produit un tel colostrum, il faut porter une attention particulière au transfert d'immunité passive à son veau.

2.2.2.1.10. Moyens de correction en cas d'un défaut de qualité du colostrum produit par la mère

Mieux vaut ne pas laisser un veau boire du colostrum de mauvaise qualité. Il est alors conseillé d'utiliser un colostrum de remplacement ou de complément (ALLEMAND, 2008). Ce colostrum de complément peut venir d'une autre vache de l'élevage, de la même race ou d'une race connue pour la quantité de colostrum qu'elle produit. Si une telle vache a vêlé le même jour que celle ayant peu produit, il est possible de la traire et de donner son colostrum frais à un veau n'en ayant pas bu assez, au biberon par exemple. De plus, une banque de colostrum pourra être constituée dans l'élevage. Il suffit pour cela de prélever les vaches produisant beaucoup de colostrum. Après s'être assuré qu'il est de qualité, on pourra le stocker entre -20 et -25 °C, et le conserver ainsi pendant 1 an sans problème. Des études ont mis en évidence qu'un chauffage à 60 °C pendant 30 ou 60 minutes avant congélation améliore les taux de protéines totales et d'IgG dans le sérum du veau après ingestion (JOHNSON *et al.*, 2007 ; ELIZONDO-SALAZAR & HEINRICHS, 2009). Pour l'utiliser, il faut ensuite le réchauffer au bain-marie et le donner au veau, au biberon ou à la sonde, en l'absence de réflexe de succion par exemple. L'absorption des Ig est alors peu différente de celle obtenue par l'administration de colostrum frais, BESSER *et al.* (1991) n'ayant observé qu'un petit effet négatif de la congélation sur la concentration en Ig. Cependant, la fraction cellulaire contenue y est aussi altérée. La qualité du colostrum congelé n'est donc pas aussi bonne qu'avant congélation, mais il protège tout de même efficacement le veau.

Le mode de distribution influence également l'absorption des Ig. En effet, les veaux nourris à la bouteille semblent présenter des taux sériques d'IgG inférieurs à ceux observés chez les veaux laissés libres de téter leurs mères (QUIGLEY *et al.*, 1995 ; FRANKLIN *et al.*, 2003). D'autre part, BESSER *et al.* (1991) ont observé un taux d'échec de transfert d'immunité passive décroissant selon que l'administration ait été faite par tétée de la mère, biberon ou sondage oro-oesophagien (respectivement 61,4 %, 19,3 % et 10,8 %). Ces meilleurs résultats peuvent être en partie dus à une meilleure surveillance des veaux nourris à la main, pour lesquels la prise colostrale est précoce et suffisante en quantité. Cependant, concernant les différences observées entre l'administration du colostrum au biberon ou par sondage, des données contradictoires existent. En effet, CHIGERWE *et al.* (2012) n'ont pu mettre en évidence aucune différence de taux sérique d'Ig entre ces deux méthodes, contrairement à BESSER *et al.* (1991) pour qui l'écart reste tout de même assez modeste. GODDEN *et al.* (2009) quant à eux trouvent un résultat intermédiaire : lorsque de grands volumes sont administrés (3 L), aucune différence n'est observée. Par contre, pour de plus petits volumes (1,5 L), les veaux nourris au biberon présentaient des taux sériques de protéines totales et d'IgG supérieurs à ceux qui ont été sondés. Ces observations sont donc contradictoires avec celles de BESSER *et al.* (1991). L'impact du mode de distribution sur l'efficacité du transfert colostrale n'est donc pas encore parfaitement clair, mais l'on peut retenir que pour une ingestion de volumes modérés, l'administration au biberon semble plus efficace que l'utilisation d'une sonde oesophagienne.

Des colostro-remplaceurs peuvent aussi être achetés dans le commerce. Ils contiennent des substrats énergétiques et des anticorps. Ils peuvent être utilisés en remplacement du colostrum, lorsque celui-ci n'est pas disponible, ou en complément du colostrum maternel lorsque sa qualité est douteuse, sa quantité insuffisante ou en cas d'épidémie de gastro-entérite néo-natale dans l'élevage. Mais l'efficacité de tels produits pourrait être incertaine, les anticorps qu'ils contiennent n'étant pas spécifiquement dirigés contre les agents pathogènes rencontrés dans un élevage donné. ALY *et al.* (2013) ont montré que l'incidence des diarrhées était moindre chez les veaux recevant un colostro-remplaceur par rapport à ceux recevant un mélange de colostrum de mauvaise qualité ($p = 0,011$). ROKKA *et al.* (2001) ont mesuré l'activité bactériolytique, l'activité d'opsonisation, la concentration en fraction du

complément C3 et en anticorps spécifique d'*E. coli* dans les séra de veaux ayant reçu un concentré de colostrum en plus de colostrum et de lait dans leurs deux premiers jours de vie. Le groupe témoin n'a reçu que le colostrum et le lait. À 2 et 7 jours *post-partum*, l'activité lytique sur des *E. coli* sensibles à l'action du complément des séra des veaux traités était deux à trois fois supérieure à celle des veaux témoins ($p < 0,005$). Il a aussi été montré qu'à 2 et 14 jours, la capacité d'opsonisation des séra était corrélée à la quantité d'immunoglobulines ingérée par les veaux, celle des veaux complémentés étant supérieure. Enfin, si aucune différence de concentration en composé C3 n'a pu être mise en évidence, la concentration maximale en anticorps atteinte par les veaux complémentés a été supérieure à celle des veaux témoins ($p < 0,0001$). Une telle complémentation permet donc non seulement d'augmenter le taux sérique en anticorps chez le veau nouveau-né, mais elle apporte une réelle protection par l'augmentation de l'activité bactériolytique contre les *E. coli* sensibles à l'action du complément.

2.2.2.2. Défaut de quantité de colostrum produite par la mère

Tout comme la qualité, la quantité de colostrum produite peut varier d'un animal à l'autre. D'une manière générale, il a été observé que l'augmentation du volume produit entraînait une baisse de la concentration en Ig, par un phénomène de dilution. Par contre, la production d'un trop faible volume a le même effet (ALLEMAND, 2008).

Là-encore, des variations individuelles et raciales sont observées. Les vaches laitières produisent en moyenne plus de colostrum que les vaches allaitantes. Cependant, ceci ne garantit pas un transfert optimal d'immunité passive chez les veaux de races laitières. En effet, face à ce phénomène de dilution, pour que le veau ingère la quantité nécessaire d'immunoglobuline, il doit consommer un grand volume de colostrum. Celui-ci est disponible dans la mamelle, mais la capacité d'ingestion du veau est limitée, donc il arrive qu'il ne puisse boire le volume suffisant dans les premières 24 heures de vie (BESSER *et al.*, 1991). Or nous avons déjà souligné l'importance de ce délai dans l'absorption intestinale des Ig et donc dans la protection immunitaire systémique du veau nouveau-né.

Les observations quant à la parité semblent intervenir de la même façon que pour la qualité : les primipares produisent un volume moins important que les multipares, ce volume augmentant gestation après gestation jusqu'à un seuil.

Les conditions de vêlage sont aussi un facteur prédominant dans la variation de quantité. En effet, lors d'une naissance par césarienne par exemple, la quantité de colostrum disponible est très faible voire parfois nulle (MANGIN, 2002).

Il est donc essentiel de vérifier que le veau reçoive un volume suffisant de colostrum dans les premières heures. Cependant, les quantités produites et consommées restent difficiles à évaluer si le veau tête seul. En élevage laitier, l'usage d'un pot trayeur rend l'évaluation de la quantité de colostrum produite possible. Cependant, en l'absence du veau, l'excrétion peut être inhibée, la récolte n'étant alors pas complète. En élevage allaitant, ceci n'est pas réalisable puisque les animaux ne sont pas habitués à être traités. Le contrôle le plus simple à réaliser est alors basé sur l'observation de la taille de la mamelle. D'une manière générale, en cas de doute, l'utilisation d'un colostrum de complément est à encourager. De plus, nous avons vu que les primipares produisaient en moyenne moins que les multipares. Il faudra donc porter une attention particulière aux veaux de celles-ci. Une complémentation peut même être instaurée de manière systématique chez ces veaux (ALLEMAND, 2008).

2.2.2.3. Défaut d'ingestion ou d'absorption digestive par le veau

Malgré un colostrum de qualité, produit en quantité suffisante, le transfert colostral échoue chez 25 à 60 % des veaux (PERIE, 2009). En effet, nous avons vu que le veau doit le boire le

plus tôt possible après sa naissance, et avant 24 à 36 heures pour que les Ig colostrales soient absorbées dans l'intestin grêle. Cependant, plusieurs événements peuvent perturber ceci.

- Tout d'abord, il peut y avoir un retard de la première tétée ;

➤ Ceci peut venir du veau dans certains cas, comme lors de dystocie. Il peut avoir été blessé lors des manœuvres obstétricales, avoir subi une phase d'hypoxie, ou encore être trop gros pour supporter son poids. Nous avons vu que l'hypoxie entraîne une acidose métabolique (par production de L-Lactates) et respiratoire (par hypercapnie), diminuant alors l'ingestion du veau qui se trouve affaibli. L'absorption intestinale est elle-aussi moins efficace, expliquant la grande variation individuelle observée la concernant (WEAVER *et al.*, 2000). De manière générale, et en particulier suite à un vêlage difficile, l'éleveur devra donc porter une attention particulière au veau nouveau-né ;

➤ Ce retard de tétée peut aussi être dû à la mère, si celle-ci reste couchée après la mise-bas par exemple (blessure lors du part, ou cas des hypocalcémies chez les vaches laitières). Elle peut aussi refuser son veau. C'est une cause fréquente de défaut de transfert d'immunité passive chez les veaux des primipares ou lors de vêlages dystociques (par césarienne en particulier). Il arrive alors que la mère ne laisse pas téter son veau voire qu'elle le chasse, au risque de le blesser (MAËS, 2010).

- Le défaut de transfert peut aussi être lié à une ingestion en quantité insuffisante. Il est facile de concevoir que le transfert se fasse mal si le veau ne boit pas suffisamment de colostrum, d'aussi bonne qualité soit-il (WEAVER *et al.*, 2000). Là-encore, cela peut se produire lorsque le veau est affaibli ou que la vache ne le laisse pas téter.

Cependant, pour que le transfert d'immunité passive soit efficace, il faut allier qualité et quantité de colostrum ingéré. En effet, l'ingestion d'une grande quantité d'un colostrum pauvre en anticorps ne suffira pas à garantir un bon transfert. Il a été montré que l'ingestion de deux litres d'un colostrum à 50 g/L d'IgG ne permettait pas d'atteindre les taux sériques obtenus lors de l'ingestion d'un litre de colostrum deux fois plus concentré en IgG.

Le phénomène de saturation déjà décrit intervient lui aussi. Une fois l'absorption maximale atteinte, il ne sert à rien d'apporter d'avantage de colostrum (BARRON, 2002).

Pour conclure, la buvée idéale nécessite certaines conditions. Il faut que la vache et le veau soient en bonne santé, après un vêlage facile (le choix des reproducteurs et la bonne connaissance de la date de mise bas attendue entrant ici en compte). La vache doit avoir un colostrum de qualité et en quantité suffisante. Une sélection des reproductrices peut favoriser cette aptitude. Dans l'idéal, elle aura été vaccinée contre les agents pathogènes posant problème dans l'élevage, en respectant le protocole décrit dans le dossier d'AMM. Le veau doit ainsi boire le plus tôt possible après sa naissance, éventuellement en plusieurs prises dans les premières heures pour éviter le phénomène de fermeture. Les buvées ultérieures garantiront au veau une protection intestinale locale.

Plusieurs expériences ont cherché à favoriser l'absorption intestinale des Ig par l'ajout de différentes substances dans le colostrum. Ainsi certains constituants de l'argile comme la clinoptilolite auraient des effets bénéfiques. Ses effets positifs sur la production des vaches laitières ont déjà été prouvés. Plusieurs études ont testé son incorporation au colostrum, et distribué à raison de 0,5 à 2 g/kg/j aux veaux dans leurs premières heures de vie. Ceci a été associé à une augmentation du taux d'anticorps sériques, d'une diminution de l'incidence des diarrhées chez les veaux ainsi supplémentés, qui présentent aussi de meilleurs GMQ, avec un poids supérieur à 45 et 90 jours post-partum (POURLIOTIS *et al.*, 2012 ; ZARCULA *et al.*,

2010). Les mécanismes d'action de ce composant ne sont pas encore clairement établis, mais plusieurs hypothèses sont émises. Tout d'abord, le ralentissement du transit digestif qu'elle entraîne augmenterait le temps de contact entre les Ig présentes dans la lumière digestive et leurs récepteurs spécifiques, améliorant leur absorption. Ensuite, clinoptilolite et immunoglobulines étant toutes deux des macromolécules, leur absorption implique des phénomènes de pinocytose. Ainsi, l'ajout d'un tel constituant au colostrum augmente l'activité pinocytaire des entérocytes, améliorant en parallèle l'absorption des autres macromolécules et donc des Ig. Enfin, la dernière hypothèse suppose la mise en jeu d'un mécanisme indirect. La clinoptilolite se lierait aux déchets azotés des protéines colostrales dans l'intestin, tels que l'ammoniaque. Leurs effets défavorables sur le fonctionnement des entérocytes seraient ainsi évités, et l'absorption intestinale se trouverait là encore améliorée (POURLIOTIS *et al.*, 2012).

L'ajout de sélénium au colostrum entraîne également une augmentation plus marquée du taux d'Ig sérique du veau nouveau-né, cette augmentation allant de 20 à 42 % selon les modalités d'incorporation de cet élément (KAMADA *et al.*, 2007). Cependant ces supplémentations sont difficilement applicables en élevage allaitant, et elles restent peu répandues en élevage laitier en France.

Pour l'ensemble des veaux, il peut ainsi être intéressant de vérifier les trois causes d'échec. Cette évaluation comporte plusieurs éléments. Tout d'abord, il faut s'assurer que la première tétée se fasse le plus tôt possible, et intervenir si ce n'est pas le cas. Ceci est facile à réaliser, mais les naissances de nuit ne bénéficient souvent pas d'une surveillance assez étroite pour cela. Ainsi, les veaux peuvent ne boire pour la première fois qu'après 6 à 12 heures. Il faudra d'abord s'assurer que la vache soit en bonne santé (rétablir la calcémie, vérifier l'absence de mammite rendant la tétée douloureuse...). Il faut aussi qu'elle accepte son veau. Sur le terrain, quelques techniques sont mises en œuvre pour faciliter l'adoption du veau (mettre du sel sur le veau après la mise-bas pour inciter sa mère à le lécher, tenir la vache le temps que le veau tète...). Cependant, dans cette situation, le veau devra encore être surveillé étroitement et le recours à des colostrums de complément ou de remplacement est souvent nécessaire, à moins qu'une autre vache n'adopte le veau rejeté.

De plus, nous avons vu qu'en cas de vêlage difficile, les lactates s'accumulent dans le sang du veau sont responsables d'une acidose. C'est alors le veau qui sera incapable d'ingérer le colostrum et d'en absorber correctement les immunoglobulines. Il peut être intéressant de doser ces L-Lactates d'un point de vue pronostique. D'après PERIE (2009), il sera sombre si leur concentration plasmatique dépasse 4 mmol/L. Il en est de même si la glycémie est inférieure à 0,45 g/L. On peut aussi analyser les gaz du sang ainsi que le pH sanguin (ou urinaire, parfois plus disponible sur le terrain, par une simple bandelette et assez bien corrélé au pH sanguin). Une thérapeutique visant à rétablir les équilibres acido-basiques et hydro-électriques est tout à fait indiquée pour assurer au veau de meilleures chances de survie, par une ingestion et une absorption correcte du colostrum.

Nous avons vu que l'absorption intestinale dépend de nombreux facteurs. Mais même si certains sont évaluables, la variabilité individuelle ne peut être appréhendée et des analyses sont nécessaires pour confirmer la réussite du transfert colostrale. Plusieurs techniques peuvent là aussi être utilisées :

- au chevet de l'animal, le réfractomètre peut être utilisé pour mesurer le taux de protéines dans le sang du veau. Dans ce cas, l'instrument est adapté à cette utilisation donc aucune dilution n'est nécessaire et la mesure est très simple. Reste cependant le problème lié au manque de spécificité d'une telle mesure, qui prend en compte les immunoglobulines mais aussi les autres protéines sanguines comme l'albumine. La traduction du taux de protéines en taux d'immunoglobulines n'est ensuite pas très précis. Mais le très faible coût et la simplicité

d'un tel test le rendent tout de même assez utilisé en pratique courante. Ce résultat peut également être précisé en dosant parallèlement le taux d'albumine sérique, ce qui est réalisable en cabinet vétérinaire ou en laboratoire (MANGIN, 2002). D'autres tests rapides par diffusion latérale ont aussi été développés. Ils permettent de distinguer les concentrations inférieures et supérieures à 10 g/L, seuil couramment utilisé pour conclure à un défaut de transfert colostrale (FIDLER *et al.*, 2011 ; WEAVER *et al.*, 2000). Certains auteurs préconisent même de fixer un objectif de 15 g/L (WEAVER *et al.*, 2000) ;

- en laboratoire, la technique d'immunodiffusion radiale appliquée au sérum du veau est là encore la technique de référence. En effet, il suffit de centrifuger le sang prélevé sur tube sec et de réaliser la même procédure qu'avec le colostrum. Cette technique est précise mais plus coûteuse, avec un certain délai de réponse (LEVIEUX, 1991). Elle est fréquemment utilisée pour faire un état des lieux du transfert colostrale à l'échelle du troupeau. L'électrophorèse des protéines sériques réalisée à partir d'un prélèvement de sang sur tube EDTA est aussi une méthode de choix en laboratoire (PERIE, 2009). D'autres techniques ont aussi été développées, mais elles nécessitent souvent du personnel qualifié et du matériel coûteux. Elles sont donc peu utilisées en pratique. C'est par exemple le cas de techniques ELISA, d'agglutination ou de fixation du complément (MAËS, 2010) ;

- enfin, d'autres molécules peuvent être dosées, renseignant indirectement sur la réussite du transfert des Ig. C'est par exemple le cas de la γ -glutamyl transférase (GGT). Sa concentration colostrale est 300 fois supérieure à sa concentration sérique chez la vache. La GGT étant transférée en même temps que les immunoglobulines, sa concentration sérique chez le veau nouveau-né sera supérieure si le transfert a été efficace. Ainsi, chez 14 veaux nouveau-nés, les taux de GGT observés par BRAUN *et al.* (1982) allaient de 10 à 31 UI/L avant la prise colostrale, et s'élevaient à 370 à 5000 UI/L après celle-ci. Si le taux de GGT sérique chez un veau de plus de 24 heures est inférieur à 200 UI/L, il semble que l'on puisse considérer que le transfert a échoué, et que la concentration en Ig est inférieure à 10 g/L (PERIE, 2009). Cependant, d'autres études n'ont pas pu mettre en évidence de corrélation entre l'activité sérique de la GGT et la réussite du transfert colostrale chez le veau. Cette technique présente donc un intérêt incertain en pratique (WEAVER *et al.*, 2000).

Il est donc intéressant d'évaluer la qualité et la quantité du colostrum produit. Il faudra ensuite vérifier que le veau ingère une quantité suffisante dans les premières heures de vie. En cas de doute, il pourra être intéressant de tester la qualité du transfert d'immunité passive par des analyses sanguines chez le veau. Cependant, cette étape a peu d'intérêt à l'échelle individuelle, puisque le résultat arrive en général trop tard pour pouvoir compléter le veau. Dans ce cas, des mesures de séroprévention peuvent être envisagées. Celles-ci consistent en l'administration au veau par voie intraveineuse de plasma d'un de ses parents. Si le prélèvement est fait chez la mère, il faudra veiller à ce qu'elle soit en bonne santé, les cas de défaut de transfert dus à une affection maternelle étant donc exclus. On pourra alors administrer 20 mL/kg au veau par voie intraveineuse ou intrapéritonéale (WEAVER *et al.*, 2000). L'administration de sang total est aussi possible, mais les volumes à injecter sont alors plus importants. Les réactions allergiques lors de première transfusion n'ont jamais été décrites chez des veaux, mais une surveillance de l'animal ainsi traité est cependant conseillée. Assez répandue en médecine équine, cette technique reste peu utilisée chez les bovins, probablement pour des raisons économiques. En cas de défaut de transfert colostrale, l'antibioprévention est parfois envisagée. Cette pratique est largement décrite dans le contexte actuel de multiplication des germes résistants en élevage comme en santé humaine. Cependant, si l'administration préventive d'antibiotique à tous les veaux d'un cheptel est à

déconseiller fortement, son administration aux veaux présentant un défaut de transfert colostral peut être envisagée, en particulier dans un contexte d'épidémie de gastro-entérites néonatales dans l'élevage. Ces considérations seront développées dans une partie ultérieure. Dans tous les cas, ces traitements préventifs doivent s'accompagner de mesures managériales visant à réduire l'exposition des veaux aux agents pathogènes (WEAVER *et al.*, 2000).

Les analyses précédemment citées seront tout de même très informatives à l'échelle du troupeau, pour détecter un problème de gestion du transfert d'immunité colostrale. Face à une épidémie chez les veaux nouveau-nés, une démarche telle que celle présentée par la Figure 7 ci-après pourra être adoptée.

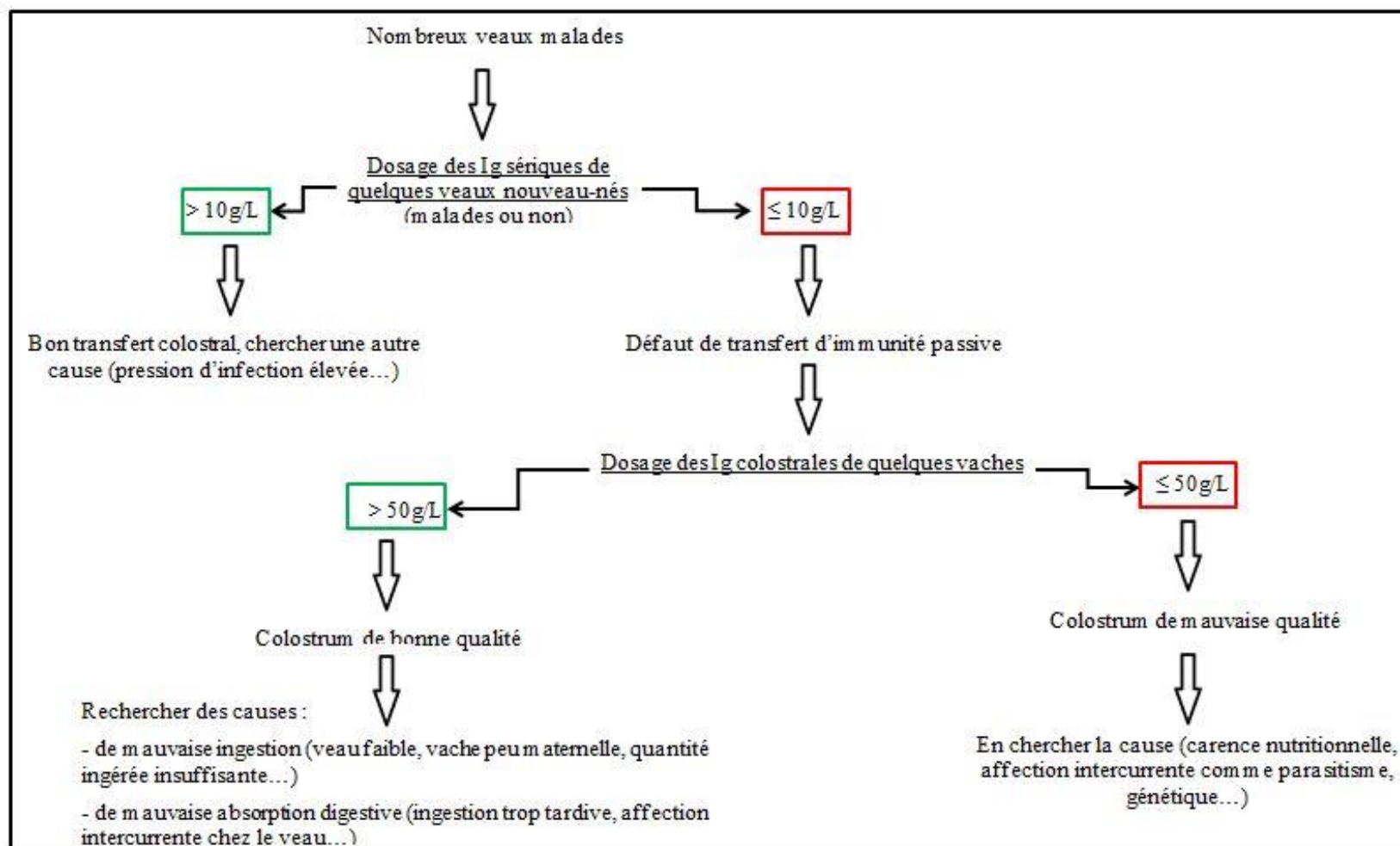
Il faut tout de même garder à l'esprit qu'un bon transfert d'immunité passive n'est pas la seule condition pour éviter au veau de développer une colibacillose, puisque les conditions environnementales jouent également un rôle crucial comme nous l'avons expliqué.

L'immunité du veau nouveau-né repose sur le transfert d'immunité passif, qui nécessite :

- **un colostrum de bonne qualité (concentration en IgG supérieure à 50 g/L) : préparer correctement les vaches au vêlage (gestion de l'alimentation et des maladies, vaccination), surveiller en particulier les veaux nés de vaches primipares ;**
- **un colostrum produit en quantité suffisante : surveiller en particulier les veaux nés de vaches primipares ou connues pour produire peu de colostrum ;**
- **une ingestion précoce d'un volume suffisant par le veau nouveau-né : prendre en charge rapidement la vache et son veau suite à un vêlage dystocique (gestion de l'hypoxie chez le veau, des blessures ou autre affection peripartum de la mère), stimuler le veau à boire le plus tôt possible ;**

Des mesures de la qualité du colostrum ou du transfert d'immunité passif peuvent être intéressantes pour une bonne gestion à l'échelle du troupeau.

Figure 7 : Schéma d'une démarche possible face à une épidémie de diarrhée chez des veaux nouveau-nés selon les seuils couramment admis dans la littérature, et en complément d'un questionnement de l'éleveur sur ses pratiques d'élevage autour du part (réalisation personnelle)



3. Moyens de lutte curatifs non spécifiques

3.1. Fluidothérapie

3.1.1. Déséquilibres engendrés par la diarrhée

Qu'elle soit sécrétoire, osmotique ou exsudative, et quelle qu'en soit l'étiologie, la diarrhée est associée à une augmentation de la perte digestive en eau, celle-ci étant issue du milieu extracellulaire. Ceci entraîne la déshydratation du veau malade lorsqu'il n'arrive pas à compenser en augmentant ses apports. On peut observer cela lorsque la perte est très importante, lors de diarrhées liquides profuses, ou lorsque les apports diminuent, en cas d'atteinte de l'appétit ou de l'état général du veau. Dans ces deux cas, l'affaiblissement engendré par la déshydratation sera responsable d'une diminution des apports, aggravant encore le phénomène et pouvant aboutir au décès du veau lorsque la déshydratation devient trop importante.

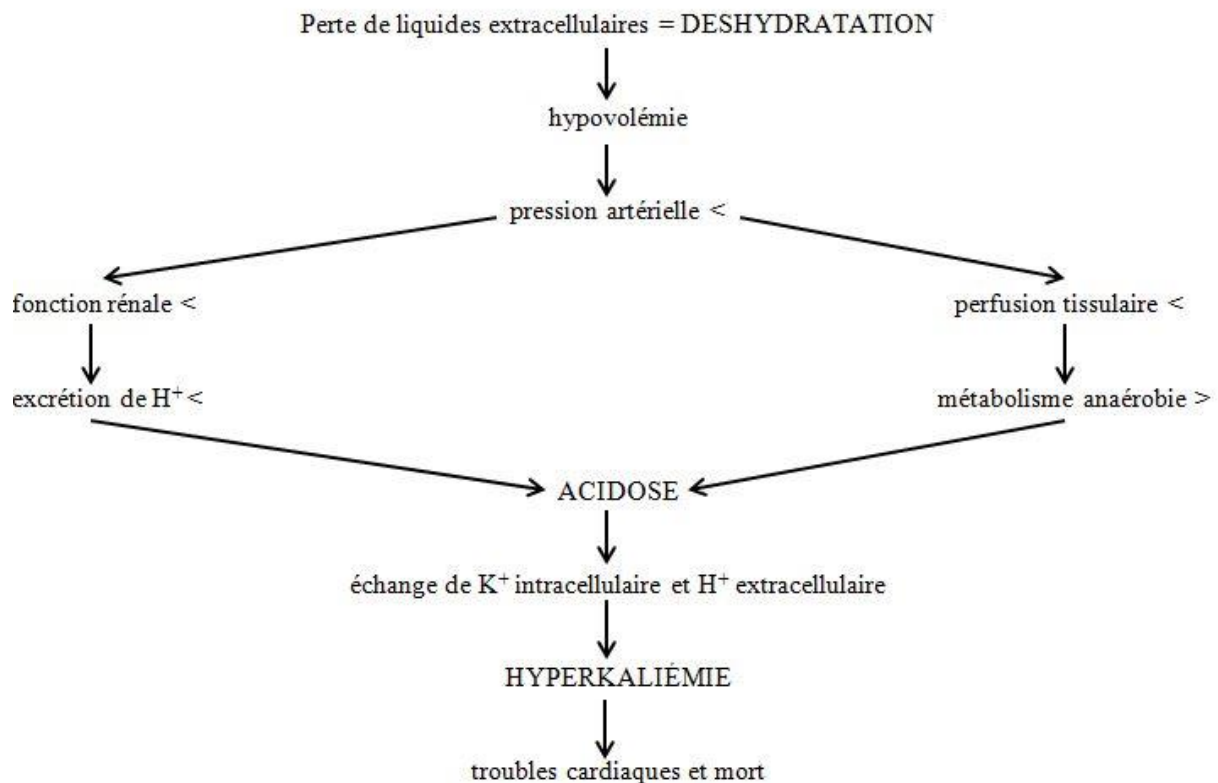
Outre la perte en eau, la diarrhée est aussi associée à la perte d'ions, intervenant dans les équilibres électrolytiques et acido-basique.

Le déséquilibre acido-basique est expliqué par plusieurs mécanismes (ROLLIN, 2002) :

- une perte directe d'ions bicarbonate dans les matières fécales a lieu ;
- la perte en eau, responsable d'une hypovolémie, est contrecarrée par une vasoconstriction. Certains tissus subissent alors une hypoxie, et la glycolyse anaérobie se mettant en place provoque la production d'acide L-lactique ;
- la vasoconstriction entraîne également une hypoperfusion rénale. Les ions H^+ sont alors excrétés en moins grande quantité ;
- la diarrhée est généralement associée à une perturbation de la flore. La flore anormale observée est responsable de la production d'acides organiques à courte chaîne et de D-lactates absorbés dans l'intestin. C'est l'un des mécanismes majeurs chez les veaux de moins de 7 jours, chez qui les taux sériques de lactates sont souvent plus importants que chez les veaux plus âgés, mais dont l'acidose est souvent moins sévère.

Concernant les autres ions, les modifications de concentration du sodium et du potassium sont les plus importantes à considérer. Le sodium est le principal ion contenu dans le milieu extracellulaire, ce qui débouche sur des pertes sodiques en même temps que les pertes hydriques lors de diarrhée. Le potassium voit lui-aussi ses concentrations changer. En effet, il est normalement dix fois plus concentré dans le milieu intracellulaire que dans le milieu extracellulaire. En cas d'acidose, les ions H^+ entrent dans les cellules. Pour conserver l'électroneutralité, ceci s'accompagne d'une sortie du K^+ vers le milieu extracellulaire. On observe donc une hyperkaliémie paradoxale et des pertes fécales, associées à un déficit intracellulaire (ROLLIN, 2002). L'ensemble de ces modifications hydro-électrolytiques et acido-basiques est repris par la Figure 8 ci-après :

Figure 8 : Schéma représentant les conséquences organiques des pertes en eau dues à la diarrhée et la relation entre les équilibres hydrique, électrolytique et acido-basiques, d'après ALBIN (2002)



Enfin, la diarrhée peut être associée à de l'hypoglycémie. Ceci s'explique par trois phénomènes, agissant de concert :

- une diminution de l'ingestion, par inappétence ou mise à la diète ;
- une augmentation du métabolisme de base inhérente à la maladie ;
- une diminution de l'absorption intestinale (ROLLIN, 2002).

L'hypoglycémie augmente encore l'atteinte générale du veau, aggravant encore l'affection.

Il sera donc essentiel de quantifier les pertes et de les corriger par une thérapeutique adaptée, en prenant en compte les pertes en eau mais aussi les différents déséquilibres ioniques et l'éventuelle hypoglycémie.

3.1.2. Quantification des désordres hydriques, électrolytiques et acido-basiques

L'évaluation des troubles associés à la diarrhée passe tout d'abord par un examen clinique complet. Celui-ci permet aussi de détecter d'éventuelles complications, telles qu'une généralisation de l'infection, avec des sites préférentiels en cas de septicémie (polyarthrite...).

3.1.2.1. Évaluation de la déshydratation

La quantification précise de la déshydratation est difficile en pratique. L'utilisation d'analyses au chevet du malade telles que la mesure de l'hématocrite ou des protéines totales est peu sensible, puisque les valeurs usuelles varient respectivement de 22 à 45 % et de 60 à 80 g/L. De plus, la valeur des protéines totales chez le veau nouveau-né est très dépendante du succès du transfert colostrale (ROLLIN, 2002).

Ainsi en pratique, cette évaluation reposera sur des observations cliniques. Plusieurs grilles permettent de quantifier sommairement le pourcentage de déshydratation, comme celle présentée par le Tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Guide clinique pour l'évaluation du pourcentage de déshydratation chez un veau nouveau-né atteint de gastro-entérite, d'après ROLLIN (2002)

Signes cliniques	Pourcentage de déshydratation
Anamnèse de diarrhée avec très peu de symptômes	5-6 %
Légère énophtalmie ; pli de peau persistant 3 à 5 secondes; appétit et réflexe de succion conservés	6-8 %
Enophtalmie franche ; pli de peau persistant jusqu'à 10 secondes ; muqueuses sèches et collantes; dépression ; perte du réflexe de succion	8-10 %
Enophtalmie sévère ; pli de peau persistant indéfiniment ; pouls faible, extrémités froides ; dépression intense voire coma	10-14 %

En fonction des signes présents chez le veau malade, le pourcentage de déshydratation sera déterminé et le traitement mis en place pourra être adapté, en particulier en ce qui concerne la voie d'administration de la fluidothérapie.

3.1.2.2. Évaluation de l'équilibre acido-basique

Là-encore, il existe des tables liant les observations cliniques au déficit en bases. La plus couramment utilisée est présentée par le Tableau 4 ci-après :

Tableau 4 : Table permettant d'obtenir un score d'acidose, et sa traduction en déficit en bases (BD) chez un veau de plus de 7 jours, d'après ROLLIN (2002)

Symptôme	Mode d'évaluation	Score	Interprétation
Réflexe de succion	Doigt dans la bouche	0	Forte succion
		1	Succion faible et coordonnée
		2	Mâchonnement désordonné
		3	Absent
Réflexe de menace (difficilement évaluable chez les jeunes veaux)	Mouvement rapide de la main vers l'œil	0	Réflexe instantané
		1	Réflexe lent et retardé
		2	Absent
Sensibilité tactile	Pincement de la peau dans la région lombaire	0	Spasme de la peau et tourne la tête vers le flanc
		1	Spasme de la peau seulement
		2	Aucune réponse
Capacité à se tenir debout	Stimuler le thorax avec les doigts	0	Station debout possible
		2	Incapable
Chaleur de la cavité buccale	Doigt dans la bouche	0	Normale
		1	Fraîche
		2	Froide
Chaleur des extrémités	Main autour des boulets	0	Normale
		1	Fraîche
		2	Froide
Total		0 à 2	Veau sain
		2 à 5	BD = 15 à 20 mmol/L
		6 à 8	BD = 20 à 25 mmol/L
		≥ 9	BD = 25 à 30 mmol/L

Cependant, nous avons vu que l'acidose chez les veaux de moins de 7 jours était moins marquée que chez les veaux plus âgés, malgré une concentration sérique en lactates plus importante. La relation entre la clinique et le déficit en base est donc différente, et appliquer les mêmes tables conduiraient à des erreurs d'estimation.

Une autre table a donc été écrite, plus simple d'utilisation et comportant des valeurs pour les veaux de moins de 7 jours, présentée par le Tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5 : Table d'évaluation simplifiée de l'acidose chez les veaux diarrhéiques de plus ou moins de 7 jours, d'après ROLLIN (2002)

Position	Réflexe de succion	Déficit en bases si veau ≤ 7 jours	Déficit en bases si veau > 7 jours
Debout	Fort et coordonné	0 mmol/L	5 mmol/L
Debout	Faible	5 mmol/L	10 mmol/L
Decubitus sterno-abdominal permanent		10 mmol/L	15 mmol/L
Decubitus latéral abandonné		10 mmol/L	20 mmol/L

Cependant, l'acidose n'est pas la seule atteinte à provoquer de tels signes nerveux. En effet, une déshydratation avancée, une endotoxémie ou une hypoglycémie peuvent induire en erreur le praticien, et le faire surestimer l'acidose du veau diarrhéique.

Des analyses au chevet du malade sont donc utiles pour une évaluation plus précise et plus sûre. Il existe pour cela des appareils plus ou moins complets, allant du pH-mètre ne donnant que le pH mais avec une bonne précision aux appareils donnant pH, gaz du sang voire L-lactates, pouvant renseigner sur la survenue d'une anoxie marquée. Bien que ces appareils représentent un certain coût à l'achat et à l'utilisation, ils permettent de connaître précisément les statuts électrolytique et acido-basique du veau diarrhéique. Ceci permet de déterminer les mécanismes responsables et d'adapter au mieux le traitement (PERIE, 2009).

3.1.2.3. Évaluation de l'équilibre électrolytique

Sur le plan clinique, il n'existe pas de signe pathognomonique d'un déséquilibre électrolytique. Celle-ci est responsable d'une bradycardie chez le veau, qui présente alors une fréquence cardiaque inférieure à 90 battements par minute. Si l'on atteint une concentration sérique de 8 mmol/L, une arythmie peut être notée, associée à une faiblesse musculaire et à de l'agitation. Cependant, la corrélation entre la bradycardie et l'hyperkaliémie est peu fiable, avec une faible valeur prédictive (ROLLIN, 2002).

L'existence d'analyseurs portables mesurant les concentrations sériques de Na^+ , K^+ et Cl^- a déjà été mentionnée. Là-encore, ils représentent un coût mais permettent d'obtenir une valeur précise, permettant d'adapter la thérapeutique liquidienne. Cela revêt une certaine importance puisque l'hyperkaliémie peut provoquer la mort de l'animal sans une correction immédiate.

3.1.2.4. Évaluation de l'hypoglycémie

Encore une fois, il n'existe pas de signe clinique pathognomonique de l'hypoglycémie. Cependant, certains signes cliniques en seront assez évocateurs : faiblesse, léthargie voire coma, crises convulsives, opisthotonos...

Pour confirmer la suspicion clinique et pour en mesurer l'importance, une analyse sanguine sera là encore nécessaire. Il existe pour cela des glucomètres portables. Une telle analyse permettra aussi de vérifier l'augmentation de glycémie au cours de la fluidothérapie (risque d'hyperglycémie par injection parentérale trop rapide d'une solution glucosée).

3.1.3. Mise en place de la fluidothérapie

Une fois l'évaluation des différents déséquilibres réalisée, il convient évidemment de les corriger. Ceci nécessite tout d'abord de déterminer les éléments à apporter (eau et ions) et la voie d'administration à privilégier.

3.1.3.1. Choix de la voie d'administration

D'une manière générale, la voie orale pourra être utilisée dans les cas où l'atteinte n'est pas trop sévère, afin que le veau puisse ingérer spontanément la solution réhydratante. Ainsi on considère qu'un veau déshydraté à moins de 8 % pourra être réhydraté oralement, mais plusieurs exceptions existent : il ne doit pas être en acidose sévère puisque le réflexe de succion doit être conservé, ni présenter d'ileus paralytique (ROLLIN, 2002). Il doit aussi pouvoir se tenir debout, ne pas être trop déprimé (ALBIN, 2002). De plus, s'il présente une bradycardie ou une arythmie, une fluidothérapie parentérale sera immédiatement mise en place (ROLLIN, 2002). De même, si la diarrhée est très profuse et même si le veau est encore alerte lors de l'examen clinique, une réhydratation parentérale est préférable puisque l'ingestion ne permettra pas un apport assez rapide et assez massif face à la perte fécale très importante. Enfin, un système de mesure de la température des extrémités (un thermistor) peut être utilisé en parallèle d'un thermomètre rectal. Ainsi, lorsque la température ambiante est supérieure à 10 °C, on considère que le débit cardiaque n'est plus que de 65 % par rapport au débit normal si les extrémités des membres sont à moins de 32 °C ou si la différence entre température rectale et température des extrémités dépasse 7 °C (ALBIN, 2002). Ce matériel de mesure est cependant peu souvent utilisé.

Lorsque le veau ne tète pas spontanément, il peut être envisagé de le sonder. Il faudra cependant garder à l'esprit que dans ce cas, le soluté tombera dans le rumen. Les solutés de réhydratation contenant du glucose ou du lactose fermenteront et des lactates seront produits, entraînant une acidose ruminale (ROLLIN, 2002).

3.1.3.2. Correction des différents déséquilibres

✓ L'eau : le premier rôle de la réhydratation, quelle qu'en soit la voie, est de rétablir l'équilibre hydrique, en augmentant les apports pour compenser les pertes. Cependant nous avons dit que la diarrhée entraîne certes la perte d'eau extracellulaire, mais aussi de sodium. Or si l'on n'apporte que de l'eau, le sodium extracellulaire déjà en défaut est encore dilué, et l'entrée d'eau dans les cellules déjà massive est encore aggravée. Le métabolisme et le fonctionnement de celles-ci peut s'en trouver compromis. La quantité d'eau extracellulaire diminuant encore, l'hypovolémie devient aussi plus sévère. Il est donc essentiel d'apporter des ions lors de la réhydratation. Nous verrons ensuite comment équilibrer ces apports. Concernant l'eau, les besoins journaliers d'un veau sont d'environ 50 mL/kg. Cependant, en cas de diarrhée, les pertes journalières peuvent atteindre 20 à 80 mL/kg voire jusqu'à 130 mL/kg.

Ainsi, pour connaître la quantité de soluté à administrer à un veau sur 24 heures, il est possible d'appliquer la formule suivante (d'après ALBIN (2002)) :

$$\text{Volume requis (L)} = \underset{(1)}{\% \text{ Déshydratation}} \times \underset{(2)}{\text{PV (kg)}} + \underset{(3)}{0,05 \times \text{PV} + 0,05 \text{ à } 0,13 \times \text{PV}}$$

Avec (1) : correction de la déshydratation
 (2) : apport du besoin d'entretien journalier (50 mL/kg/j)
 (3) : compensation des pertes fécales journalières (50 à 130 mL/kg/j)

Ainsi, pour un veau de 50 kg, déshydraté à 7 %, il faudra lui administrer entre 8,5 et 12,5 L de soluté. Les quantités à apporter sont donc très importantes, justifiant l'administration orale si

l'état du veau le permet. Dans ce cas, il faudra tout de même prendre en compte l'absorption partielle des fluides administrés *per os*, qui est de 60 à 80 %. Les 20 à 40 % non absorbés seront éliminés par les selles, dont le volume augmentera, sans cependant traduire un échec du traitement (ROLLIN, 2002).

En ce qui concerne la vitesse de perfusion, les auteurs ne sont pas unanimes. Pour les veaux très déshydratés (≥ 10 %), il semble qu'une perfusion lente (30 mL/kg/h) soit plus bénéfique. Pour les autres, il ne faudrait pas dépasser 30 à 80 mL/kg/h, certains auteurs préconisant de commencer par une administration rapide pendant une à quelques heures (50 à 80 mL/kg/h), puis redescendre à un débit plus faible (10 à 40 mL/kg/h) (ALBIN, 2002) ;

✓ Les électrolytes : le sodium, dosé en bonne quantité, permet de maintenir le fluide apporté dans le milieu extracellulaire, rendant la réhydratation efficace et permettant de rétablir la volémie. Le rétablissement de l'équilibre potassique est plus complexe. Tout d'abord, nous avons vu que l'hyperkaliémie peut causer de graves troubles cardiaques, avec bradycardie et arythmies. Dans ce cas, il semble toujours bénéfique de mettre en place une fluidothérapie parentérale immédiate. Ensuite, il faut garder à l'esprit que l'hyperkaliémie est associée à un déficit en potassium intracellulaire. Il faudra donc rectifier ce déséquilibre, en complétant le veau en K^+ (ROLLIN, 2002). Ainsi, la composition recommandée pour un soluté à administration parentérale semble être la suivante : $[Na^+] = 140-150$ mmol/L; $[Cl^-] < 100$ mmol/L et $[K^+] = 4-5$ mmol/L. Pour un soluté oral, les recommandations concernant la teneur en Na^+ ne sont pas univoques, allant de 2,5 à 90 mmol/L selon les auteurs. La concentration en potassium peut être supérieure à celle des solutés parentéraux, puisque le risque d'aggraver l'hyperkaliémie par une administration trop rapide est faible. On trouve ainsi des recommandations allant de 10 à 30 mmol/L. La voie parentérale reste envisageable, mais il faudra veiller à ne pas administrer le potassium à une vitesse supérieure à 0,5 mmol/kg/h, sous peine de voir survenir des désordres du rythme cardiaque pouvant aboutir au décès du veau (ALBIN, 2002).

La fluidothérapie devra également apporter du glucose, qui favorise l'entrée du potassium dans les cellules, en stimulant la pompe Na-K. Enfin, puisque le potassium sort des cellules à cause de l'entrée des ions H^+ du fait de l'acidose, il faudra bien évidemment corriger celle-ci (ROLLIN, 2002) ;

✓ L'équilibre acidobasique : nous avons déjà étudié comment évaluer le degré d'acidose d'un veau sur le plan clinique. Les tables décrites permettent de conclure sur le déficit en bases (BD) dont souffre le veau.

Une formule simple permet d'en déduire le besoin en bicarbonates, exprimé en mmole :

$$\text{Besoin en } HCO_3^- \text{ (mmole)} = BD \times PV \text{ (kg)} \times 0,6$$

PV correspond au poids vif du veau, exprimé en kilogrammes, et le coefficient 0,6 correspond au volume de distribution du bicarbonate chez le veau.

Une fois la quantité déterminée, il est possible d'administrer une solution de bicarbonate au veau, permettant un rétablissement immédiat de l'équilibre acido-basique. L'administration doit se faire par voie parentérale, avec un soluté contenant 40 à 100 mmol/L. L'administration orale est à proscrire puisqu'elle provoque une augmentation durable du pH de la caillette. Or le caractère acide du milieu stomacal constitue la première barrière contre les germes pathogènes. En effet, lorsque le pH y est suffisamment bas, rares sont les ETEC capables de produire des pili K99, et la production d'entérotoxines thermostables est aussi freinée. La multiplication des salmonelles se trouve également stoppée (ROLLIN, 2002).

Bien que le bicarbonate soit une molécule bon marché, d'autres substances peuvent être administrées, puisqu'il existe différentes molécules alcalinisantes après métabolisation. C'est par exemple le cas des L-lactates, métabolisés par le foie. Cependant, les solutions commerciales contiennent à la fois du L et du D-lactate, ce dernier risquant d'aggraver l'acidose lactique observée chez les veaux de moins de 7 jours. De plus, la métabolisation nécessite que le foie fonctionne correctement, et donc que sa perfusion soit rétablie, sans quoi une telle solution deviendrait acidifiante. Il en est de même pour le propionate, lui aussi exclusivement métabolisé par le foie. L'utilisation d'acétate permet de contourner ce problème, puisqu'il est métabolisé par de nombreux tissus (cœur, muscles squelettiques, tissu graisseux et foie). Seul un état de choc peut donc entraver sa métabolisation. Cependant, chez les veaux diarrhéiques, L-lactates et acétate présentent un pouvoir alcalinisant moins important que celui des bicarbonates. Leur rapidité d'action est également moins importante, puisque l'étape de métabolisation est nécessaire. Ces molécules présentent par contre l'intérêt de pouvoir être administrées par voie orale, puisqu'elles ne perturbent pas la formation du caillot de lait dans la caillette. Il est à noter aussi l'intérêt de l'acétate et du propionate, qui stimulent fortement l'absorption de sodium et d'eau dans le tube digestif, participant donc à la réhydratation. Enfin, il est aussi possible d'administrer du gluconate ou du citrate par voie orale exclusivement, leur métabolisation étant très faible par voie parentérale. Bien qu'il ait un pouvoir alcalinisant égal à celui des bicarbonates, l'action de chélation du calcium exercée par le citrate en limite l'utilisation, puisqu'il entrave gravement la digestion du lait dans la caillette. Il conviendra donc d'adapter la molécule utilisée et sa voie d'administration à la sévérité de l'acidose et donc à l'état clinique du veau (ROLLIN, 2002). Ainsi, chez un veau très déshydraté, on préférera une administration parentérale de bicarbonates, tandis que l'on administrera *per os* des bases métabolisables à un veau moins sévèrement atteint et chez qui une réhydratation orale suffit (ALBIN, 2002) ;

✓ L'hypoglycémie : outre son intérêt lors d'hyperkaliémie, l'apport de glucose est aussi très bénéfique chez les veaux présentant une acidose sévère, ou chez ceux dont la maldigestion-malabsorption prolongée a entraîné un amaigrissement important. Nous avons vu le grand intérêt du glucose dans l'absorption intestinale du sodium. Pour cela, sa concentration optimale dans un soluté oral serait de 110 à 140 mmol/L, sans jamais excéder 260 mmol/L, sous peine de créer un appel d'eau vers la lumière intestinale. Il est aussi intéressant de respecter un ratio glucose-sodium d'environ 2 pour 1, optimal pour l'absorption digestive, sans pour autant jouer un rôle énergétique suffisant chez un veau anorexique (ALBIN, 2002). Dans ce dernier cas, il peut même être intéressant de transfuser le veau. On peut aussi lui apporter du colostrum, complémenté avec des acides aminés, du glucose voire des lipides (plus coûteux) par voie parentérale (ROLLIN, 2002). Il faudra cependant veiller à ne pas administrer trop rapidement le glucose, bien que les normes varient beaucoup d'un auteur à un autre (< 100 à 600 mg/kg/h) (ALBIN, 2002).

Fort de la compréhension de ces différents équilibres et de leurs relations, les solutés de réhydratation ont beaucoup évolué au cours du temps. Du sodium a été incorporé pour rendre efficace la réhydratation extracellulaire. Du glucose a aussi été intégré, d'abord uniquement pour favoriser l'absorption intestinale du sodium, puis des solutés hypertoniques ont été produits, avec une quantité de glucose supérieure. L'objectif de tels solutés est de diminuer la perte de poids du veau grâce à cet apport énergétique, principalement lorsque l'alimentation lactée est stoppée. Il est parfois remplacé par du lactose, pour limiter le caractère hypertonique de telles solutions. Enfin, il est parfois remplacé par de la glutamine, molécule présentant de nombreux avantages. Elle est oxydée trois à quatre fois plus vite que le glucose, rendant l'énergie disponible plus rapidement. Ceci présente en particulier un intérêt pour les

cellules à multiplication rapide, comme les entérocytes. Elle réduit aussi la perméabilité de l'intestin aux germes, et elle améliore le métabolisme des lymphocytes et macrophages, augmentant la protection contre les agents pathogènes (ROLLIN, 2002).

La fluidothérapie est donc un traitement complexe, à adapter au cas de chaque veau (voie et soluté), mais c'est l'élément indispensable à la survie et au rétablissement du veau.

3.2. Autres traitements symptomatiques

Bien que la fluidothérapie représente le traitement le plus essentiel pour un veau nouveau-né diarrhéique, on peut vouloir mettre en place des traitements adjuvants, pour soutenir ou rétablir le fonctionnement du tube digestif en particulier.

Pour cela, plusieurs classes de médicaments sont fréquemment rencontrées :

- Agents absorbants et protecteurs de la muqueuse gastro-intestinale : ces agents, tels que le kaolin ou la pectine, ont la capacité de fixer les particules et les toxines dans le tube digestif. Ils tapissent la muqueuse digestive, lui apportant une certaine protection. Les fèces sont aussi moins liquides. Cependant, les pertes ne sont pas modifiées, ce qui ne permet pas de freiner la déshydratation ou d'empêcher les désordres électrolytiques. Ils jouent donc un rôle secondaire ;
- Agents antisécrétoires : les principaux agents antisécrétoires utilisés en pratique sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). En effet, nous avons vu que l'inflammation provoquée par les agents pathogènes au niveau du tube digestif augmente la perméabilité, avec passage vers la lumière d'ions bicarbonate et chlorure et d'eau, aggravant la diarrhée. Les AINS permettent de réduire cet effet en inhibant la synthèse des prostaglandines, mais aussi en diminuant les sécrétions dues aux entérotoxines (ALBIN, 2002). Cependant, du fait de leur potentielle toxicité rénale, leur utilisation doit être particulièrement réfléchie. La notice de certains de ces produits stipule qu'ils ne doivent pas être administrés aux veaux de moins d'une semaine présentant de la diarrhée. De plus, des précautions particulières sont à prendre. En particulier, il est précisé que leur utilisation doit être évitée chez les animaux sévèrement déshydratés, hypovolémiques ou présentant une hypotension nécessitant une réhydratation parentérale. En effet, il est admis chez l'Homme et le chat en particulier que dans ces conditions, le risque d'insuffisance rénale aiguë cortico-induite est plus élevé (SPARKES *et al.*, 2010). Enfin, ces molécules sont impliquées dans la formation d'ulcères gastroduodénaux, ceci suivant plusieurs mécanismes. L'interférence avec l'action des facteurs de croissance, la diminution de l'angiogenèse dans le lit de l'ulcère et des proliférations épithéliales en ses marges et le ralentissement de la maturation du tissu de granulation entraînent un ralentissement de la cicatrisation de ces zones (SCHMASSMANN, 1998) ;
- Agents modificateurs de la motilité intestinale : en cas de diarrhée, il est commun de vouloir ralentir le transit digestif. Cependant, dans ce cas, la diarrhée est un phénomène d'autoprotection (ROLLIN, 2002). En effet, l'augmentation de la quantité et de la fréquence d'émission de selles permet de limiter l'adhérence et la prolifération des germes dans le tube digestif. Ainsi, l'utilisation de molécules réduisant la motilité intestinale est contre-indiquée en cas de diarrhée. En effet, ceci risque d'entraîner l'accumulation de germes pathogènes et de toxines dans la lumière digestive, augmentant l'appel d'eau, aggravant donc la diarrhée et la déshydratation du veau (ALBIN, 2002).

On peut aussi noter quelques traitements moins couramment utilisés, mais qui peuvent jouer un rôle parallèle à la fluidothérapie dans le rétablissement des équilibres électrolytiques et acidobasiques. C'est par exemple le cas de l'insuline. Injecter 1 UI/kg d'insuline rapide permet de stimuler l'entrée du potassium dans les cellules, corrigeant ainsi le déficit intracellulaire et l'hyperkaliémie. Son administration nécessite cependant la perfusion d'un litre de sérum glucosé à 10 %, au risque de causer ou d'aggraver une hypoglycémie déjà présente chez un veau affaibli. On peut mentionner aussi l'utilisation possible d'hypolactatémians, tels que le dichloroacétate. À 50 mg/kg deux fois à 12 heures d'intervalle et dans un litre de soluté salé isotonique, il permettrait de ralentir la glycolyse et favoriserait donc l'utilisation tissulaire des L-lactates. Son intérêt chez le veau nouveau-né diarrhéique n'est cependant pas encore validé (ALBIN, 2002).

Bien que les molécules de soutien utilisables soient nombreuses, il faut surtout retenir ici que la fluidothérapie est le principal traitement à mettre en place chez un veau nouveau-né présentant une gastro-entérite. Son but est de rétablir les équilibres hydro-électrolytiques et acido-basiques, ainsi que de corriger la glycémie.

Pour une meilleure efficacité, il peut paraître intéressant de mettre en place en parallèle un traitement étiologique, lorsque l'agent pathogène impliqué est identifié. Cette démarche sera discutée dans la partie suivante.

4. Moyens de lutte "curatifs" spécifiques

4.1. Un diagnostic étiologique difficile à établir

Le diagnostic étiologique est difficile à établir pour plusieurs raisons.

4.1.1. De nombreux agents impliqués

Les agents pathogènes impliqués dans les diarrhées/septicémies sont variés, comme nous l'avons déjà vu. Si le rôle des rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium*, *E. coli* et salmonelles semble aujourd'hui bien établi, de nombreux autres agents pathogènes pourraient intervenir, seuls ou en association. De-même, les facteurs environnementaux et liés à la conduite d'élevage jouent un rôle déterminant dans l'expression de la maladie.

Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique et l'activité des molécules utilisées dans la lutte contre *Cryptosporidium parvum* est encore souvent discutée. Le seul traitement étiologique possible concerne les bactéries, mais sa mise en place n'est pas sans risque, pour le veau comme pour l'élevage. Ce point crucial sera développé ensuite.

Ainsi, pour espérer mettre en place un traitement spécifique efficace, il est essentiel d'avoir un diagnostic étiologique face à un veau en diarrhée/septicémie.

4.1.2. Absence de signe clinique pathognomonique

Dans notre étude des différents agents pathogènes incriminés, nous avons souligné le peu de spécificité des signes cliniques observés. En effet, la diarrhée peut s'accompagner d'une atteinte de l'état général dans de nombreux cas. Elle peut être directement due à l'agent en cause, mais aussi aux déséquilibres hydro-électrolytiques et acidobasiques engendrés par la diarrhée.

Les signes de septicémie sont également très peu spécifiques. ALDRIDGE (1993) rapporte cependant qu'une atteinte multi-organique est observée chez plus de la moitié des veaux septicémiques prélevés, et sera donc évocatrice d'une affection septicémique. Sur le plan épidémio-clinique, plusieurs éléments sont statistiquement associés à la présence d'une septicémie chez les veaux diarrhéiques. C'est par exemple ce qui s'observe chez les veaux âgés de plus de 5 jours, tout comme chez ceux en décubitus ou présentant un faible réflexe de succion (LOFSTEDT *et al.*, 1999).

Ainsi aucun signe clinique ne permet de déterminer avec certitude l'agent responsable du tableau clinique observé. Celui-ci ne permet que de hiérarchiser les principales hypothèses.

4.1.3. Tests diagnostiques disponibles en pratique

Il existe plusieurs kits de détection rapide des principaux agents pathogènes rencontrés lors des diarrhées néo-natales.

Plusieurs études s'attachent à comparer l'efficacité de ces kits en comparaison avec les méthodes de référence mises en place en laboratoire. Ainsi, DIEGUEZ *et al.* (2012) ont montré que l'immunochromatographie sur bande peut offrir des résultats satisfaisants. En effet, le kit qu'ils ont testé bénéficie d'une sensibilité et d'une spécificité comparées à celles de laboratoire supérieures à 90 % pour les rotavirus, *Cryptosporidium parvum* et *E. coli* F5. Les résultats étaient moins fiables pour les coronavirus, avec une sensibilité d'environ 85 % et une spécificité proche de 80 %. Il faut également rester prudent quant aux sensibilité et spécificité annoncées par les fabricants de ces kits. En effet, une étude suisse a mis en évidence une sensibilité de 57 % pour les rotavirus en utilisant ce même type de test rapide. Pourtant, le producteur annonçait une sensibilité de 97,5 %. La spécificité obtenue était comparable à celle annoncée (JEZEK *et al.*, 2006). D'autres tests basés sur le même principe donnent des résultats bien différents lorsqu'ils sont comparés à l'utilisation de la PCR en

laboratoire. Ainsi, les corrélations observées par CHO *et al.* (2012) sont très faibles pour le coronavirus, modérées pour le rotavirus et presque parfaites pour *E. coli* F5 et *Cryptosporidium parvum*.

Ainsi, bien que leurs sensibilités et spécificités soient souvent moins bonnes que celles des méthodes de laboratoire, en particulier pour les coronavirus, ces tests présentent l'intérêt d'orienter le clinicien de manière facile et précoce au chevet du malade. Ceci est essentiel pour la mise en place rapide d'un traitement adapté. Leur résultat est aussi facilement lisible par l'éleveur, qui comprend alors mieux les recommandations de son vétérinaire en matière de traitement ou de prévention. Leur application peut ainsi s'en trouver facilitée.

Les cas de septicémie sont eux aussi difficiles à diagnostiquer. Plusieurs tests d'orientation sont possibles, tels que la réalisation d'une numération formule sanguine ou d'un dosage de la créatinine et du fibrinogène plasmatiques (ALDRIDGE *et al.*, 1993 ; LOFSTEDT *et al.*, 1999). Cependant, établir un diagnostic de certitude nécessite la réalisation d'examens de laboratoire, par hémoculture. Ceci implique la réalisation d'un prélèvement sanguin stérile et l'acheminement au laboratoire doit se faire dans les meilleurs délais. De plus, un germe ne sera mis en évidence que dans 20 à 30 % des cas. Il existe un test rapide basé sur la détection d'une activité catalase dans les urines des veaux infectés (PERIE, 2009). En effet, dès 48 heures de bactériémie, une bactériurie est aussi mise en évidence dans 27 % des cas. En comparaison avec une uroculture, ce test présente une sensibilité de 86,6 % et une spécificité de 88,8 %. La comparaison avec une hémoculture donne une sensibilité de 80 % et une spécificité de 92,8 % (RABOISSON *et al.*, 2010). Ces résultats sont donc modérément corrélés à ceux obtenus par culture bactérienne. Cependant, face à la rapidité de ce test et à son faible coût (environ 3 euro par kit (PERIE, 2009)), il présente un réel intérêt en première intention sur un veau chez qui une septicémie est suspectée. Reste alors à déterminer le germe en cause pour mettre en place un traitement étiologique adapté.

4.1.4. Agent pathogène en cause

Si des tests permettent de mettre en évidence la présence de certains agents pathogènes, ceci n'implique pas nécessairement que ceux-ci soient responsables de la diarrhée. C'est en 1881 que Robert Koch énonça ses quatre postulats, qui précisent les étapes nécessaires pour affirmer qu'il existe une relation causale entre un agent pathogène et la maladie rencontrée. Dans le cas des diarrhées néonatales, ces postulats ne sont pas tous respectés (LEPOIVRE, 2003) :

- l'agent doit être présent chez les individus malades et absents chez les individus sains : nous avons vu que pour l'ensemble des principaux agents pathogènes rencontrés, il existe des porteurs sains, veaux ou adultes. C'est par exemple le cas d'*E. coli*, germe commensal qui est donc rencontré chez de nombreux veaux sains comme nous l'avons vu. Dans ce cas, seule la présence de certains facteurs de virulence permettra de différencier les *E. coli* pathogènes des colibacilles de la flore intestinale ;

- l'agent doit pouvoir être isolé d'individus malades et cultivé : nous avons vu que certains veaux présentaient de la diarrhée avec des causes non infectieuses, mais par exemple liées à des troubles alimentaires. C'est par exemple le cas des veaux dit « buveurs ruminiaux ». En effet, s'ils boivent trop vite ou que le mode de distribution du lait n'est pas adapté, la gouttière œsophagienne se ferme mal et le lait passe alors dans le rumen. Les fermentations qu'il y subit aboutissent à la formation de D-lactate. L'acidose ruminale ainsi créée prédispose le veau à la diarrhée par malabsorption (NAYLOR, 2005). Il est possible qu'aucun agent pathogène ne puisse être isolé dans un tel cas ;

- lorsque l'agent en culture pure est inoculé à un individu sain, il doit induire les symptômes caractéristiques de la maladie : certains agents pathogènes particulièrement virulents respectent cette étape. Cependant, nous avons vu que l'apparition de la diarrhée était liée à de nombreux facteurs de risques. Ainsi, si un veau ayant subi un défaut de transfert colostrale déclenche une diarrhée où seul un *E. coli* est isolé, l'inoculation de ce dernier à un veau sain ayant un bon taux sérique d'Ig colostrales ne provoquera pas forcément les mêmes symptômes, en particulier si cet *E. coli* ne présente pas de facteur de virulence particulier ;
- on doit pouvoir ré-isoler l'agent initial des individus infectés expérimentalement.

Ainsi même les analyses de laboratoire les plus fiables ne permettent pas souvent de conclure sur l'étiologie de la diarrhée, du fait de son caractère multifactoriel. Le diagnostic nécessite donc une analyse globale de la situation, en prenant en compte à la fois les agents pathogènes et les facteurs de risques identifiables dans l'élevage concerné.

4.1.5. Associations d'agents pathogènes impliqués dans la diarrhée/septicémie

De nombreuses études ont mis en évidence l'implication souvent conjointe de plusieurs agents pathogènes. L'étude menée par BOURGOIN (1996) a mis en évidence presque toutes les associations possibles, avec des prévalences variables comme le montre le Tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6 : Principaux agents pathogènes rencontrés et leurs associations dans les fèces de 139 veaux diarrhéiques testés par BOURGOIN (1996) et 44 testés par BEJAN (2008), pour qui les informations manquantes sont notées par un « - »

Agent(s) pathogène(s) isolé(s)	Prévalence	
	D'après BOURGOIN (1996)	D'après BEJAN <i>et al.</i> (2008)
Aucun des quatre agents recherchés	28 (20,1 %)	-
<i>Cryptosporidium</i> seul	33 (23,7 %)	6 (13,6 %)
<i>E. coli</i> F5 seul	28 (20,1 %)	0
Rotavirus seul	6 (4,3 %)	4 (9,1 %)
Coronavirus seul	7 (5 %)	1 (2,3 %)
<i>Cryptosporidium</i> + rotavirus	16 (11,5 %)	1 (2,3 %)
<i>Cryptosporidium</i> + coronavirus	4 (2,9 %)	1 (2,3 %)
<i>Cryptosporidium</i> + <i>E. coli</i> F5	3 (2,2 %)	-
Rotavirus + coronavirus	5 (3,6 %)	-
Rotavirus + <i>E. coli</i> F5	4 (2,9 %)	-
<i>Cryptosporidium</i> + rotavirus + coronavirus	1 (0,7 %)	2 (4,5 %)
<i>Cryptosporidium</i> + rotavirus + <i>E. coli</i> F5	4 (2,9 %)	-

On peut remarquer qu'environ 20 % des veaux diarrhéiques ne sont positifs pour aucun des quatre agents testés par BOURGOIN (1996). Cependant d'autres agents pathogènes comme des coccidies ou des salmonelles ont généralement pu être mis en évidence. Plusieurs agents pathogènes ont pu être détectés chez presque 50 % des veaux dans cette même étude.

Les associations sont donc fréquentes, la part de chaque agent dans l'expression clinique étant peu claire. Il semble cependant que la présence de *Cryptosporidium* soit associée à une

morbidité plus importante (BOURGOIN, 1996). Les traitements non spécifiques jouent dans ce cas un rôle primordial pour assurer la survie des veaux malades.

L'identification de l'agent impliqué est donc compliquée sur le terrain, et nécessite souvent d'avoir recours à des analyses de laboratoire.

4.2. Utilisation d'antibiotiques et risques associés

4.2.1. Justification de l'utilisation d'antibiotiques lors de diarrhée/septicémie chez le veau nouveau-né et mode d'action

Nous avons vu que plusieurs bactéries peuvent être responsables de diarrhée chez le veau nouveau-né. Il est donc normal d'envisager un traitement antibiotique dans ces cas. De plus, lorsque la diarrhée est d'origine virale ou parasitaire, la perturbation des équilibres biochimiques, la modification de la motilité intestinale et la destruction de la barrière digestive prédisposent le veau à une surinfection bactérienne. Ainsi, CONSTABLE (2004) rapporte que 30 % des veaux diarrhéiques présentant une atteinte systémique sont bactériémiques, le germe le plus souvent en cause étant *E. coli*. Un traitement antibiotique doit alors être envisagé chez ces veaux, afin de traiter la prolifération de ces bactéries aux niveaux digestif et sanguin.

Cependant un tel traitement n'est pas sans risque, comme nous le verrons dans la partie suivante. Il convient donc de choisir au mieux la molécule antibiotique et la posologie, afin de s'assurer de l'efficacité d'un tel traitement.

Rappelons pour cela les principaux modes d'action des molécules antibactériennes. Les mécanismes impliquent une action sur des structures bactériennes spécifiques :

- la paroi bactérienne. Certains antibiotiques bloquent la synthèse de la paroi bactérienne. Par exemple, les pénicillines agissent par inhibition de la biosynthèse de la muréine, l'un des constituants pariétaux (60 % de la paroi des Gram + et 10 % de la paroi des Gram -). Ceci implique qu'ils se lient au préalable à un récepteur spécifique, présent sur la membrane bactérienne. Ainsi lors de la multiplication, la nouvelle bactérie formée est dépourvue de paroi et meurt donc rapidement en milieu hypotonique. L'action de tels antibiotiques est dite bactéricide, puisque le nombre de germes tend à diminuer en présence de la molécule anti-infectieuse ;

- la membrane cellulaire. En se fixant sur la membrane cellulaire bactérienne, certains antibiotiques sont à l'origine d'une désorganisation structurale et/ou fonctionnelle de celle-ci, s'accompagnant par exemple de graves troubles d'échanges ioniques avec le milieu extérieur. Les modifications osmotiques ainsi engendrées provoquent la destruction de la bactérie. L'action est donc là encore bactéricide ;

- les ribosomes. Certaines familles d'antibiotiques pénètrent dans les bactéries et se fixent sur les ribosomes, bloquant leur fonctionnement. Aux concentrations d'antibiotiques utilisées, l'inhibition de la synthèse protéique associée provoque généralement une bactériostase. Ainsi, le nombre de germes est stable ou présente une croissance inférieure à celle observée en l'absence d'antibiotique ;

- l'ADN. En inhibant la réplication ou la transduction de l'ADN bactérien, certaines molécules antibiotiques bloquent la synthèse protéique et la multiplication bactérienne, et ont donc un effet bactériostatique ;

- l'acide folique. Certains antibiotiques inhibent la synthèse d'acide folique, indispensable à la synthèse de certains acides nucléiques et acides aminés. Ils auront donc une action bactériostatique sur les germes ne pouvant utiliser l'acide folique exogène.

Le Tableau 7 ci-après donne une classification des principales familles d'antibiotiques par mécanisme d'action.

Tableau 7 : Mode d'action des principales familles d'antibiotiques d'usage vétérinaire, avec en gras les principales familles d'intérêt face à un cas de diarrhée néonatale, d'après ENRIQUEZ (2002)

Site d'action	Familles et molécules antibiotiques
Paroi bactérienne	Pénicillines (pénicilline G, ampicilline, amoxycilline...) Céphalosporines (céfalexine, céfoxitine, céftiofur, céfquinome...) Fosfomycine
Membrane bactérienne	Antibiotiques polypeptidiques (colistine, polymyxines, bacitracine, tyrothricine)
Ribosome bactérien	Aminosides (streptomycine, néomycine, kanamycine, gentamicine...) Macrolides (spiramycine, tylosine, érythromycine...) et apparentés (lincosamides) Tétracyclines (tétracycline, oxytétracycline, doxycycline...) Phénicolés (chloramphénicol, florfénicol...) Tiamuline
ADN bactérien	Rifamycines (rifampicine...) Novobiocine Quinolones et fluoroquinolones (acide nalidixique, enrofloxacin, marbofloxacin...) Nitrofuranes
Acide folique	Sulfamides Triméthoprim

Le choix de la voie d'administration est également important. En effet, la distribution de chaque molécule antimicrobienne dépend de ses propriétés pharmacocinétiques. Ainsi, il semble évident qu'une molécule présentant une faible résorption digestive administrée *per os* permettra une action locale sur les germes sensibles. C'est par exemple le cas de la colistine, largement utilisée par cette voie chez les veaux diarrhéiques, ou encore des aminosides. Cependant, la voie parentérale reste importante. Elle permet tout d'abord de traiter ou de prévenir la dissémination sanguine des germes sensibles. Mais de nombreuses molécules présentent un cycle entérohépatique. Celles-ci, excrétées par voie biliaire sans transformation, sont de nouveau relarguées dans l'intestin sous leur forme active, permettant d'atteindre les bactéries digestives sensibles. C'est par exemple le cas des tétracyclines, ou de certaines pénicillines et quinolones de troisième génération (ENRIQUEZ, 2002).

4.2.2. Risques associés à cette utilisation

4.2.2.1. Risques toxique et technologique

Plusieurs risques sont associés à l'utilisation d'antibiotiques. Comme pour tout médicament, ces molécules présentent une certaine toxicité, propre à chaque molécule, chaque posologie et chaque individu traité. Dans le cadre d'une administration à des animaux de rente, le consommateur de denrées alimentaires d'origine animale peut lui aussi être exposé. Enfin, pour certains procédés technologiques faisant appel à des processus de fermentation, qui impliquent donc des bactéries, la présence de molécules antibiotiques dans les matières premières peuvent empêcher leur transformation industrielle. Ces trois risques doivent donc être pris en compte :

✓ Toxicité pour le sujet traité : ces effets sont rares lorsque la posologie décrite dans le dossier d'AMM est respectée. On peut cependant noter quelques réactions allergiques (avec les β -lactamines par exemple), ainsi que des toxicités d'organes pour certaines molécules (néphrotoxicité de certaines céphalosporines, aminosides, sulfamides ; toxicité nerveuse pour les quinolones et certains aminosides dont ototoxicité ; chondrotoxicité des quinolones...). Certaines précautions sont donc à prendre lors de l'utilisation d'antimicrobiens, la principale étant de garantir à l'animal un accès permanent à de l'eau (ENRIQUEZ, 2002). Il faudra porter une attention particulière aux animaux déshydratés, ce traitement devant impérativement être accompagné de mesures visant à rétablir l'état d'hydratation. L'un des autres risques pour le sujet traité a déjà été mentionné. Il s'agit de la perturbation de la flore digestive. En effet, les bactéries de la flore ne présentant souvent que peu ou pas de résistance acquise (notion développée ensuite), un traitement antibiotique par voie orale risque de déséquilibrer cette flore. Certaines molécules administrées par voie parentérale peuvent avoir ce même effet lorsqu'elles subissent un cycle entérohépatique sans inactivation. C'est particulièrement le cas lors de l'utilisation des tétracyclines (ENRIQUEZ, 2002). La destruction de cette flore provoque des troubles digestifs graves. De plus, la libération des sites d'attachement au niveau de la muqueuse digestive peut permettre l'adhésion et le développement de germes pathogènes résistants aux antibiotiques. Nous avons déjà mentionné que ce phénomène peut favoriser la survenue d'une salmonellose. Le veau est aussi sensible à la candidose, pouvant justifier l'utilisation parallèle d'une molécule antifongique ;

✓ Toxicité pour le consommateur de denrées alimentaires d'origine animale : l'administration orale ou parentérale d'une molécule antimicrobienne à un animal entraîne son accumulation dans l'organisme, en concentration variable selon la molécule et l'organe considéré. L'organisme métabolise progressivement ces substances, mais la durée de ces processus dépend là encore beaucoup de la molécule impliquée. Ainsi, la consommation d'un animal traité peut entraîner l'ingestion de résidus antibiotiques par le consommateur humain. Tout comme chez l'animal, ces substances peuvent causer une destruction de la flore commensale, qui se trouve alors perturbée et dans laquelle certaines populations bactériennes pathogènes peuvent se développer. Un risque allergique est aussi rencontré. En effet, si certaines molécules sont particulièrement allergisantes lors du traitement de l'animal, son ingestion par le consommateur l'expose lui aussi à ce risque. Pour réduire ces risques, une réglementation stricte a été mise en place concernant le traitement des animaux producteurs de denrées alimentaires. Ainsi, les antibiotiques vétérinaires sont classés en Annexe I du règlement (CEE) 2377/90 du conseil du 26 Juin 1990 (REGLEMENT CEE, 1990). Ceci implique que des limites maximales de résidus de médicament vétérinaire dans les aliments d'origine animale (LMR) sont fixées pour chaque molécule et pour chaque espèce cible.

L'étude de la pharmacocinétique des molécules permet de connaître leur cinétique de décroissance dans les différents organes de l'animal traité. Un temps d'attente minimal est ainsi calculé, et représente le temps minimal imposé entre la dernière administration du médicament à l'animal aux posologies prévues par l'AMM et la mise sur le marché des denrées alimentaires produites en vue de leur consommation humaine. Le respect de ce temps d'attente garantit le respect de la LMR (CHAUVIN *et al.*, 2006). Concernant les produits animaux, il semble que les non respects de ces temps d'attente soient rares. Ce risque pour le consommateur semble donc assez bien maîtrisé (CHATELLET, 2007) ;

✓ Risque d'échec des procédés technologiques : certaines transformations des matières premières d'origine animale reposent sur des processus fermentaires, telle que la fabrication de yaourt ou de fromage. Les bactéries lactiques impliquées sont sensibles aux antibiotiques. Ainsi, si les taux de résidus sont trop importants, leur croissance sera inhibée et la transformation du lait sera impossible. Le respect des LMR permet de maîtriser ce risque et des tests systématiques sont réalisés sur le lait. En effet, les laiteries recherchent les taux de résidus dans les laits qu'elles collectent, afin de s'assurer que les temps d'attente aient bien été respectés par les producteurs qui les fournissent. Si le lait d'un producteur dépasse la LMR prévue, le lait n'est pas incorporé au mélange qui sera transformé et l'éleveur en cause sera pénalisé (CHATELLET, 2007).

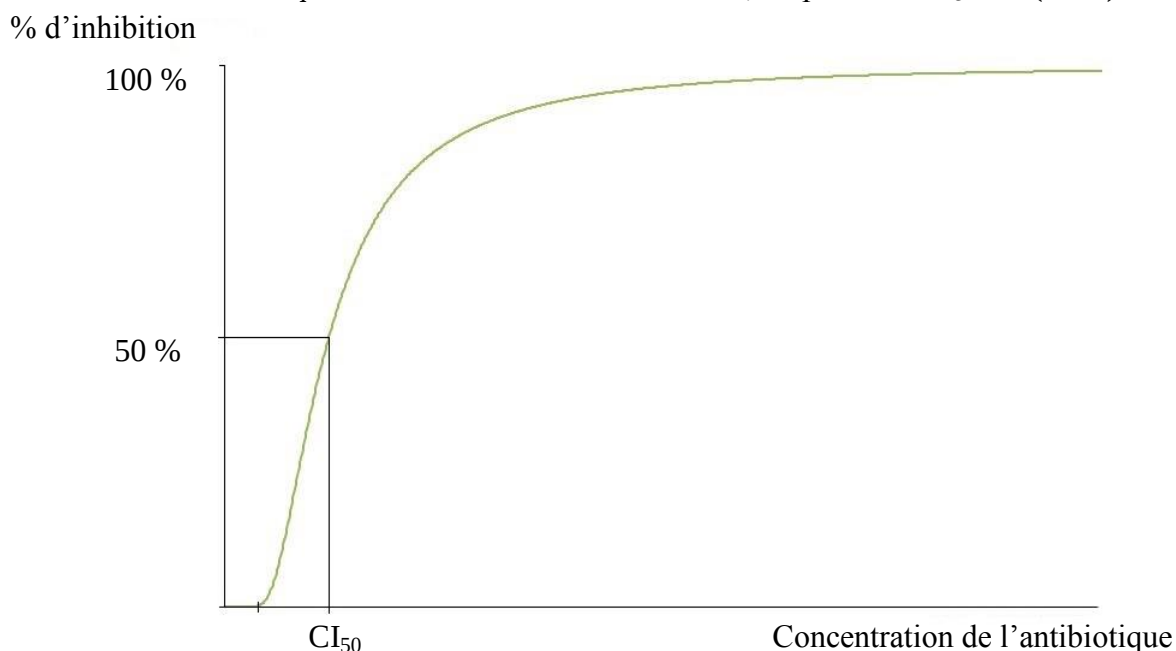
Les molécules antibiotiques présentent donc une certaine toxicité qu'il faudra prendre en compte, qu'elle concerne l'animal traité ou l'Homme. Les mécanismes de transformation des matières premières d'origine animale peuvent aussi se trouver stoppés par la présence de résidus antibiotiques en quantité trop importante. Mais il existe un risque encore plus grand lié à un tel traitement, puisqu'il peut concerner tout un cheptel, une espèce, voire se transmettre d'une espèce à une autre : l'antibiorésistance !

4.2.2.2. Définition et détermination de l'antibiorésistance

Face au risque d'apparition de bactéries résistantes, divers programmes de surveillance ont été mis en place. Leur but est d'évaluer ce risque et les conséquences de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux. Cela passe par l'obtention de données de prévalence des bactéries pathogènes chez l'animal et chez l'Homme, de leur pourcentage de résistance espèce par espèce et de tenter de faire un lien avec l'utilisation des antibiotiques (SANDERS, 2005). Le dispositif vétérinaire en place en France, le Resapath, sera mentionné ultérieurement, à l'occasion d'un bilan sur la situation actuelle en France.

Pour évaluer la résistance d'une souche à un antibiotique, l'inhibition de la croissance bactérienne par la molécule testée est mesurée. En effet, lorsque la concentration de la molécule antimicrobienne est très faible, la croissance d'une population de bactéries, même sensibles, ne se trouve pas altérée. Elle est progressivement inhibée lorsque la concentration d'antimicrobien augmente, jusqu'à être totalement nulle. Comme sur la Figure 9 ci-après, on peut ainsi établir une courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en antibiotique (croissance observée en présence de l'antibiotique à la concentration donnée comparée à une population identique mise en culture dans un milieu sans antibiotique). On peut noter la concentration pour laquelle la croissance de 50 % des bactéries est inhibée, notée C.I.₅₀ (ENRIQUEZ, 2002).

Figure 9 : Représentation de la différence entre la croissance d'une souche cultivée sans antibiotique et celle d'une même souche cultivée avec en fonction de la concentration de l'antibiotique donné dans le milieu de culture, d'après ENRIQUEZ (2002)

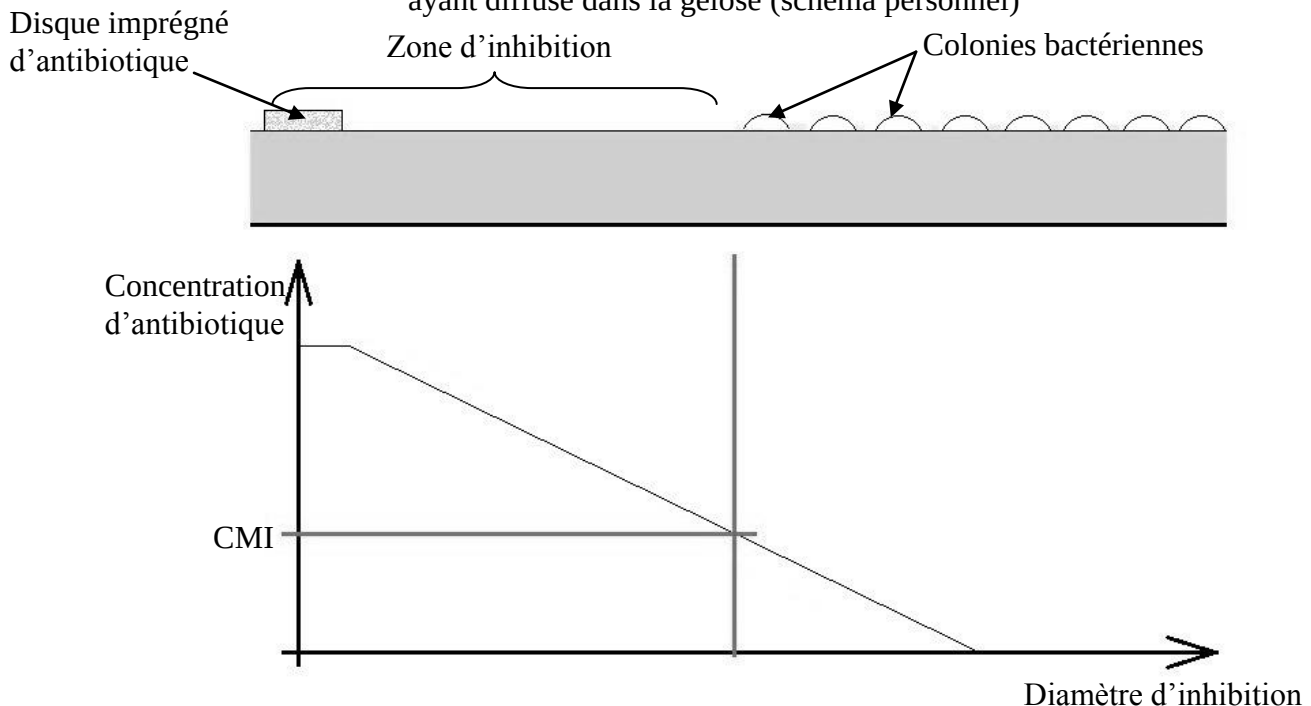


Cependant en pratique, la réalisation de cette courbe à grande échelle est difficile. D'autres méthodes ont donc été mises au point, basées sur l'observation directe de la culture.

Ainsi, les méthodes par dilution consistent en la réalisation d'une gamme de culture dans laquelle la concentration d'antibiotique est croissante. La croissance bactérienne n'est plus observée (absence de turbidité du milieu liquide ou gélosé) pour les concentrations les plus élevées. On prend alors en compte la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la concentration la plus basse pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. Elle est exprimée en microgrammes de substance active par millilitre.

Des techniques par diffusion sont aussi disponibles. La diffusion radiale, selon la méthode de Kirby-Bauer (BAUER *et al.*, 1966), est très fréquemment utilisée pour la réalisation des antibiogrammes en laboratoire. Pour cela, la souche pure concernée est repiquée sur une gélose de Mueller-Hinton, de manière à obtenir un tapis homogène de colonies coalescentes. Des disques de papier imbibés d'antibiotiques à tester sont alors déposés sur la gélose. Les molécules antimicrobiennes contenues dans le disque diffusent dans la gélose. Ainsi, leur concentration décroît en s'éloignant du disque. Après une durée d'incubation dépendant du germe (18 heures à 37 °C pour *E. coli*), un halo dépourvu de colonie peut être observé autour des disques d'antibiotiques pour lesquels la bactérie présente une certaine sensibilité. Au centre, la forte concentration inhibe toute croissance si le germe n'est pas résistant à la molécule testée. Puis en s'éloignant, la croissance reprend à partir d'une certaine limite. La concentration à cette limite correspond à la CMI de cette souche pour l'antibiotique considéré, comme le représente la Figure 10 ci-après :

Figure 10 : Schéma d'une culture bactérienne en milieu gélosé sur lequel un disque d'antibiotique a été déposé, la courbe au-dessous représentant la concentration en antibiotique ayant diffusé dans la gélose (schéma personnel)



Une formule permet de connaître la CMI à partir du diamètre d'inhibition pour un antibiotique donné. Plusieurs organismes ont édité des seuils de sensibilité. Ainsi à l'échelle européenne, les seuils de CMI de l'EU-CAST sont pris en considération (EUCAST, 2013). Des seuils américains sont aussi disponibles, grâce au CLSI (anciennement nommé NCCLS). En France, le comité antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), spécifiquement vétérinaire, a édité des diamètres seuils. Ainsi, les diamètres obtenus par la méthode de référence peuvent être directement utilisés, en les comparant aux seuils établis par le CA-SFM (CA-SFM, 2013). Ceci permet de conclure quant au statut de la souche vis-à-vis de chaque antibiotique testé :

- sensible : la CMI de cette souche pour cet antibiotique est nettement inférieure aux concentrations humorales obtenues avec un traitement à posologie moyenne. Ce dernier sera donc très probablement actif ;

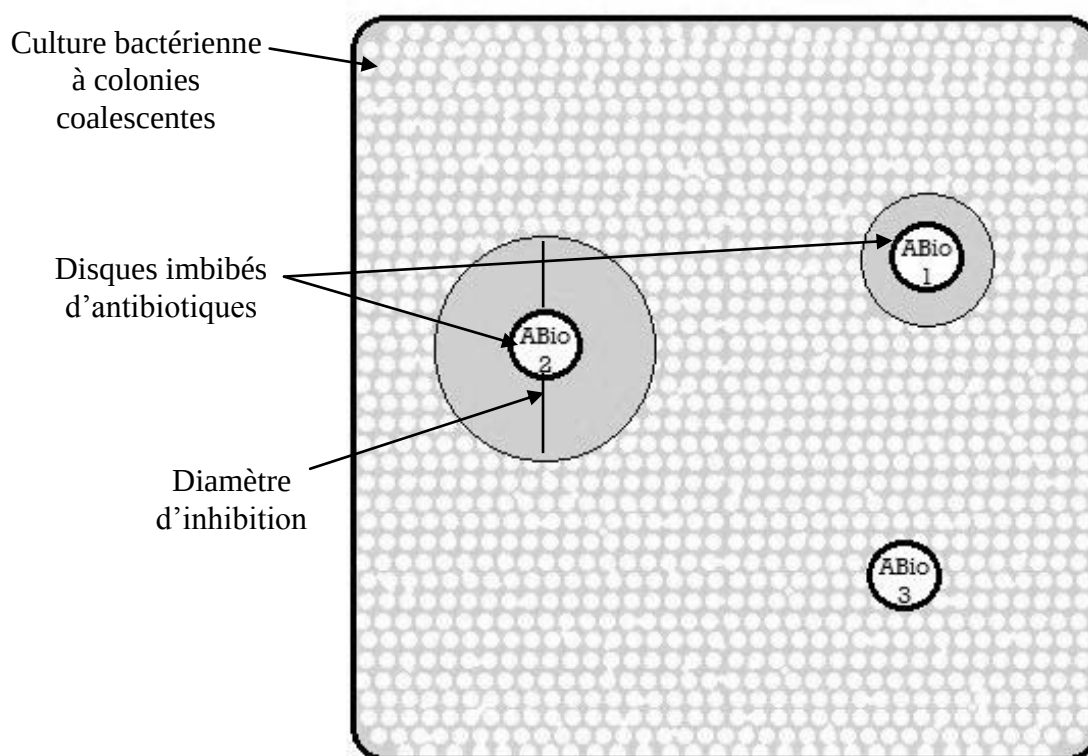
- intermédiaire : la CMI de cette souche pour cet antibiotique est légèrement supérieure aux concentrations humorales obtenues avec un traitement à posologie habituelle. Un tel traitement ne sera donc pas assurément efficace, à l'exception de certaines conditions. En effet, il est possible d'augmenter la dose administrée (si le niveau de toxicité de la molécule le permet). De même, un traitement local permettra d'obtenir des concentrations suffisantes sur le site de l'infection. Enfin, la pharmacocinétique de certaines molécules permet d'obtenir des concentrations plus élevées dans certains organes ou tissus, rendant alors l'antibiotique testé efficace dans ces derniers ;

- résistante : la souche est capable de tolérer des concentrations de cet antibiotique beaucoup plus élevées que la majorité des autres germes de la même espèce, et plus élevées que les concentrations que l'on peut obtenir *in vivo*, quelle que soit la posologie mise en place. Cet antibiotique ne sera donc probablement pas actif sur ce germe (ENRIQUEZ, 2002).

Cette technique s'est pourtant avérée être peu fiable pour certaines molécules. C'est par exemple le cas de la colistine. Les souches peuvent présenter un statut sensible ou résistant pour cette molécule, avec un diamètre limite initialement établi à 15 mm. Cependant, les résultats sont peu fiables pour les souches présentant un diamètre d'inhibition compris entre 15 et 18 mm. Ces valeurs ont ainsi été fixées comme diamètres critiques par une nouvelle norme. Le statut des souches produisant un diamètre compris entre ces deux valeurs doit être établi suite à la mesure directe de la CMI (JARRIGE *et al.*, 2013). Ceci peut se faire à l'aide de tests rapides, comme les E-Test® (Biomérieux). Celui-ci est également basé sur un principe similaire de diffusion de l'antibiotique en milieu gélosé. Le disque est cependant remplacé par une bandelette de papier imbibée de façon graduelle d'un bout à l'autre et graduée en mg/L. La comparaison de la CMI observée avec le seuil établi à 2 mg/L permet alors de conclure quant au statut sensible ou résistant de la souche testée vis-à-vis de la colistine. Bien qu'il puisse être intéressant de mesurer en routine la CMI des souches testées pour cette molécule, le coût élevé des techniques disponibles en limite la réalisation.

La Figure 11 ci-dessous représente l'antibiogramme réalisé pour une souche d'*E. coli* et sur lequel trois antibiotiques sont testés.

Figure 11 : Schéma d'une boîte de culture d'une souche pure d'*E. coli* utilisée pour réaliser un antibiogramme par diffusion radiale, testant trois antibiotiques et les diamètres d'inhibition étant lus après 18 heures d'incubation à 37°C (schéma personnel)



L'antibiotique 1 représente l'association amoxicilline et acide clavulanique. Le diamètre d'inhibition obtenu est de 16 mm. Les limites fixées par le CA-SFM, (2013) sont de 14 et 21 mm. La souche est donc classée comme intermédiaire pour cet antibiotique. L'antibiotique 2 représente la céfalexine. Le diamètre d'inhibition est de 22 mm. Les limites étant de 12 et 18

mm, la souche est sensible à la céfalexine. Enfin, l'antibiotique 3 représente la streptomycine. Le diamètre de 6 mm obtenu classe la souche comme résistante pour cet antibiotique, les limites étant de 13 et 15 mm. Les 6 mm représentant ceux du diamètre du disque antibiotique, on parle même de résistance « contact ».

Connaître la CMI de la souche impliquée dans une infection pour différents antibiotiques permet donc d'adapter le traitement, en administrant une molécule pour laquelle le germe est sensible ou intermédiaire, avec une posologie adaptée. Utiliser une molécule pour laquelle le germe est résistant risque de mener à un échec du traitement. Cependant l'utilisation du résultat d'un antibiogramme n'est pas si simple. Ainsi, une étude menée sur 32 personnes présentant une bactériémie à *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) a mis en évidence des échecs thérapeutiques malgré un résultat sensible à certaines céphalosporines. En effet, malgré la présence de cette BLSE, ces germes avaient été trouvés sensibles ou intermédiaires à certaines céphalosporines *in vitro*. L'utilisation d'une de ces molécules a mené à un échec dans 100 % des cas où le germe était trouvé intermédiaire (4 personnes) et dans 54 % des cas où le germe avait été trouvé sensible. Il est donc important de détecter la production des BLSE, afin d'interpréter le résultat brut et de rendre un résultat résistant à toutes les céphalosporines malgré des résultats sensibles ou intermédiaires *in vitro* (PATERSON *et al.*, 2001). La détection des germes produisant des BLSE est possible de deux manières. Une détection génotypique par PCR est envisageable. Cependant, face à son coût, une détection phénotypique est plus souvent pratiquée en routine. En effet, cela peut se faire par simple lecture des antibiogrammes, si la disposition des disques antibiotiques est adéquate. Le profil de ces germes est alors résistant à l'amoxicilline, sensible ou intermédiaire aux céphalosporines de deuxième génération (cefotaxime) et intermédiaire ou résistant aux céphalosporines de troisième génération. De plus, cette détection repose sur l'observation d'une synergie dite « en bouchon de champagne » entre l'amoxicilline + acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération lorsque les disques de ces deux antibiotiques sont disposés côte-à-côte, espacés de 30 mm centre à centre (EMILE, 2008).

Des erreurs inverses sont aussi possibles. En effet, YU *et al.* (2003) ont étudié l'impact de l'utilisation d'antibiotiques pour lesquels les *Streptococcus pneumoniae* isolés à partir de patients bactériémiques étaient trouvés résistants par le laboratoire. Une telle utilisation n'est statistiquement pas associée à un taux de mortalité supérieur, ni à une augmentation du délai de guérison ou à l'apparition d'une complication avec suppuration. Dans ce cas, l'utilisation d'antibiotiques pourtant inactifs *in vitro* n'aboutit donc pas à un échec thérapeutique. En effet, les caractéristiques pharmacocinétiques des molécules permettent parfois leur accumulation dans certains milieux ou tissus de l'organisme, permettant d'atteindre des concentrations supérieures aux CMI. Si le germe cible se situe dans l'un de ces tissus, le traitement pourra alors être efficace. Il en va de même pour certaines molécules en augmentant les doses administrées.

4.2.2.3. Résistance naturelle et résistance acquise

La connaissance des mécanismes d'action des différentes molécules antibiotiques permet de comprendre les mécanismes d'échappement que peuvent présenter et parfois développer les microorganismes.

En effet, on distingue deux formes de résistance.

Tout d'abord, les germes présentent des résistances dites naturelles, c'est-à-dire intrinsèques à l'espèce ou au groupe considéré, toutes les souches le constituant étant concernées par cette résistance (ENRIQUEZ, 2002). Elles reposent en général sur l'absence de la cible de l'antibiotique au sein de l'espèce, ou sur son inaccessibilité chez ces germes. Par exemple, la majorité des bactéries Gram négatif présentent une faible perméabilité aux molécules anciennes de la famille des macrolides. Or nous avons vu que ces molécules agissent par le

biais des ribosomes bactériens. Nombreux sont donc les germes Gram négatifs à présenter une résistance intrinsèque aux macrolides (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). Ainsi, d'une manière générale, il ne sert à rien de tester la sensibilité d'un germe donné pour les molécules pour lesquelles une résistance naturelle est connue chez cette espèce.

À ces résistances naturelles, on oppose les résistances acquises. Celles-ci correspondent à la présence d'une résistance pour un antibiotique donné chez un nombre plus ou moins limité de souches d'une espèce initialement sensible à la molécule en question. Face à un germe identifié, on ne peut pas prévoir ces résistances, et la réalisation d'un antibiogramme sera nécessaire si l'on veut s'assurer de mettre en place un traitement efficace. Ce sont aussi ces résistances qui posent problème en médecine humaine comme vétérinaire. En effet, en constante évolution, l'efficacité des molécules actuellement à notre disposition est sans arrêt remise en question, avec l'accroissement constant des résistances bactériennes (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002).

4.2.2.4. Mécanismes de résistance acquise

Si les résistances naturelles reposent sur l'absence ou l'inaccessibilité des cibles des antibiotiques, les mécanismes de résistance acquise sont parfois assez proches. On peut distinguer quatre mécanismes principaux, parfois retrouvés conjointement chez les bactéries résistantes :

➤ l'inactivation enzymatique : pour cela, le germe résistant produit une ou plusieurs enzymes capables de modifier et d'inactiver la molécule antibiotique. C'est par exemple le cas des bêtalactamases, capables d'hydrolyser le noyau β -lactame, et donc d'inactiver les pénicillines et les céphalosporines. Certaines de ces enzymes sont même capables d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi (troisième et quatrième générations), pourtant plus stables, et portent pour cela le nom de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE). Ainsi les germes producteurs de BLSE présentent des résistances aux pénicillines et aux quatre générations de céphalosporines, bien qu'ils restent le plus souvent sensibles à la céfoxitine (céphalosporine de deuxième génération) (CATTOIR, 2008). On peut également citer des résistances aux aminosides par la production d'acétylases, de phosphorylases et d'adénylases (ENRIQUEZ, 2002) ;

➤ Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie : nous avons vu que la cible de certains antibiotiques est intracellulaire. La molécule active doit donc pénétrer dans les cellules, généralement par le biais de porines ou par des mécanismes actifs. Dans le premier cas, la concentration intracellulaire peut être abaissée par une diminution voire un arrêt total de la synthèse des porines par la bactérie. Ce mécanisme explique les résistances aux tétracyclines (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). Concernant les transferts actifs de l'antibiotique dans la bactérie, une perturbation du métabolisme microbien peut réduire ces influx. C'est ce que l'on observe pour les aminosides, l'ensemble des molécules de la famille étant concerné. La résistance qui en résulte est faible et la croissance bactérienne s'en trouve diminuée, mais ce mécanisme est tout de même responsable de résistances et de rechutes cliniques (ENRIQUEZ, 2002). Enfin, certaines bactéries hyperproduisent certaines protéines transmembranaires qui jouent le rôle de pompe, créant un transfert actif de l'antibiotique vers le milieu extracellulaire : c'est le mécanisme d'efflux. Ce phénomène est évoqué par exemple pour les tétracyclines ou les quinolones (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). Il serait également en cause dans la résistance naturelle des *E. coli* aux anciennes molécules de la famille des macrolides, par une expression constitutive de ces pompes à efflux (PIDDOCK, 2006). Il est à noter que ces pompes ne sont pas spécifiques. Elles peuvent transporter différentes molécules antibiotiques ou non, et même différentes molécules antibiotiques de

familles différentes. Elles ont donc une importance majeure dans l'apparition de multirésistance chez certaines bactéries. Chez *E. coli*, c'est par exemple le cas d'une pompe appelée AcrAB-TolC, qui permet l'efflux de nombreuses molécules telles que le chloramphénicol, les fluoroquinolones, les bétalactamines lipophiles, l'acide nalidixique ou les tétracyclines. Sa seule hyperproduction ne suffit pas à engendrer des résistances posant problème sur le plan thérapeutique, mais si elle est associée à un autre mécanisme tel qu'une modification de cible, des résistances cliniques peuvent apparaître. C'est par exemple le cas pour les fluoroquinolones. Une telle pompe est aussi retrouvée chez *S. Typhimurium*, avec comme substrat à la fois le chloramphénicol, les quinolones et les tétracyclines (PIDDOCK, 2006) ;

➤ Modification de la cible de l'antibiotique : la molécule bactérienne cible de l'antibiotique peut être modifiée, certaines protéines ribosomiales conduisant à une résistance croisée pour les macrolides, les lincosamides et les streptogramines. C'est aussi l'un des mécanismes de résistance aux β -lactamines. En effet, celles-ci agissent en fixant des protéines impliquées dans la synthèse de la paroi bactérienne, qui se trouve ainsi inhibée. Or ces protéines (les penicillin-binding-proteins (PBP)) peuvent être modifiées, entraînant une résistance à cette famille d'antibiotiques. Ce type de mécanisme concerne de nombreuses familles d'antibiotiques. À noter parmi elles les β -lactamines, les aminosides ou encore les quinolones ;

➤ Substitution de cible : nous avons vu que les sulfamides et le triméthoprim agissent en inhibant la synthèse de l'acide folique. Ceci a lieu grâce à leur fixation sur différentes enzymes impliquées dans cette synthèse. Certaines bactéries possèdent des enzymes ayant un rôle similaire mais dont les différences physico-chimiques les rendent insensibles à ces molécules (ENRIQUEZ, 2002).

Ces mécanismes bactériens reposent sur plusieurs éléments génétiques, rendant l'apparition de ces résistances plus ou moins fréquentes et problématiques d'un point de vue médical.

4.2.2.5. Support génétique de la résistance et dissémination : cas d'*E. coli*

Nous avons déjà vu que le génome d'*E. coli* est constitué d'un chromosome circulaire et de plasmides. Ces éléments constituent les deux supports des déterminants génétiques de l'antibiorésistance.

▪ Résistance chromosomique : elle repose sur des mutations survenant au cours de la réplication du chromosome bactérien. Nous avons vu que ces mutations, survenant toutes les 10^6 à 10^8 réplifications, étaient cependant assez fréquentes au sein d'une population d'*E. coli* dans un milieu adapté, vue leur multiplication rapide. Bien que souvent sans intérêt sélectif voire délétère, il peut arriver qu'une telle mutation permette l'apparition d'une résistance plus ou moins forte à un antibiotique, quel qu'en soit le mécanisme (ENRIQUEZ, 2002). Elle peut en effet concerner directement la cible de l'antibiotique, ou toucher des mécanismes plus complexes tels que les pompes à efflux (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). En l'absence d'exposition à la molécule concernée, une telle population reste cependant minoritaire. Ce type de résistance peut concerner n'importe quelle molécule antibiotique. YOSHIDA *et al.* (1991) ont mis en évidence que la différence de localisation de deux mutations ponctuelles dans le gène de la gyrase entraînait une résistance variable aux différentes molécules de la famille des quinolones. En effet, un premier groupe d'*E. coli* mutants était résistant à l'ensemble des quinolones testées alors que le second n'était résistant qu'aux quinolones acides (comme l'acide nalidixique ou la fluméquine), par ailleurs hypersensibles aux

quinolones amphotères (comme la norfloxacine ou la ciprofloxacine). Le niveau de résistance engendré peut être variable. Ainsi, une mutation dans un seul locus peut provoquer une résistance forte. C'est par exemple le cas de la résistance d'*E. coli* à la streptomycine. D'autres mutations sont dites à paliers successifs. Dans ce cas, la mutation d'un seul locus n'apporte qu'une faible résistance. Seules les bactéries présentant des mutations à plusieurs loci seront hautement résistantes. Ces phénomènes étant tout de même peu courants, leur importance en bactériologie médicale reste limitée. Leur transmission se fait uniquement par voie verticale, par division cellulaire, à l'exception des mutations concernant les transposons, élément que nous détaillerons à la fin de ce paragraphe. Ce support de résistance n'est tout de même pas négligeable, puisqu'il engendre environ 10 à 15 % des phénomènes de résistance en général, et qu'il concerne des familles antibiotiques d'intérêt majeur en médecine vétérinaire et humaine, telles que les quinolones. Les taux de mutation sont aussi particulièrement élevés pour certains antibiotiques, comme les quinolones (ENRIQUEZ, 2002) ;

- Résistance plasmidique : les plasmides peuvent également porter des gènes de résistance à des antibiotiques. Le principal mécanisme repose sur la synthèse de protéines enzymatiques, conférant au germe porteur du plasmide une résistance aux antibiotiques cibles. Ce mode de résistance concerne toutes les familles d'antibiotique, à l'exception de quelques molécules pour lesquelles aucune résistance plasmidique n'a été mise en évidence à l'heure actuelle. Nous avons déjà étudié les différents modes de transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre. Ainsi les plasmides peuvent être transférés à un autre germe, par conjugaison comme nous l'avons déjà décrit. Cette transmission horizontale est très importante puisque des souches d'espèces différentes peuvent ainsi s'échanger des gènes de résistance. Des transferts d'une bactérie Gram positif à une bactérie Gram négatif sont même possibles (l'inverse étant moins fréquent) (ENRIQUEZ, 2002) ;

- Transformation et transduction : nous avons déjà décrit ces deux mécanismes de transfert de matériel génétique. Pour rappel, la transformation consiste pour une bactérie à intégrer dans son génome un fragment d'ADN obtenu dans le milieu extérieur et provenant d'une bactérie voisine qui l'a libéré en mourant. La transduction aboutit au même résultat mais le transfert du fragment d'ADN se fait par l'intermédiaire d'un bactériophage. Ces morceaux d'ADN peuvent contenir un gène de résistance, ainsi transféré à la bactérie receveuse ;

- Transposons et intégrons : les transposons sont des fragments d'ADN capables de s'insérer ou de s'exciser du chromosome bactérien. Ils permettent le passage de gènes du chromosome vers les plasmides, de plasmide à plasmide ou d'un plasmide vers le chromosome. La transposition peut se faire entre germes d'espèces voire de genres différents. C'est par exemple le cas du gène de résistance à la gentamicine, qui est passé des staphylocoques aux entérocoques puis aux streptocoques par un gène de résistance transposable. La possibilité des gènes de résistance de « sauter » d'un plasmide à un autre est donc un moyen très puissant de transférer les résistances. Ceci s'accompagne d'une duplication, ainsi le plasmide donneur reste porteur du gène transposé (ENRIQUEZ, 2002). Les intégrons sont de courtes séquences d'ADN dans lesquelles peuvent s'insérer un ou plusieurs gènes de résistance. Ils sont retrouvés à la fois sur le chromosome et sur les plasmides, parmi des bactéries humaines, animales ou de l'environnement (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). Ces mécanismes permettent une transmission horizontale puis verticale une fois le transposon ou l'intégron inséré dans le chromosome. C'est donc l'un des mécanismes majeurs dans la dissémination des résistances bactériennes (ENRIQUEZ, 2002).

Il faut souligner ici l'importance de ces phénomènes chez les germes de la flore commensale. En effet, ces nombreuses bactéries non pathogènes jouent un rôle essentiel de réservoir de gènes de résistance, qui peuvent ensuite être transférés aux germes pathogènes de la même espèce ou non, par ces différents mécanismes. En Ontario, CARSON *et al.* (2008) ont mis en évidence que 501 des 1265 (40 %) prélèvements de flore fécale effectués sur des animaux sains présentaient des *E. coli* avec au moins une résistance à l'un des seize antibiotiques testés. Quelques souches étaient résistantes au ceftiofur, à la gentamicine ou à l'acide nalidixique, avec fréquemment d'autres résistances associées. Les germes résistant à plus de cinq antibiotiques testés représentaient tout de même moins de 1 % des souches isolées. Même constat en Allemagne par KAESBOHRER *et al.* (2012), avec 43 à 76 % des *E. coli* isolés de veaux sains présentant une résistance à au moins une molécule antimicrobienne testée. La résistance aux fluoroquinolones chez les veaux atteignait 13,3 % et celle à la ceftazidime était de 3,3 %. Cela semble peu, mais ces molécules sont de première importance en médecine humaine. Pour cela, il faut également noter la faible spécificité des transferts de matériel génétique entre bactéries. Ceci fait aussi des germes animaux des réservoirs de gènes de résistance que l'on pourra retrouver chez les bactéries de l'Homme. L'antibiorésistance chez l'animal pose donc un problème majeur de santé publique.

Le Tableau 8 ci-dessous récapitule les mécanismes et les supports de résistance décrits pour quelques familles d'antibiotiques.

Tableau 8 : Récapitulatif des mécanismes et des supports de la résistance à quelques familles d'antibiotiques chez les bactéries Gram négatif, d'après CHASLUS-DANCLA *et al.* (2002), ENRIQUEZ (2002), PIDDOCK (2006), RAHAMAN *et al.* (1998) et HARA *et al.* (1991)

Famille antibiotique	Mode de résistance	Mécanisme	Support
Aminosides	Inactivation enzymatique	Acétylation	P + C
	Baisse de perméabilité	Mutation du LPS	P
Tétracyclines	Baisse de perméabilité	Efflux	P + C
	Modification de la cible	Protection de la cible (ribosomes)	P + C
B-lactamines	Inactivation enzymatique	Hydrolyse du noyau β -lactame	P + C
	Modification de la cible	Baisse de l'affinité	C
	Baisse de la perméabilité	Altération des porines	P
Sulfamides / Triméthoprim	Shunt	Surexpression enzymatique	P + C
	Modification de la cible	Synthèse d'enzymes à affinité réduite	P + C
Quinolones	Modification de la cible	Mutation de l'ADN-gyrase	P + C
	Baisse de la perméabilité	Altération des porines ou efflux	P + C
Antibiotiques polypeptidiques	Modification de la cible	Baisse de sensibilité de la membrane bactérienne aux altérations	C

Légende : P (plasmidique) et C (chromosomiques).

4.2.2.6. Cas des multirésistances

Les plasmides peuvent être porteurs de plusieurs gènes de résistance, à une même famille antibiotique ou non. Ainsi, il est rare qu'une bactérie présente une résistance pour un seul antibiotique. Le plus préoccupant à l'heure actuelle concerne probablement les *E. coli* producteurs de BLSE. En effet, outre la résistance aux céphalosporines de dernières générations, ces germes présentent souvent des résistances associées. Ainsi en 2010, 99 % d'entre eux étaient aussi résistants aux tétracyclines, 84 % l'étaient aux associations sulfamides-triméthoprim, 54 % à la gentamicine et 54 % aux fluoroquinolones. De même,

les germes étant à la fois résistants au ceftiofur et aux tétracyclines l'étaient aussi aux sulfamides-triméthoprine dans 86 % des cas. Et parmi ceux résistants aux ceftiofur, tétracyclines, sulfamides-triméthoprine, gentamicine et florfenicol, on observait 88% de résistance aux fluoroquinolones (CHAZEL *et al.*, 2010) !

Un autre exemple de ces associations de résistance est celui de la résistance au florfenicol. En effet, la fréquence de résistance au florfenicol chez les souches productrices de BLSE n'a cessé d'augmenter depuis son autorisation en France, en 1995 (ARCANGIOLI *et al.*, 1999). Cependant, les souches productrices de BLSE sont presque exclusivement retrouvées dans les cas de diarrhée néonatale chez le veau. Ces affections ne font pourtant pas partie des indications prévues par l'AMM du florfenicol. Ainsi bien que le florfenicol ne soit pas utilisé dans le traitement des entérites des veaux nouveau-nés, la prévalence de résistance à cette molécule ne cesse d'augmenter (CHAZEL *et al.*, 2011).

Ces données illustrent bien les fréquentes associations des résistances aux différentes familles antibiotiques.

4.2.3. Impact de l'utilisation des antibiotiques et conduites à risque

4.2.3.1. Sélection des mutants résistants

Nous avons déjà mentionné que les mutations observées sur l'ADN bactérien pouvaient être délétères pour le germe concerné, en ayant un impact négatif sur ses capacités de multiplication ou « fitness ». Par exemple, la modification des ribosomes de *Campylobacter* les rendant moins sensibles aux macrolides diminue l'efficacité de la traduction. De même, la modification de l'ADN gyrase permet une diminution de leur sensibilité aux fluoroquinolones, mais ralentit la réplication bactérienne. Enfin, la diminution du nombre de protéines membranaires, diminue la sensibilité des bactéries aux antibiotiques à action intracellulaire par baisse de perméabilité. Or ceci limite également les échanges avec le milieu extérieur, freinant donc le développement des souches ainsi démunies (ANSES, 2013a). Cependant, certaines de ces mutations ont peu voire pas d'effet sur le fitness des germes concernés (SANDER *et al.*, 2002). De plus, des mutations compensatrices sont observées, rétablissant le fitness des bactéries présentant une résistance à un antibiotique. Ainsi, même en l'absence d'antibactérien dans le milieu, les germes résistants restent présents, n'étant plus défavorisés. C'est ce qu'ont montré LEVIN *et al.* (1999) : dans un milieu dépourvu de molécule antibiotique, les bactéries résistantes présentant des mutations compensatrices sont plus représentées que les bactéries ayant perdu leur gène de résistance à l'antibiotique en question, malgré le rétablissement du fitness d'origine chez ces dernières. En l'absence de molécule antibiotique dans le milieu, le développement d'une résistance au sein d'une population n'est donc pas toujours délétère pour sa croissance.

De plus, si la molécule antibiotique est introduite dans le milieu, ces mutants résistants présentent un avantage sélectif. Considérons une population de 100 bactéries, dont une présente cet avantage, soit 1 % de résistance à un antibiotique donné. Si l'animal porteur reçoit un traitement à base de cet antibiotique, une grande proportion des 99 germes sensibles sera détruite. Ainsi, si le traitement permet la destruction de 90 % des germes sensibles, il reste environ 10 germes sensibles et le germe résistant qui n'est donc pas atteint. Le pourcentage de résistance dans cette population atteint alors environ 9 %. Puis dans une population de 100 bactéries avec 9 % de résistance (soit 81 sensibles et 9 résistantes), ce même traitement détruit environ 73 bactéries sensibles. La population compte alors 8 germes sensibles et toujours 9 résistants. Le pourcentage de résistance au sein de la population restante atteint ainsi 53 % ! Bien que l'évolution réelle d'une population soit beaucoup moins mathématique, il se dessine clairement que l'utilisation d'un antibiotique peut avoir de graves

effets de sélection des mutants résistants, indépendamment de tout transfert de gènes entre bactéries.

4.2.3.2. Conséquences sur la flore commensale

De nombreux antibiotiques peuvent être administrés par voie orale aux veaux. La flore digestive est alors exposée à ces nombreuses molécules, rendant la sélection de germes multirésistants très rapide. De plus, nous avons vu que certains antibiotiques à administration parentérale réalisaient un cycle entéro-hépatique. Ils se retrouvent alors eux aussi sous forme active dans la lumière intestinale, au contact de la flore commensale, là encore exposée.

Ces germes étant le plus souvent peu ou pas pathogènes, ceci ne semble pas poser de réel problème clinique à première vue. Cependant, étant donnés les transferts de gènes de résistance possibles d'une bactérie à l'autre, la présence de cette population microbienne pose un vrai problème. En effet, lors de la contamination par un germe pathogène, celui-ci risque d'acquérir les gènes de résistance présents dans la population commensale. Ceci est d'autant plus vrai que les gènes en question se trouvent sur des éléments facilement transférables comme des plasmides. De même, si ce germe pathogène est initialement résistant à un antibiotique A et se développe dans le tube digestif, le gène de résistance impliqué pourra être transmis à certains germes de la flore commensale, qui en deviendra un réservoir. En cas d'infection ultérieure par un autre germe pathogène, résistant à un autre antibiotique B, de nouveaux transferts génétiques pourront rendre cette bactérie résistante aux deux antibiotiques A et B. Ceci explique en partie l'apparition de la multirésistance chez certaines bactéries. De plus, les germes commensaux peuvent eux aussi être transmis d'un animal à un autre par contamination oro-fécale. Ainsi, l'ensemble des animaux jouera ce rôle de réservoir de gènes de résistance (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002).

Un point doit être fait ici sur la pratique de l'antibioprévention. Cette pratique consiste à administrer de manière préventive un antibiotique à un veau sain. Elle peut se pratiquer systématiquement, ou uniquement lorsque le contexte le nécessite (début d'épizootie en pleine saison de vêlage par exemple). Le veau étant sain, il n'héberge *a priori* pas d'agent pathogène dans sa flore digestive. Cependant, une telle utilisation risque de sélectionner les germes non pathogènes porteurs d'un gène de résistance à l'antibiotique utilisé. Ainsi, la probabilité de transfert lors d'une infection est très augmentée, dans un milieu où la très grande concentration de bactéries est déjà favorable à ces échanges génétiques. Ceci explique l'importance des germes multirésistants dans le tube digestif, par opposition à des milieux moins densément peuplés comme l'appareil respiratoire ou la mamelle (CHASLUS-DANCLA *et al.*, 2002). Face à cela, l'agence nationale pour la sécurité sanitaire (ANSES) conseille depuis plusieurs années de réduire une telle utilisation préventive des antibiotiques (ANSES, 2013b), et va jusqu'à préconiser son abandon aujourd'hui (MILLEMANN, 2014).

Les antibiotiques constituent le traitement de choix en cas d'infection bactérienne, à titre préventif ou curatif. Cependant, le risque toxique pour l'animal traité comme pour l'Homme (manipulateur ou consommateur) et l'implication de ces molécules dans l'émergence et la dissémination de l'antibiorésistance au sein des populations bactériennes sont aujourd'hui bien connus. La mise en place d'un tel traitement doit donc reposer sur une évaluation du rapport bénéfice/risque, qui peut nécessiter le recours à des examens complémentaires.

4.3. État des lieux de l'antibiorésistance en France et évolutions possibles

4.3.1. Les chiffres de l'antibiorésistance chez *E. coli* au cours des dernières années

Face à l'importance des conséquences de l'antibiorésistance en médecine animale et humaine, des réseaux de surveillance se sont développés. Concernant la médecine vétérinaire, le réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes des bovins (Résabo) s'est attelé à cette tâche dès sa création en 1982. Depuis 2006, les espèces animales considérées se sont largement diversifiées, incluant d'autres animaux de rente : porcins, ovins, caprins, volailles, lapins ou poissons ; mais aussi des animaux domestiques avec les chiens, les chats, les équins et les nouveaux animaux de compagnie, et même les animaux de zoos. Ce nouveau réseau, en constant accroissement, porte maintenant le nom de Resapath, le réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes animales. Il est piloté par l'agence nationale pour la sécurité sanitaire (ANSES) (MADEC *et al.*, 2011).

Les données recueillies ces dernières années montrent que l'agent bactérien le plus souvent isolé en pathologie digestive chez les bovins est bien *E. coli*, qui est concerné par 43,4 à 48,8 % de l'ensemble des antibiogrammes recueillis entre 2008 et 2011. C'est donc la première espèce d'intérêt en ce qui concerne l'antibiorésistance lors de troubles digestifs, en particulier chez le veau nouveau-né.

Le Tableau 9 ci-après reprend les résultats des antibiogrammes concernant les principaux antibiotiques testés entre 2008 et 2012 :

Tableau 9 : Pourcentage de résistance et nombre total d'antibiogrammes réalisés sur des *E. coli* isolés de pathologie digestive chez des veaux pour les principaux antibiotiques testés, d'après CHAZEL (2009), CHAZEL (2010), CHAZEL (2011), JARRIGE (2012) et JARRIGE (2013)

% R (Nb R)	2008 (N = 1653)	2009 (N = 1716)	2010 (N = 1961)	2011 (N = 2139)	2012 (N = 2916)
Amoxicilline	86 % (1444)	87 % (1483)	85 % (1705)	86 % (1910)	84 % (2671)
Amoxicilline + acide clavulanique	59 % (1625)	60 % (1691)	56 % (1949)	55 % (2118)	64 % (2898)
Cefalexine	31 % (1075)	32 % (1147)	26 % (1348)	27 % (1571)	25 % (2338)
Cefoxitine	10 % (1226)	8 % (1032)	8 % (1296)	9 % (1442)	10 % (2152)
Ceftiofur	5 % (1626)	7 % (1694)	8 % (1925)	8 % (2094)	8 % (2890)
Cefquinome	11 % (702)	11 % (1393)	11 % (1854)	14 % (2000)	13 % (2754)
Streptomycine	88 % (910)	88 % (783)	89 % (883)	87 % (1007)	84 % (1738)
Kanamycine	57 % (756)	55 % (847)	56 % (967)	53 % (918)	49 % (1709)
Gentamicine	20 % (1644)	21 % (1708)	20 % (1942)	21 % (2128)	20 % (2909)
Néomycine	62 % (981)	56 % (993)	57 % (1111)	56 % (1297)	48 % (1915)
Tétracycline	86 % (1598)	85 % (1673)	86 % (1741)	84 % (1918)	79 % (2667)
Colistine	2 % (1646)	5 % (1710)	2 % (1916)	-	-
Sulfamide-TMP	42 % (1563)	41 % (1676)	40 % (1748)	37 % (1978)	38 % (2822)
Acide nalidixique	48 % (729)	45 % (801)	47 % (963)	42 % (958)	44 % (1743)
Enrofloxacin	32 % (1460)	32 % (1529)	32 % (1603)	30 % (1846)	28 % (2701)
Marbofloxacin	25 % (1555)	25 % (1654)	25 % (1826)	26 % (1917)	23 % (2693)

*Légende : % R : taux de résistance ; Nb R : nombre de souches résistantes ; N : nombre total de souches testées chaque année.
En gras, les pourcentages des trois antibiotiques pour lesquels on rencontre le plus de résistance chaque année.*

On observe que les pourcentages de germes résistants sont très variables d'un antibiotique à un autre, puisqu'ils vont de 2 % pour la colistine à presque 90 % pour la streptomycine.

Les céphalosporines sont une famille d'intérêt majeur en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. En effet, celles de troisième et quatrième générations, tout comme les fluoroquinolones, sont parfois les seules alternatives pour le traitement de certaines infections humaines graves. De plus, les souches qu'elles permettent de traiter peuvent être transmises depuis une source de contamination non humaine, ou peuvent transférer des gènes de résistance aux souches humaines. Cette importance majeure leur vaut le qualificatif d'antibiotique « critique » (MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT, 2013a ; MILLEMANN *et al.*, 2012). Les résistances les concernant sont donc suivies avec beaucoup d'intérêt. En effet, les premières résistances ont été rapportées dans les années 1980. Celles touchant les molécules de troisième et quatrième générations ont été mises en évidence en 2006. Entre 2006 et 2009, tout comme en médecine humaine, les résistances aux céphalosporines de troisième et quatrième générations ont augmenté de façon significative chez les bovins. Une légère diminution est observée chez les jeunes bovins en 2010, mais une nouvelle augmentation a eu lieu en 2011. La situation est encore plus préoccupante chez les poules et poulets, chez qui le pourcentage d'antibiorésistances a été multiplié par quatre entre 2008 et 2010, puis paraît se stabiliser en 2011 pour ensuite diminuer en 2012.

Outre les céphalosporines de troisième et quatrième générations, les fluoroquinolones sont également des antibiotiques d'intérêt majeur en santé publique vétérinaire. Les résistances aux fluoroquinolones sont plus fréquentes chez les bovins que chez les autres espèces de production, mais leur pourcentage varie peu entre 2006 et 2010. On observe alors environ 32% de résistance à l'enrofloxacin et 25 % concernant la marbofloxacin pour les *E. coli* isolés de pathologie digestive chez les jeunes bovins. Il semble même qu'une diminution de ce pourcentage de résistance soit observée en 2011 chez l'ensemble des espèces. Il sera intéressant de suivre cette évolution, afin de voir si cette tendance persiste, ou si cette observation reste ponctuelle malgré la prise de conscience des enjeux actuels et les modifications des pratiques des éleveurs comme des vétérinaires qui en découlent (HAZEL, *et al.*, 2009 ; HAZEL *et al.*, 2010 ; HAZEL *et al.*, 2011 ; JARRIGE *et al.*, 2012 ; JARRIGE *et al.*, 2013).

En médecine humaine, les observations sont assez similaires. Le Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies (ECDC) analyse les données en médecine humaine d'un réseau de laboratoires de 29 pays européens. De manière globale, la résistance observée chez les bactéries Gram négatives entre 2008 et 2011 a augmenté, malgré des divergences nettes entre les pays, représentées sur les Figure 12, Figure 13 et Figure 14 ci-après :

Figure 12 : Taux de résistance d'*E. coli* humains aux céphalosporines de troisième génération en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011)

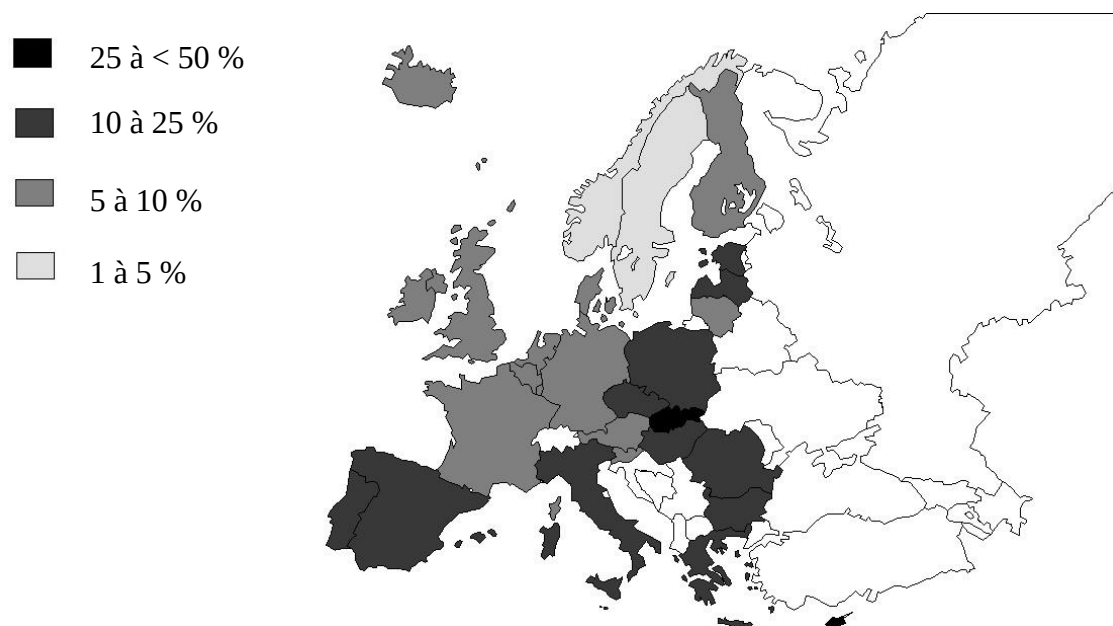
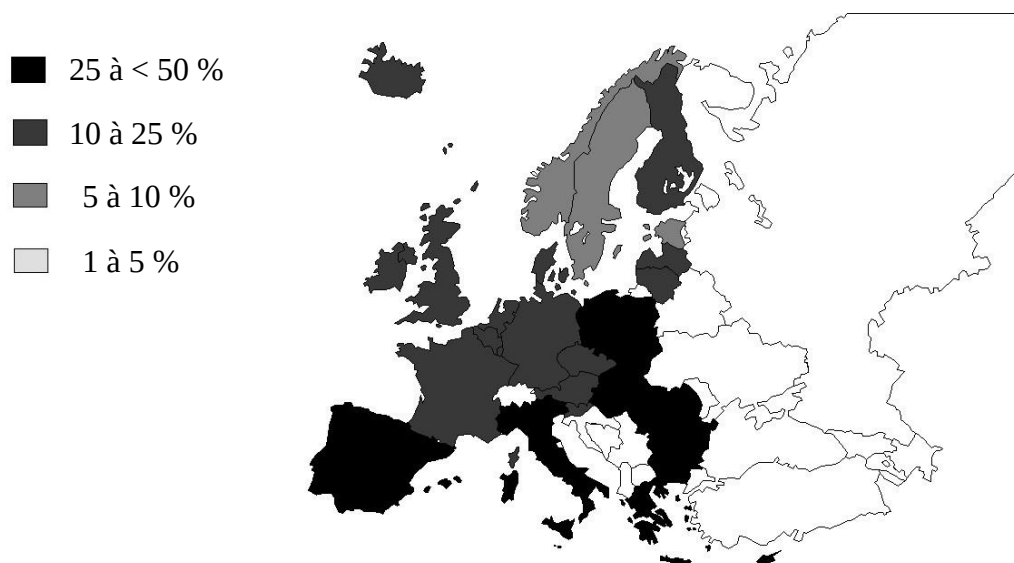


Figure 13 : Taux de résistance d'*E. coli* humains aux aminosides en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011)



Figure 14 : Taux de résistance d'*E. coli* humains aux fluoroquinolones en 2011 en Europe, d'après ECDC (2011)

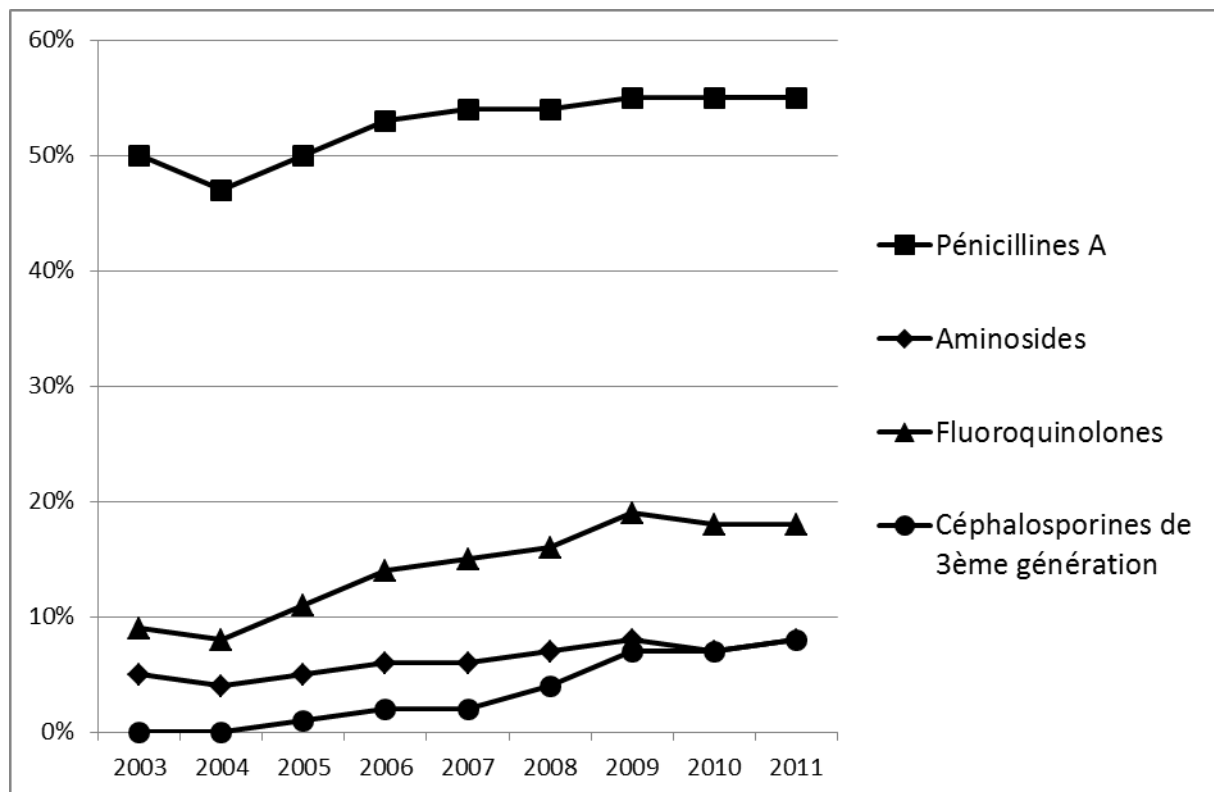


Concernant les familles d'antibiotiques dites « critiques », c'est-à-dire les céphalosporines de troisième génération, les fluoroquinolones et les aminosides, une augmentation alarmante des multi-résistances est à souligner en 2011. En effet, entre 2008 et 2011, plus d'un tiers des pays inclus ont vu cette multirésistance chez *E. coli* augmenter significativement. Le Tableau 9 ci-dessous donne les chiffres de l'antibiorésistance d'*E. coli* concernant les principales familles antibiotiques d'intérêt en France, transposés dans la Figure 15 ci-après.

Tableau 9 : Évolution du pourcentage de résistance aux principales familles d'antibiotique d'intérêt en médecine humaine chez les *E. coli* isolés chez l'Homme en France, d'après ECDC (2011)

%R	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Pénicillines A	50 %	47 %	50 %	53 %	54 %	54 %	55 %	55 %	55 %
Aminosides	5 %	4 %	5 %	6 %	6 %	7 %	8 %	7 %	8 %
Fluoroquinolones	9 %	8 %	11 %	14 %	15 %	16 %	19 %	18 %	18 %
Céphalosporines de 3^{ème} génération	< 1 %	< 1 %	1 %	2 %	2 %	4 %	7 %	7 %	8 %

Figure 15 : Évolution du pourcentage de résistance aux principales familles d'antibiotiques d'intérêt en médecine humaine chez les *E. coli* isolés chez l'Homme en France, d'après ECDC (2011)



Bien que les objectifs et les modalités d'utilisation des antibiotiques soient différentes entre médecine humaine et médecine vétérinaire, ces évolutions sont donc assez proches et tout aussi alarmantes que celles faites en médecine vétérinaire.

4.3.2. Intérêt d'une diminution de l'utilisation des antibiotiques

Face à ces résistances parfois importantes chez les *E. coli* isolés d'affections digestives chez les veaux, il semble important d'adapter les pratiques afin de préserver notre arsenal thérapeutique.

Si les gènes de résistance semblent être généralement défavorables aux germes non exposés à l'antibiotique concerné, nous avons vu qu'ils sont un avantage sélectif certain une fois la molécule présente dans l'environnement. La sélection engendrée permet ainsi une augmentation rapide de la proportion de bactéries résistantes dans la population. En effet, il a été prouvé que l'ajout de 2 ppm de dihydrostreptomycine dans l'alimentation de chiens provoque une augmentation de la proportion des souches digestives résistantes de 5 à 70 %. La moitié de ces souches se sont avérées capables de transférer leur résistance à d'autres (ENRIQUEZ, 2002). Chez le veau nouveau-né, ALALI *et al.* (2004) ont étudié le portage d'*E. coli* O157:H7 après inoculation selon que les veaux reçoivent ou non un traitement à base d'oxytétracycline et de néomycine. Ils ont mis en évidence que le portage était plus important chez les animaux traités à 6 et 10 jours post-inoculation, pour une durée totale de portage similaire entre les deux groupes.

On peut ainsi imaginer que l'arrêt de l'utilisation des antibiotiques peut permettre de réduire la résistance d'une population. En effet, les élevages n'utilisant pas d'antibiotique tels que les élevages biologiques présentent des taux d'antibiorésistance moindres. C'est ce qu'ont montré SATO, BARLETT, & SAEED (2005) pour 7 des 17 antibiotiques testés chez les *E. coli*

fécaux prélevés chez les vaches et les veaux de plusieurs élevages. En effet, l'usage d'antibiotiques s'accompagne souvent d'une augmentation de la fréquence de résistance au sein de la population commensale, comme l'ont montré CHECKLEY *et al.* (2010), chez qui les veaux à l'engrais recevaient ou non un aliment contenant de l'oxytétracycline. Les pourcentages de résistance à cet antibiotique étaient cependant identiques à long terme, comme le montraient les antibiogrammes réalisés sur les échantillons collectés chez ces mêmes individus lors de leur abattage. KANEENE *et al.* (2008) ont fait la même observation sur des veaux laitiers. La tétracycline contenue dans le lactoremplacéur a été retirée pour le groupe recevant l'intervention, contrairement au groupe témoin. La prévalence de la résistance à cette molécule a diminué chez les *E. coli*, *Salmonella* et *Campylobacter* isolés au cours des trois premiers mois suivant l'intervention. Puis cet effet a disparu. Il en va de même dans une autre étude du même auteur, mettant en évidence une diminution de la multirésistance pendant 2 à 5 mois chez ces mêmes bactéries après retrait des antibiotiques contenus dans le lacto-remplacéur (tétracycline et néomycine), puis une disparition de cet effet survient là encore (KANEENE *et al.*, 2009). Ces observations soulignent l'intervention probable d'autres facteurs de risque d'apparition d'antibiorésistance chez ces germes.

4.3.3. Autres méthodes de lutte envisagées

Dans le but de réduire l'utilisation des antimicrobiens et donc le risque de sélection de germes résistants, différentes alternatives ont été évaluées. Les plus importantes reposent sur la gestion des facteurs de risque que nous avons déjà détaillés. Ensuite, des méthodes de lutte médicale préventive sont possibles, avec en premier lieu la vaccination des mères contre les agents impliqués dans les diarrhées néo-natales, conférant ainsi une protection colostrale à leurs veaux. Enfin, de façon plus anecdotique, d'autres méthodes de lutte médicales ont été envisagées par des équipes de chercheurs.

Le principal axe thérapeutique envisagé repose sur l'utilisation de la phytothérapie. Plusieurs essais semblent concluants. Ainsi, BAMPIDIS *et al.* (2006) n'ont mis en évidence aucune différence d'efficacité entre un traitement à base de feuilles d'origan séchées et un traitement à base de néomycine lors de trente cas de colibacillose, que ce soit concernant la durée ou la sévérité de la diarrhée, ou encore la mortalité observée. Des extraits de thé vert ont aussi démontré un effet bénéfique sur l'équilibre de la flore digestive. En effet, les veaux en recevant voient leurs *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* digestifs décroître plus lentement que les veaux non traités au cours de leurs premières semaines de vie, tandis que le nombre de *Clostridium perfringens* décroît plus vite. L'incidence des diarrhées se trouve également réduite dans le groupe traité (ISHIHARA *et al.*, 2001). D'autres plantes comme *Morinda citrifolia* auraient un effet modulateur sur le système immunitaire du veau, avec une augmentation progressive de l'activité bactéricide sur *E. coli* jusqu'à obtenir une différence significative entre le groupe témoin et le groupe traité après 14 jours d'administration biquotidienne (SCHAFER, *et al.*, 2008). Des dérivés de l'apiculture pourraient aussi présenter une activité bactéricide bénéfique (RADOI *et al.*, 2007). Cependant de nombreuses études concernant la phytothérapie ne se basent que sur quelques cas et n'opposent pas leur résultats à ceux obtenus pour des lots témoins. Il est donc difficile d'en tirer des conclusions claires.

Un autre axe envisagé repose sur l'utilisation du complexe lactoferrine-système lactopéroxydase. Ces molécules sont des protéines naturellement présentes dans le lait et les sécrétions et dont le pouvoir antibactérien est bien identifié. Pour cela, la lactoferrine se fixe sur les germes Gram négatifs, dépolymérisant le LPS. Elle inhibe aussi la croissance des bactéries Gram positives. La lactopéroxydase s'associe à différents substrats pour former des agents oxydants, à activité antimicrobienne non spécifique, dirigée non seulement contre les bactéries, mais aussi contre les virus, les champignons ou les levures. L'avantage majeure de ces substances repose sur l'absence de développement et de sélection de résistance.

L'administration de telles substances au veau diarrhéique non bactériémique pourrait progressivement remplacer l'utilisation des molécules antibiotiques, puisque nous avons vu que l'utilisation de ces dernières en l'absence d'atteinte générale sévère du veau était très discutable (DAVAL, 2010).

Ainsi les taux de résistance chez *E. coli* varient beaucoup d'une molécule antibiotique à une autre, allant de moins de 1 à plus de 80 % selon les familles. Les taux varient aussi en fonction de l'origine humaine ou animale des souches considérées, mais dans les deux cas, leur évolution au cours des dernières années est plutôt à la hausse. Ces résistances peuvent se transférer de l'animal à l'Homme, faisant de l'antibiorésistance un problème majeur de santé publique vétérinaire. En effet, les antibiotiques dits « critiques » sont les dernières armes dont nous disposons contre certaines maladies humaines graves. Ainsi leur utilisation en médecine vétérinaire est aujourd'hui très discutée, du fait du risque d'émergence et de sélection de souches résistantes associé. Afin de ralentir, stopper voire inverser l'évolution observée, une réduction globale de la consommation en antibiotique est à envisager, qu'ils soient considérés comme critiques ou non. Cette évolution des pratiques, déjà en cours en médecine vétérinaire, doit être associée à des mesures préventives, telles qu'une meilleure gestion des conditions d'élevage, ainsi qu'au développement de traitements alternatifs.

CONCLUSION :

Les gastro-entérites des veaux nouveau-nés sont des affections plurifactorielles. Plusieurs agents pathogènes sont désormais clairement identifiés, les principaux étant les Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium parvum* et *Escherichia coli*. Des facteurs environnementaux et nutritionnels peuvent aussi déclencher ou aggraver les symptômes. En particulier, un défaut d'hygiène de l'environnement des veaux et un défaut de transfert colostral d'immunité passive entraînent une augmentation de la morbidité et de la mortalité dans les élevages.

Ce caractère plurifactoriel et l'association possible des agents pathogènes, par ailleurs retrouvés chez certains veaux sains, rendent l'établissement d'un diagnostic étiologique impossible sans avoir recours à des analyses, au chevet du malade ou en laboratoire.

Cependant, quel que soit l'élément causal de la maladie, le traitement passe tout d'abord par la réhydratation des veaux atteints et le rétablissement des différents équilibres sanguins (équilibres électrolytique, acido-basique, et glycémie principalement). Un traitement étiologique peut aussi lui être associé dans les cas d'infection bactérienne, avec l'utilisation d'antibiotiques. Une utilisation préventive est également possible, l'atteinte digestive entraînant une perturbation de la flore intestinale, ce qui s'accompagne d'un risque de surinfection et notamment de septicémie par le développement de germes pathogènes. Mais dans un contexte d'accroissement constant des résistances observées chez les germes animaux, chaque utilisation de molécules antimicrobiennes doit être précautionneusement évaluée.

Bien que des recherches de traitements alternatifs soient en cours, aucun n'est disponible à grande échelle. Seules les mesures préventives permettent de réduire l'incidence des diarrhées et donc l'utilisation d'antibiotique chez les veaux nouveau-nés, sujet éminemment d'actualité dans le contexte actuel. Une attention particulière doit être portée au logement et à la gestion de la période péripartum, avec en particulier une surveillance accrue de la qualité du transfert d'immunité passive au veau.

Un suivi de l'apparition et de la dissémination des résistances bactériennes est aussi nécessaire, afin d'adapter au mieux les molécules utilisées, dans un souci d'efficacité mais aussi et surtout de santé publique vétérinaire.

DEUXIEME PARTIE : étude expérimentale

1. Introduction

Le veau nouveau-né est très exposé aux nombreux agents pathogènes, présents dans l'environnement ou hébergés par ses congénères. De nombreux facteurs environnementaux peuvent également augmenter la probabilité de survenue de diarrhée/septicémie, par une augmentation de l'exposition ou de la sensibilité du veau. La lutte à mettre en place dépend du ou des agents pathogènes impliqués ainsi que des facteurs favorisants. Il sera donc essentiel d'identifier ces différents éléments pour mettre en place les mesures curatives et préventives nécessaires.

Escherichia coli reste l'un des principaux agents impliqués dans les diarrhées/septicémies des veaux de moins d'une semaine. Bien qu'un traitement spécifique existe, son utilisation n'est bien souvent pas suffisante, puisque la lutte contre la déshydratation et les différents déséquilibres sanguins associés sont l'élément thérapeutique le plus essentiel à la survie du veau malade. Un tel traitement antimicrobien n'est pas non plus sans conséquence, puisqu'il augmente le risque de voir émerger des résistances bactériennes. Celles-ci peuvent parfois être transmises aux germes de la flore commensale du tube digestif, qui devient alors un réservoir de tels gènes. Ces derniers pourront ensuite être transmis à des germes pathogènes, rendant la lutte contre ceux-ci beaucoup plus difficile. Ces gènes peuvent aussi se transmettre jusqu'à causer l'apparition de nouvelles résistances chez les germes humains, expliquant l'enjeu majeur que constitue l'utilisation des antibiotiques chez les animaux, en particulier concernant les dernières générations (en particulier céphalosporines de troisième et quatrième générations et les fluoroquinolones).

Cette étude a pour but de caractériser les *Escherichia coli* impliqués dans les diarrhées/septicémies des veaux de moins de huit jours, et d'en étudier les profils d'antibiorésistance. L'implication des autres principaux agents pathogènes ou de certains facteurs de risque a également été recherchée.

2. Matériels et méthodes

L'élaboration du protocole et du financement de l'étude ont été mis au point et discutés au cours de plusieurs réunions par les représentants de chacune des structures engagées dans l'étude : le Groupement Technique Vétérinaire de l'Allier (GTV03), le laboratoire Eurofins – Cœur de France, le laboratoire Merial et l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA). Les détails du protocole et du financement sont présentés respectivement en Annexe 1 et 2.

2.1. Recrutement des vétérinaires préleveurs

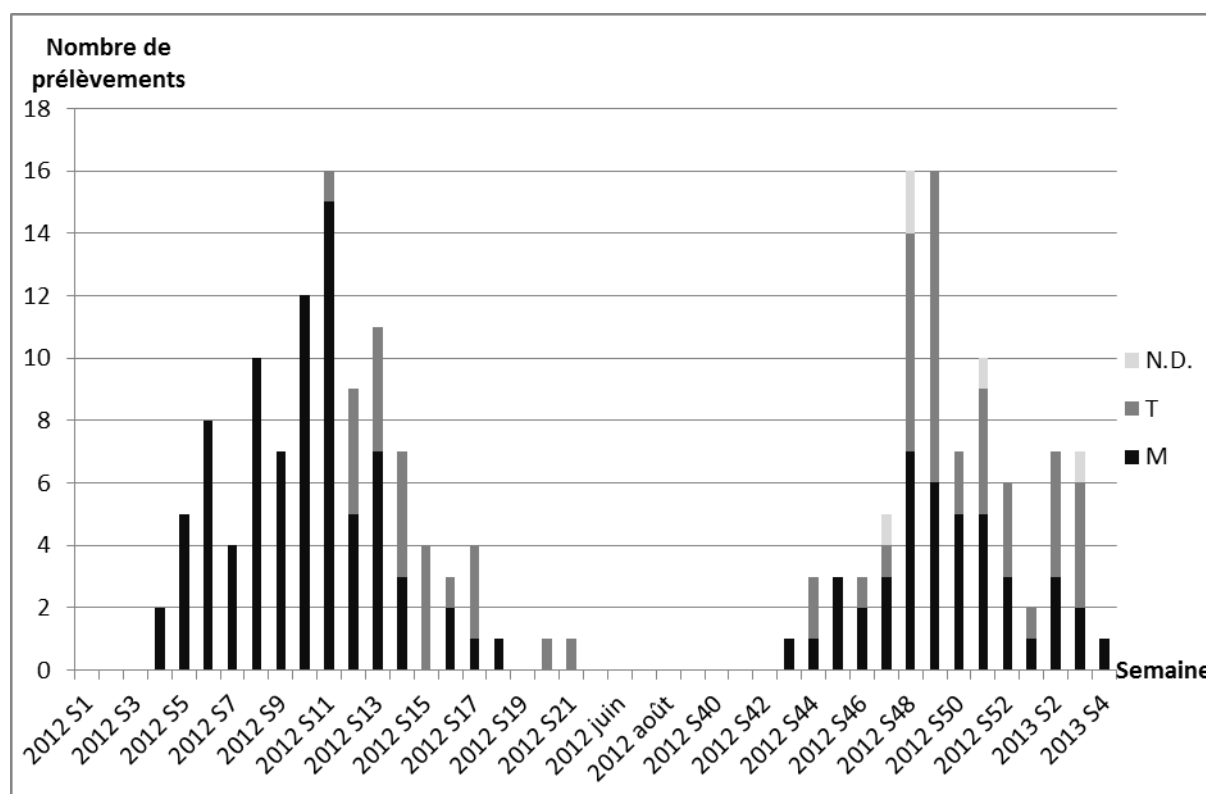
Cette étude a nécessité la réalisation de prélèvements chez des veaux atteints de diarrhée/septicémie (M pour malade) et chez des veaux sains (T pour témoin). Pour cela, lors de l'assemblée générale du GTV 03 en Novembre 2011, les vétérinaires ont été recrutés sur la base du volontariat parmi les adhérents. Treize cabinets vétérinaires se sont ainsi engagés à participer, et quatre autres ont accepté de réaliser quelques prélèvements.

2.2. Choix des élevages impliqués et des veaux prélevés

2.2.1. Périodes de prélèvements

La période de prélèvement a été fixée initialement entre le 15 décembre 2011 et le 31 mars 2012 ou le 30 avril si besoin. Pour des questions d'organisation, le premier prélèvement a été effectué le 22 janvier 2012. L'intervalle de temps prévu n'ayant pas permis de réaliser l'ensemble des prélèvements, la période a été allongée. Ainsi pour la saison 2011/2012, le dernier prélèvement a été réalisé le 18 mai 2012. À cette date, la totalité des prélèvements envisagés n'était pas encore effectuée. Il a alors été décidé de renouveler les prélèvements sur la saison de vêlage 2012/2013, débutant dès octobre 2012 et se terminant le plus tôt possible. Le premier échantillon de cette nouvelle période a été obtenu le 23 octobre 2012, et le dernier date du 22 janvier 2013, lorsque le nombre total de prélèvements approchait celui visé. La Figure 16 ci-après illustre la fréquence des prélèvements au cours des deux périodes, et en fonction du statut des veaux.

Figure 16 : Nombre de prélèvements réalisés en fonction de la semaine et du statut des veaux



Légende : N.D. : veaux prélevés au statut indéterminé ; T : témoins ; M : malades.

On observe pour les deux années une courbe de type courbe de Gauss, avec un pic de fréquence de prélèvement en Mars 2012 et fin novembre – début décembre 2012.

2.2.2. Choix des élevages et des veaux

Tous les élevages inclus dans l'étude sont situés dans le département de l'Allier. Les critères d'inclusion des élevages reposent ensuite sur le statut du veau qui y est prélevé. On se limite cependant à deux veaux maximum par élevage et par saison de prélèvement, quel qu'en soit le statut. Pour le choix des veaux, l'âge est le premier critère d'inclusion dans l'étude. En effet, ceux-ci doivent avoir entre zéro et huit jours d'âge. L'autre critère retenu porte sur leur statut malade ou sain, sachant que seuls les animaux n'ayant pas reçu de traitement antibiotique préalable sont prélevés.

2.2.2.1. Groupe des veaux malades

Les veaux prélevés sont inclus dans le groupe des malades si le vétérinaire préleveur observe chez eux des signes d'entérite et/ou de septicémie lors du prélèvement.

2.2.2.2. Groupe des veaux témoins

Outre les critères d'âge et d'absence de traitement antibiotique, les veaux de ce groupe doivent également ne pas présenter de signe clinique évocateur d'entérite ou de septicémie. De plus, ces veaux doivent être dans un élevage indemne de diarrhée lors de la saison de vêlage en cours. Dans l'idéal, ces élevages ne doivent pas non plus avoir eu de veau diarrhéique lors de la saison de vêlage précédente. Il a cependant été difficile de trouver des veaux témoins répondant à tous ces critères. Ceci s'observe sur la Figure 16 ci-dessus, et sur

laquelle on voit que les prélèvements de veaux témoins ont été tardifs et peu fréquents au cours de la première saison. Les critères ont donc été revus en cours de campagne de prélèvement. Ainsi, les veaux prélevés devaient être sains, dans un élevage sans problème de diarrhée déclaré lors de la saison en cours et de la saison précédente, tout en privilégiant ceux n'ayant eu que peu de cas les années antérieures.

2.3. Prélèvements réalisés

2.3.1. Types de prélèvements réalisés

Quel que soit le groupe du veau prélevé (malade ou témoin), les prélèvements réalisés étaient identiques.

Tout d'abord des fèces étaient prélevées sur chaque veau, directement dans le rectum ou juste après leur émission. Les pots étiquetés selon un modèle défini (inséré en Annexe 3) devaient être conservés entre +2 et +8 °C dans l'attente de leur envoi au laboratoire.

Chaque veau se voyait aussi prélever 5 mL de sang par ponction jugulaire afin d'évaluer la qualité du transfert d'immunité colostrale. Cependant, nous avons vu que l'absorption digestive était possible pendant les 36 premières heures de vie du veau. Ainsi, pour que le résultat représente véritablement la qualité du transfert, le prélèvement devait se faire chez les veaux de deux jours ou plus. Si le veau à inclure dans l'étude était âgé de moins de 48 heures, seules les fèces étaient récoltées. Le vétérinaire préleveur devait alors revenir dans l'élevage une fois que ce veau atteignait cette limite d'âge pour effectuer le prélèvement sanguin.

L'ensemble des prélèvements, conservés sur tube sec, étaient à adresser au laboratoire participant à l'étude : Eurofins Laboratoire Cœur de France. Les deux types de prélèvements, associés à une feuille de commémoratifs (Annexe 4 et Annexe 5), devaient parvenir au laboratoire en moins de 48 heures, selon plusieurs modalités :

- dépôt par le vétérinaire préleveur directement ;
- ramassage par la navette du GDS, dont le jour dépend du cabinet préleveur ;
- ramassage par une navette et sur appel du laboratoire, les frais de ramassage étant alors prélevés sur le budget de l'étude.

2.3.2. Nombre de prélèvements réalisés

L'objectif était de réaliser 140 prélèvements de veaux malades et 70 de veaux sains, utilisés comme témoins.

Au cours de la première saison de prélèvement, 110 veaux ont été inclus dans l'étude, répartis en 87 malades (79,1 %) et 23 témoins (20,9 %). Ils appartiennent à 105 élevages, puisqu'un seul veau a été prélevé dans 100 élevages, et que 2 veaux ont été prélevés dans 5 élevages.

La deuxième saison, il a été prélevé 87 animaux, avec 43 veaux malades (49,4 %), 39 veaux témoins (44,8 %) et 5 veaux (5,7 %) dont le statut n'a pas pu être déterminé. Ceci est dû à l'absence d'information pour 2 de ces veaux, et par incohérence avec les résultats de l'année précédente. En effet, les 3 autres veaux étaient notés témoins alors qu'ils appartenaient à des élevages dans lesquels des veaux malades avaient été prélevés la saison précédente. Leur statut étant donc douteux, il a été noté comme non déterminé (N.D.) pour les analyses statistiques. Pour la deuxième saison uniquement, 80 élevages ont été visités, avec 73 élevages où un seul veau a été prélevé et 7 élevages où deux veaux l'ont été.

Sur l'ensemble de l'étude, 178 élevages ont participé, avec sur les deux saisons entre 1 et 4 veaux prélevés par élevage. Un total de 197 veaux a donc été prélevé. Le Tableau 10 ci-après donne le détail du nombre de veaux prélevés par élevage.

Tableau 10 : Nombre de veaux prélevés par élevage

Nombre de veaux prélevés dans l'élevage	Nombre d'élevages concernés
1 veau	165
2 veaux	8
3 veaux	4
4 veaux	1

2.4. Analyses réalisées sur le sang : dosage des IgG1

Le dosage des IgG1 dans le sang des veaux prélevés a été fait par la technique d'immunodiffusion radiale déjà décrite dans la partie portant sur l'évaluation de la qualité colostrale. Les kits BOV IgG1 Test® (IDBiotech) sont utilisés au laboratoire.

Les séra étant conservés par congélation jusqu'à la réalisation de l'analyse, ils sont ramenés à une température de 30 °C. Ils sont ensuite dilués à 1/200 à l'aide d'une solution tampon, constituée d'un mélange de tampon phosphate salin et de 1 % de sérum de lapin.

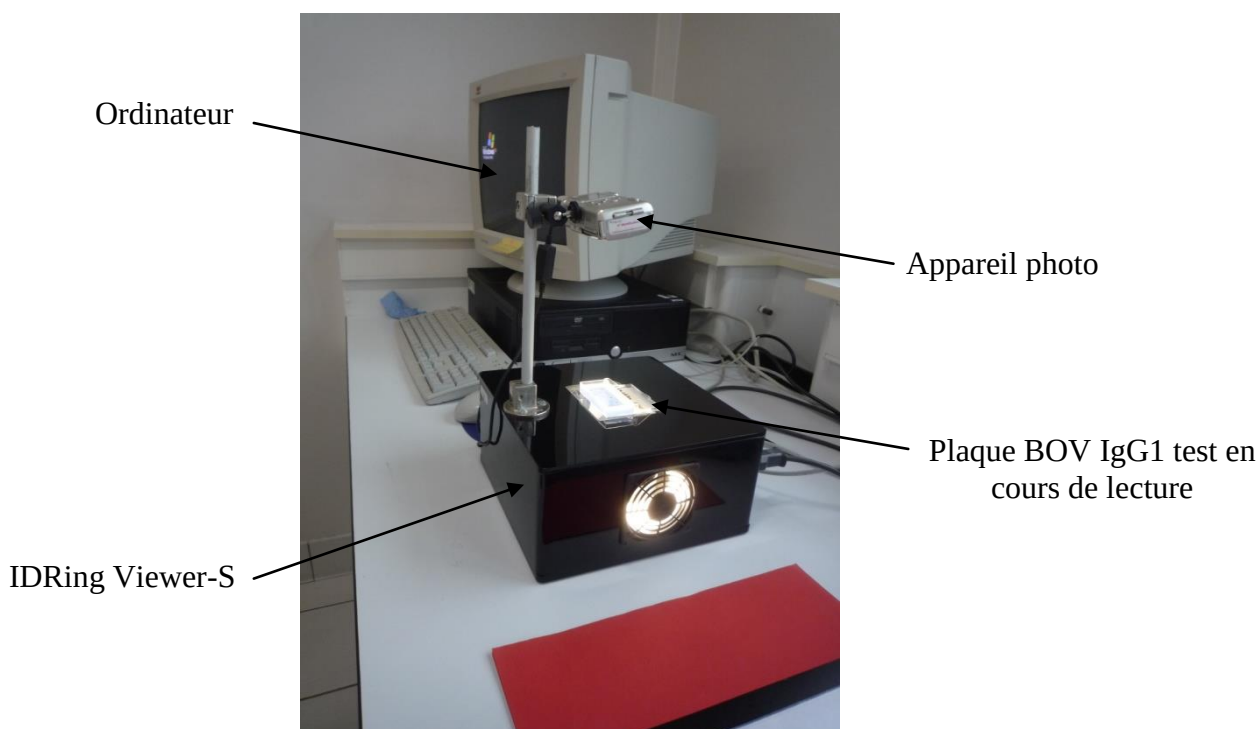
Des plaques IDRing® plates ont été utilisées, celles-ci comprenant 10 puits par plaque. Chaque puits numéroté de 1 à 4 reçoit 15 µL d'un des quatre standards fournis, dont les concentrations en IgG1 bovines sont décroissantes (respectivement 200, 100, 50 et 25 µg/mL). Les six puits suivants sont remplis de 15 µL des différents échantillons à tester. Ce test étant réalisé une fois par semaine, il pouvait arriver que le nombre d'échantillons à tester soit trop faible pour remplir tous les puits. Dans ce cas, de l'eau distillée était déposée en même quantité dans les puits restants.

Le couvercle de la plaque est remis en place avant la mise en incubation dans une chambre humide à 35 ± 5 °C pendant au moins 16 heures. De façon pratique, ces manipulations sont faites le mardi après-midi, l'incubation se faisant jusqu'au lendemain matin.

Le mercredi, les étapes nécessaires à la révélation sont réalisées le matin. Cela comprend le recouvrement des plaques avec une solution d'acide acétique à 2 % pendant 1 minute à température ambiante. Cette solution est ensuite jetée, et l'étape est répétée avec le recouvrement par de l'eau distillée pendant 10 à 15 minutes, toujours à température ambiante. Les cercles de précipitations deviennent alors apparents.

La lecture se fait à l'aide du lecteur de plaque IDRing Viewer-S® (IDBiotech). Ce dispositif, représenté sur la Figure 17 ci-après, comprend une face transparente, sur laquelle la plaque est posée. La présence de diode à l'intérieur du dispositif permet l'éclairage des plaques. Un appareil photo disposé à l'aplomb de la plaque analysée permet de transférer une image de la plaque sur un ordinateur. Les mesures de diamètre se font alors grâce au logiciel IDRing Meter. Le manipulateur doit cliquer sur le centre des puits numéro 1 et 10, l'ordinateur dessinant alors les autres centres. Il analyse ensuite le diamètre des cercles de précipitation, et dessine des cercles qui doivent leur être superposés. En cas de divergence entre ces deux cercles, le manipulateur peut rectifier le dessin.

Figure 17 : Dispositif de lecture des plaques d'immunodiffusion radiale



Légende : la plaque est positionnée sur l'IDRing Viewer-S, qui permet un éclairage par le dessous et la réalisation d'une photographie de la plaque. Celle-ci est ensuite analysée par le logiciel IDRing Meter qui mesure automatiquement les diamètres obtenus et donne un résultat en g/L.

Le logiciel permet d'assurer la validation du test. Ceci implique que la courbe de calibration présente un coefficient de corrélation r supérieur ou égal à 0,990. Dans ce cas, les résultats sont rendus pour chaque puits sous la forme d'une concentration en IgG1 exprimée en g/L, le coefficient de dilution étant déjà pris en compte dans le calcul. Lorsque les diamètres des cercles des puits contenant des échantillons sortent de ceux compris dans la gamme étalon, le logiciel affiche le message [OUT], à savoir [OUT-] lorsque le diamètre était trop petit et [OUT+] lorsqu'il était trop grand par rapport à la gamme. Ainsi pour le sérum, la valeur mesurable minimale est de 5 g/L tandis que la maximale est de 40 g/L. Pour l'analyse des résultats, des données chiffrées étaient nécessaires. Ainsi, les taux inférieurs à 5 g/L ont été notés comme égaux à 5 g/L, et ceux supérieurs à 40 comme égaux à 40 g/L.

2.5. Analyses réalisées sur les fèces

2.5.1. Virologie : recherche d'antigènes de rotavirus et de coronavirus par ELISA

Cette analyse se fait à l'aide du kit ELISA Pathasure® Enteritis (Biovet), qui permet de détecter les rotavirus, les coronavirus et les *E. coli* F5 dans les fèces de bovins. Dans notre étude, puisque la recherche des *E. coli* F5 est faite par bactériologie, seuls les deux virus sont recherchés, conformément aux instructions fournies par le producteur du kit.

Le principe de ce test, présenté en Figure 18 ci-après, repose sur la détection d'antigènes de ces deux agents dans les fèces. Pour cela, chaque puits est tapissé d'anticorps spécifiquement dirigés contre les rotavirus, les coronavirus et les *E. coli* F5. En cas de présence d'un ou plusieurs de ces agents pathogènes dans les fèces testés, ceux-ci se fixent à ces anticorps spécifiques et ne sont pas éliminés par les rinçages successifs. Des anticorps dirigés contre ces

trois agents et couplés à une enzyme sont ensuite ajoutés, puis une nouvelle étape de rinçage a lieu pour éliminer les couples Ac-enzyme non fixés. On ajoute enfin les ligands enzymatiques. Le plan d'une plaque type est présenté par la Figure 19 ci-dessous.

Figure 18 : Schéma des différents composants et des différentes réactions survenant lors de la réalisation d'un test ELISA en sandwich

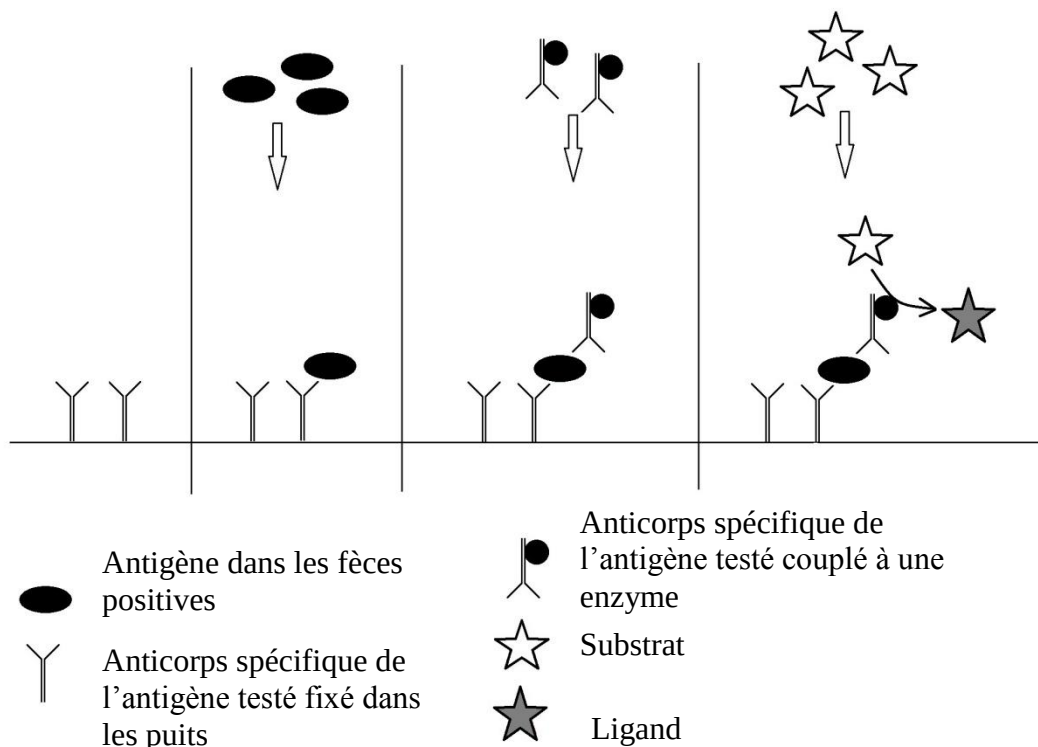


Figure 19 : Représentation du résultat obtenu pour le test de 6 échantillons testés pour rotavirus et coronavirus à l'aide du kit ELISA Pathasure® Enteritis (Biovet)

	1	2	3	4	5	6	7
A	●	●	○	○	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○	○
C	●	○	○	○	○	○	○
D	○	●	○	○	○	○	○
E	●	●	○	○	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○	○
G	○	●	○	○	○	○	○
H	○	○	○	○	○	○	○

Légende :

Colonne 1 : recherche de rotavirus

Colonne 2 : recherche de coronavirus

A : témoins positifs

B : témoins négatifs

C : échantillon positif pour rotavirus

D : échantillon positif pour coronavirus

E : échantillon positif pour rotavirus et coronavirus

F : échantillon négatif pour rotavirus et coronavirus

G : échantillon faiblement positif pour coronavirus

H : échantillon négatif pour rotavirus et coronavirus

Si les fèces contenaient les agents recherchés, ceux-ci, restés fixés au fond des puits, captent à leur tour les anticorps couplés à l'enzyme. Celle-ci n'est pas éliminée par les nettoyages, et la réaction peut se faire lors de l'ajout du ligand. Un substrat coloré est alors formé, ce qui

permet de révéler la réaction. Comme présenté par la Figure 19, si un prélèvement donne une coloration bleue plus foncée que le témoin négatif, il sera considéré comme positif. À l'inverse, si le puits reste incolore ou prend une coloration bleue plus pâle que le témoin négatif, l'échantillon est considéré comme négatif.

Le rapport d'analyse donne alors la réponse « positif » ou « négatif » au vétérinaire. De plus, au laboratoire, lorsque la coloration est plus soutenue que celle du témoin négatif, mais beaucoup moins que celle du témoin positif, le résultat donné est « positif faible ». Cette notion, bien que subjective, peut aider le vétérinaire dans sa démarche diagnostique. Pour l'analyse statistique des résultats de cette étude, nous avons regroupé les résultats positifs et positifs faibles.

2.5.2. Parasitologie : recherche d'ookystes de cryptosporidies

Les ookystes de *Cryptosporidium* sont recherchés dans les fèces selon la méthode de Naciri (NACIRI, 1994), qui permet un dénombrement semi-quantitatif. Cette méthode repose sur une technique de flottaison sur lame au saccharose.

La solution dense de saccharose utilisée peut être achetée ou fabriquée. Elle doit avoir une densité au moins égale à 1,27. Une goutte de cette solution est déposée sur une lame de microscope. Après homogénéisation du prélèvement, on dépose sur la même lame une goutte de fèces, les deux liquides devant être en quantités similaires. Ils sont ensuite mélangés avec le bout de la pipette, et une lamelle est déposée dessus, pour une observation microscopique immédiate.

L'observation doit se faire avec l'objectif $\times 25$. À ce grossissement, les ookystes de *Cryptosporidium* sont rosés et contiennent une à quatre granulations sombres, qui sont les sporozoïtes. Cette coloration caractéristique permet de les distinguer des levures. La Figure 20 ci-après représente l'observation d'un champ contenant trois ookystes. Aux grossissements supérieurs, les sporozoïtes sont plus facilement distinguables, mais la coloration disparaît. Les résultats sont donc obtenus par observation au grossissement $\times 25$ d'après la méthode de référence.

Figure 20 : Photographie d'un champ de microscope au grossissement 25, permettant l'observation de trois ookystes dans un prélèvement de fèces d'un veau malade (photographie personnelle)



Ainsi, il faut compter le nombre d'ookystes observés par champ, sur environ 10 champs microscopiques. Une moyenne du nombre d'ookystes par champ permet de rendre un résultat semi-quantitatif sous forme de score :

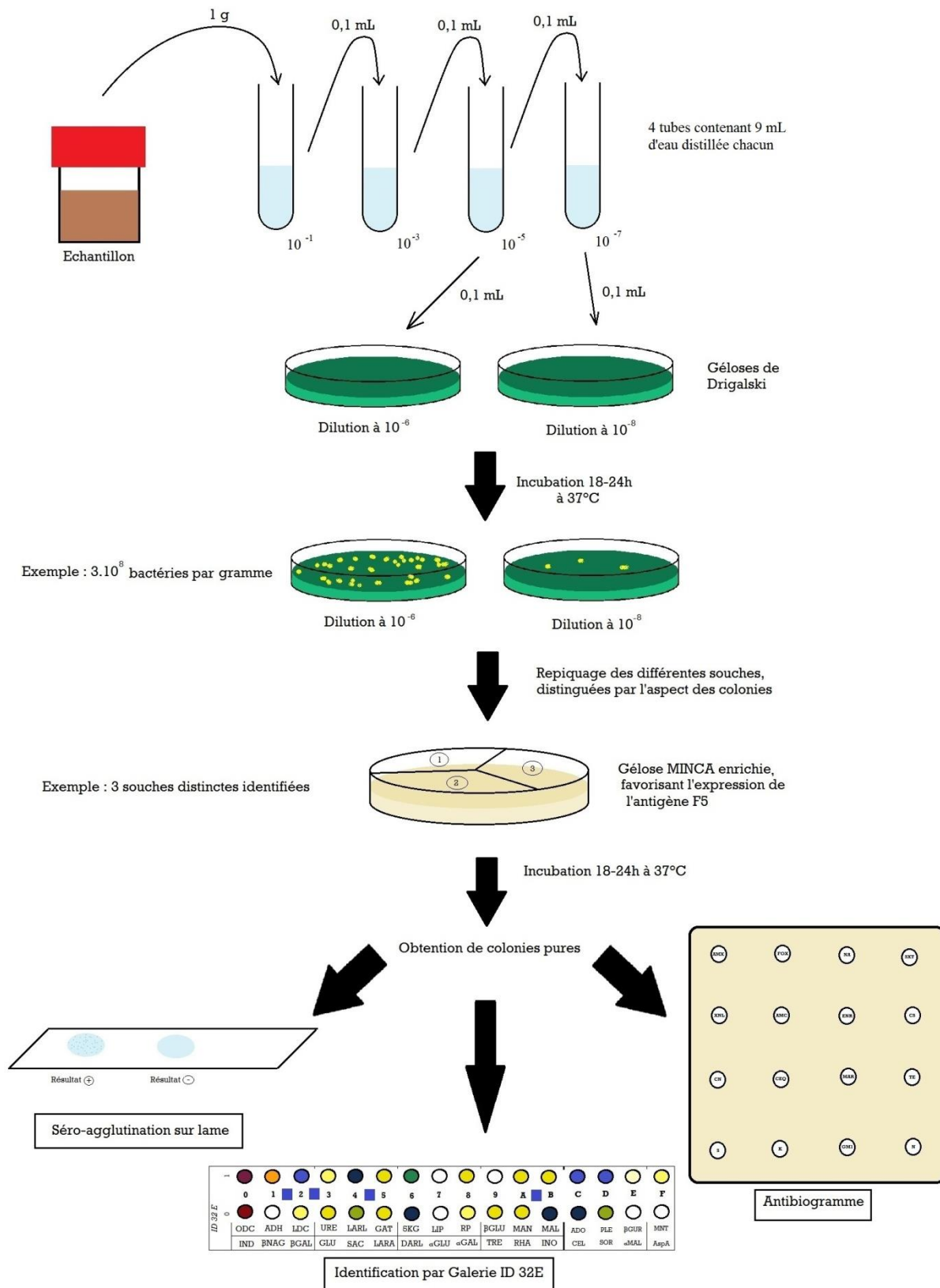
- score 0 : aucun ookyste vu par champ ;
- score 1 : moins de 1 ookyste par champ ;
- score 2 : 1 à 5 ookystes par champ ;
- score 3 : 6 à 10 ookystes par champ ;
- score 4 : 11 à 20 ookystes par champ ;
- score 5 : plus de 20 ookystes par champ.

2.5.3. Bactériologie

2.5.3.1. Dénombrement des *E. coli*

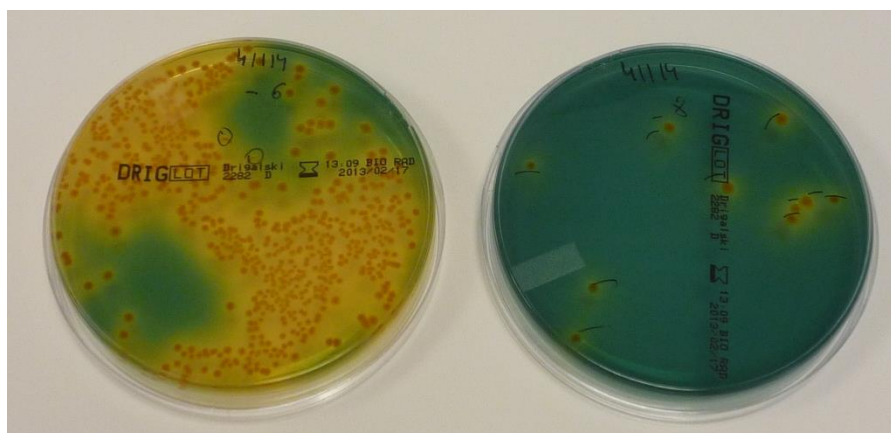
La dilution des fèces conduit à mélanger 1 g de l'échantillon reçu à 9 mL d'eau distillée stérile. Après homogénéisation, 0,1 mL de la solution obtenue est versée dans un nouveau tube de 9 mL d'eau distillée pour atteindre une dilution à 10^{-3} . Cette nouvelle dilution est de nouveau prélevée de 0,1 mL et incorporée à un nouveau tube de 9 mL d'eau distillée stérile. On obtient donc une dilution à 10^{-5} . Cette dernière étape est renouvelée une fois (obtention d'une dilution à 10^{-7}). Ces deux tubes sont utilisés pour ensemercer deux géloses de Drigalski (Biorad®), en versant 0,1 mL sur les milieux gélosés. Les deux géloses correspondent donc à des dilutions de 10^{-6} et 10^{-8} . Le comptage des colonies formées se fait après une incubation de 18 à 24 heures à 37 °C. L'ensemble de cette démarche est représentée sur la Figure 21 ci-après.

Figure 21 : Schéma représentant les différentes étapes réalisées en bactériologie sur les fèces d'un veau (schéma personnel)



La prise en compte de la dilution réalisée permet de connaître le nombre moyen d'*E. coli* par gramme de fèces, comme sur la Figure 22 ci-dessous.

Figure 22 : Photographie des gélises de Drigalski ensemencées avec les solutions des dilutions 10^{-6} (à gauche) et 10^{-8} (à droite), le résultat lu sur la gélise à 10^{-8} étant de 10 colonies soit une concentration de 1.10^9 colonies / g de fèces (photographie personnelle)



2.5.3.2. Identification des *E. coli*

Comme représenté sur la Figure 21, l'identification des colonies se faisait à partir de la gélise de Drigalski utilisée pour le dénombrement. S'il existait des colonies d'aspects différents, plusieurs identifications étaient réalisées. Cependant, pour des raisons de coût, nous nous sommes limités à trois souches par veau. Ainsi étaient prélevées les souches appartenant aux trois colonies visuellement distinctes les plus représentées.

Une colonie de chacune des trois sortes retenues était alors repiquée sur une gélise MINCA, pour favoriser l'expression de l'antigène F5, coulée au laboratoire selon les recommandations de fournisseur (Indicia).

Les colonies pures ainsi obtenues ont été identifiées en utilisant les galeries mini-API ID 32E® (BioMérieux), en suivant les instructions fournies par le fabricant.

L'appareil de lecture MiniAPI® (BioMérieux) était utilisé pour la lecture des galeries, et fournissait les principales espèces pouvant correspondre et le pourcentage de probabilité d'être face à chacune d'elle, comme présenté sur la Figure 23 ci-dessous.

Figure 23 : Bordereau fourni par le lecteur MiniAPI® (BioMérieux) après analyse d'une galerie réalisée à partir de l'une des trois souches d'un veau diarrhéique (photographie personnelle)

```

Références 41470.1
Profil: 5 4 4 6 5 7 4 3 0 2 0
ID 32 E          V3.0 : EXCELLENTE IDENTIFICATION

Esch.coli          %id= 99.9 T= 0.82
AGUR 90%
CHOIX SUIVANT
Salm.choler.arizonae %id= 0.1 T= 0.15
ADH 91% IND 1% SAC 2% MNT 100%
23/11/2012
    
```

Seules les souches d'*E. coli* étaient ensuite prises en compte dans notre étude.

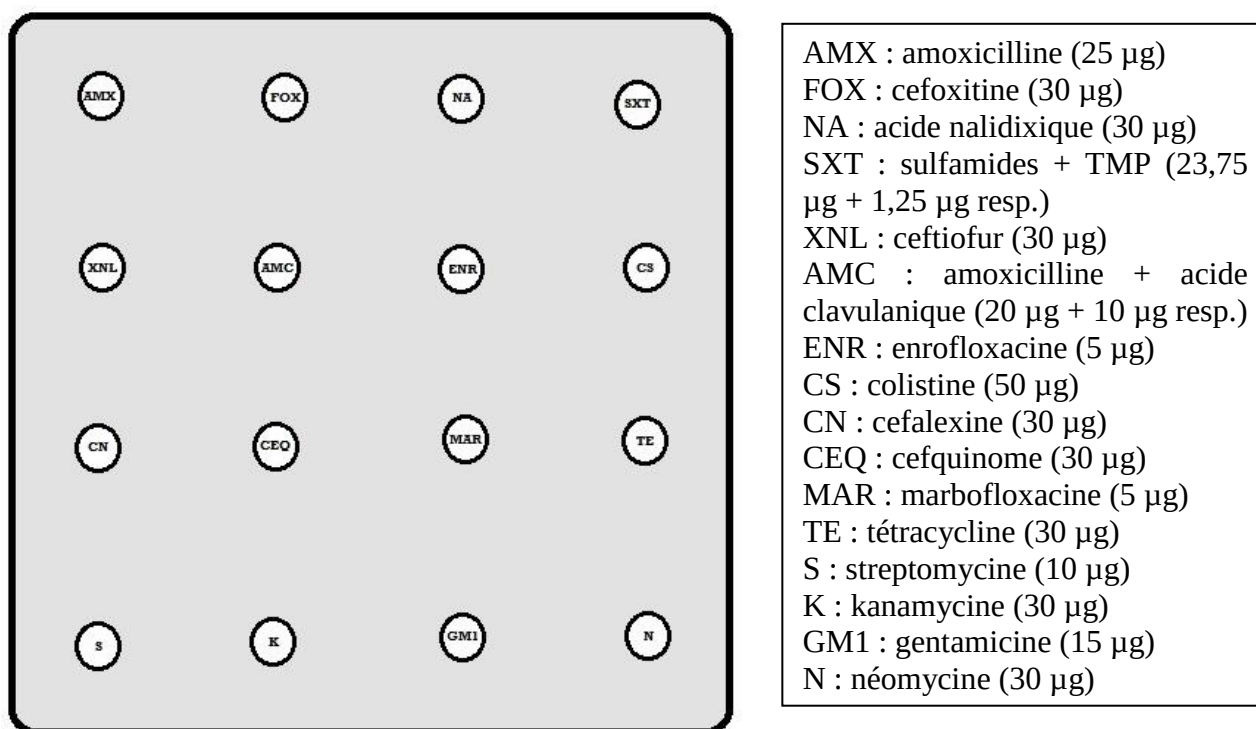
2.5.3.3. Typage des *E. coli*

Une fois l'identification réalisée, les souches d'*E. coli* étaient typées par séro-agglutination sur lame. Pour cela, une goutte d'un antisérum dirigé contre les antigènes CS31A, F5, F17 et F41 était déposée sur une lame. Une colonie pure était prélevée et mélangée dans la goutte d'antisérum. L'observation directe sur fond noir permettait de conclure quant à la formation d'agglutinats. En cas de doute, une observation au microscope était possible.

2.5.3.4. Réalisation d'antibiogrammes

Conformément aux recommandations du CA-SFM, la sensibilité à seize antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées sur la gélose MINCA enrichie était systématiquement testée. Pour cela, ces souches étaient diluées dans de l'eau distillée stérile, jusqu'à l'obtention d'une solution diluée à 0,5 MacFarland (correspondant à 10^6 UFC/mL). Selon la technique par inondation, cette solution était déversée sur une gélose de Mueller-Hinton achetée dans le commerce. Après s'être assuré que l'ensemble de la gélose avait été recouverte par la solution, le surplus était retiré par pipetage. Un séchage de quinze minutes à 37 °C était nécessaire avant d'appliquer les disques antibiotiques avec un distributeur de disques (fournis par Biorad, à l'exception de la cefquinome fournie par Oxoid). Les antibiotiques testés étaient ceux représentés sur la Figure 24 ci-dessous, qui donne aussi la charge de chaque disque en µg :

Figure 24 : Schéma d'une gélose de Mueller-Hinton sur laquelle les disques antibiotiques ont été déposés pour tester la sensibilité de la souche cultivée à ces antibiotiques



Notons dès à présent que l'acide nalidixique, molécule qui n'est plus disponible en thérapeutique, est utilisé pour mettre en évidence une baisse de sensibilité aux fluoroquinolones, la résistance survenant par paliers successifs (WOLFSON & HOOPER, 1985). Son résultat peut par ailleurs être extrapolé à la fluméquine et à l'acide oxolinique. La lecture était alors possible après une incubation de 18 à 24 heures à 37 °C. Les colonies devaient pour cela être confluentes et aucune contamination par une autre colonie ne devait

être observée. La mesure des diamètres d'inhibition était réalisée manuellement à l'aide d'un pied à coulisse électronique régulièrement étalonné. Les résultats étaient notés en millimètres, arrondi à l'entier le plus proche. L'observation d'une synergie en bouchon de champagne entre l'amoxicilline + acide clavulanique et le ceftiofur ou la cefquinome, caractéristique des BLSE, était aussi notée.

En ce qui concerne la colistine, nous avons vu que cette méthode ne permettait pas de conclure pour les souches présentant un diamètre d'inhibition compris entre 15 et 18 mm. La réalisation d'E-Test® (BioMérieux) a été nécessaire dans ces cas. Le résultat rendu par le laboratoire affichait tout de même le diamètre obtenu mais classait la souche comme sensible ou résistante au regard de la CMI obtenue.

Les résultats étaient donnés sous la forme d'un tableau, fournissant les diamètres mesurés pour chaque antibiotique testé, les diamètres critiques du CA-SFM et la conclusion quant au statut sensible, intermédiaire ou résistant de la souche considérée. De plus, des commentaires étaient ajoutés et comprenaient des conseils sur les molécules pouvant être utilisées ou non. Enfin, les profils de résistance particuliers tels que la production de BLSE ou d'oxacillinase étaient mentionnés dans cette conclusion.

2.6. Questionnaires

Afin de compléter cette étude, trois questionnaires ont été réalisés. Les différents acteurs de l'étude ont souhaité intégrer certains points tels que la gestion de la vaccination ou de l'alimentation au sein des élevages prélevés. Plusieurs questionnaires ont ainsi été élaborés. Tout d'abord, le questionnaire éleveur visait à décrire les principaux points de conduite d'élevage, dans le but de mettre en évidence des pratiques paraissant à risque. Plusieurs réponses étant assez subjectives, un questionnaire destiné au vétérinaire préleveur reprend certains des points du questionnaire éleveur, pour confronter leurs points de vue. Enfin, un questionnaire vétérinaire global investigate les pratiques générales des cabinets vétérinaires participants dans certains domaines majeurs.

Les vétérinaires, au moment du prélèvement, devaient laisser un exemplaire vierge du questionnaire les concernant aux éleveurs pour qu'ils préparent les questions nécessitant certains documents de suivi d'élevage. Ensuite, je les appelais pour y répondre avec eux, ce qui me garantissait l'obtention de réponses à l'exception des cas où je n'arrivais pas à joindre les éleveurs. De plus, cette méthode m'offrait la possibilité de clarifier certaines questions, permettant l'obtention de réponses plus justes et plus précises. Cependant, suite à des problèmes de communication avec les vétérinaires et à un manque de temps, cette procédure a été revue à la fin de la première saison de prélèvement. Pour la seconde saison, certaines questions ont été revues pour qu'elles soient mieux comprises, et les éleveurs devaient alors remplir le questionnaire laissé par le vétérinaire préleveur. Une fois remplis, l'ensemble de ces questionnaires ainsi que ceux remplis par les vétérinaires devaient être envoyés au secrétaire du GTV 03. Une fois centralisés, ils m'étaient envoyés pour lecture et exploitation.

2.6.1. Éleveur

Un questionnaire éleveur, inséré en Annexe 6, devait être rempli pour chaque veau prélevé et il comprend plusieurs parties :

- description de l'élevage : identification de l'élevage et du veau concerné, description de la taille de l'élevage et des ateliers qui le composent ;
- pratique de l'antibiothérapie et de l'antibioprévention dans l'élevage : molécules utilisées et leurs conditions d'utilisation ;
- hygiène du logement des veaux : fréquence et qualité du paillage ;
- gestion de la mise-bas : lieu consacré et fréquence des dystocies ;

- préparation des mères à la mise-bas : gestion de l'alimentation et des phénomènes infectieux (vaccination et lutte contre le parasitisme) ;
- gestion du transfert d'immunité passive : évaluation de la qualité et de la quantité de colostrum produit, gestion de la buvée colostrale.

Cependant les questions concernant l'hygiène restent assez subjectives. De plus, les éleveurs ont parfois eu du mal à décrire les modalités d'utilisation et les molécules antibiotiques administrées. Un questionnaire rempli en parallèle par le vétérinaire pour chaque veau prélevé a été élaboré en vue d'améliorer la précision et la véracité des réponses.

2.6.2. Questionnaires vétérinaires

Les vétérinaires devaient répondre à deux types de questionnaires dans cette étude. Le premier comportait des questions d'ordre général, sur les habitudes du vétérinaire préleveur en termes de gestion des malades et de pratiques thérapeutiques au sein des élevages du cabinet. Le second questionnaire était à remplir pour chaque veau prélevé, et portait sur les pratiques et les facteurs de risque identifiés dans l'élevage en question. Ces deux questionnaires sont insérés en Annexe 7. Les principaux axes abordés étaient :

- concernant la première partie reprenant les pratiques générales du vétérinaire préleveur face à une diarrhée néo-natale, les principaux points abordés étaient :

- ✓ Molécules antibiotiques utilisées et leurs voies d'administration ;
- ✓ Pratique de l'antibioprévention dans la clientèle ;
- ✓ Proportion de la clientèle exposée à des antibiotiques utilisés dans les troubles néonataux ;
- ✓ Prévention médicale classiquement mise en place dans les cheptels en fonction de la saison de vêlage ;
- ✓ Gestion du transfert d'immunité colostrale.

- le second questionnaire vétérinaire portant plus spécifiquement sur le veau inclus dans l'étude reprenait certaines des questions du questionnaire éleveur :

- Identification de l'élevage et du veau concerné ;
- Hygiène du logement des veaux ;
- Gestion de la mise-bas : lieu et fréquence des dystocies ;
- Gestion des veaux malades ;
- Prévention mise en place dans l'élevage : vaccination, déparasitage ;
- Vérification de la ration des vaches en fin de gestation ;
- Gestion du transfert d'immunité colostrale : évaluation de la qualité du colostrum et du transfert, utilisation de colostrum de complément.

2.7. Analyse statistique

L'ensemble des résultats des analyses de laboratoire étaient mis à disposition des instigateurs de l'étude. De même, chaque vétérinaire préleveur avait accès aux résultats de ses propres prélèvements. Par ailleurs, je recevais régulièrement les questionnaires collectés par le secrétaire du GTV 03 et les fiches commémoratives envoyées avec les prélèvements étaient scannées et m'étaient envoyées par e-mail par le laboratoire.

J'ai ainsi pu répertorier sous forme de plusieurs tableaux sous Excel (2010) l'ensemble de ces résultats d'analyse, dont un exemple de quelques lignes a été mis en Annexe 8. Les résultats étaient ainsi répertoriés par souche (en détaillant les caractéristiques de chaque souche isolée) ou par veau, ceci pour chaque année de prélèvement.

La réalisation des tests de Student, du Chi² ou de Fisher sur ces valeurs brutes s'est faite à l'aide d'un site de statistiques (COLLECTIF, 2013b) permettant un calcul automatisé par

simple saisie des données, ou du logiciel de statistique EpiInfo® 7.0 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2013).

Ce même logiciel de statistique a aussi été utilisé pour une analyse plus complète des résultats de laboratoire, et pour l'analyse des réponses aux questionnaires. Pour cela, suite à la lecture des questionnaires, j'ai créé un masque avec EpiData® 3.1 (BRUUS & LAURITSEN, 2008), les réponses les plus souvent retrouvées étant répertoriées. Cette version vierge reprenait ainsi l'ensemble des commémoratifs, des questions des questionnaires éleveur et vétérinaire propre à l'élevage ainsi que les résultats d'analyse de laboratoire. J'ai ensuite saisi les réponses pour chaque veau prélevé, en notant l'ensemble des informations dans les cases correspondantes et en laissant des cases vides pour les informations manquantes. Une fois l'ensemble des résultats saisis, ces données ont été exportées vers Excel®, sous forme d'un tableau comportant autant de colonnes que de réponses saisies (208 colonnes) et autant de ligne que de veaux prélevés (190 lignes). Ces données ont ensuite été appelées dans le logiciel de statistiques utilisé, EpiInfo® 7.0 (Centers for Disease Control and Prevention). Des analyses plus complètes d'association ont ainsi été possibles, avec la recherche de facteurs de confusion. J'ai également créé un tableau reprenant les communes de chaque prélèvement. La recherche des coordonnées GPS de chaque commune et le recours au logiciel EpiInfo® 7.0 m'a permis d'éditer une carte illustrant la répartition des échantillons en fonction de leur statut malade ou témoin.

3. Résultats

Les résultats de cette étude ont déjà été présentés à plusieurs occasions, et le seront de nouveau dans le futur. L'ensemble de ces communications sont détaillées en Annexe 9.

3.1. Prélèvements réalisés

3.1.1. Nombre de prélèvements par cabinet

Le nombre total de veaux inclus dans l'étude étant fixé, il a été divisé par le nombre de cabinets impliqués, pour une distribution équitable. Chaque cabinet devait ainsi prélever 11 à 12 veaux malades et 5 à 6 veaux témoins. Selon les structures, un vétérinaire (celui présent à l'assemblée générale et ayant accepté de participer) ou plusieurs se sont impliqués dans la réalisation de ces prélèvements. Le nombre de prélèvements effectivement réalisés par chaque cabinet est présenté par le Tableau 11 ci-dessous :

Tableau 11 : Nombre de prélèvements inclus dans l'analyse des agents pathogènes réalisés par chaque cabinet et pour chaque statut, avec en grisé les cabinets ne s'étant engagés que sur quelques prélèvements

Veaux inclus			
	Malades	Témoins	Total
Cabinet engagé n°1	10	0	10
Cabinet engagé n°2	10	7	17
Cabinet supplémentaire n°1	0	1	1
Cabinet engagé n°3	11	6	17
Cabinet engagé n°4	7	2	9
Cabinet engagé n°5	12	3	15
Cabinet engagé n°6	9	6	15
Cabinet engagé n°7	10	6	16
Cabinet engagé n°8	8	6	14
Cabinet engagé n°9	10	5	15
Cabinet supplémentaire n°2	4	0	4
Cabinet engagé n°10	11	4	15
Cabinet supplémentaire n°3	1	0	1
Cabinet supplémentaire n°4	0	1	1
Cabinet engagé n°11	11	5	16
Cabinet engagé n°12	5	6	11
Cabinet engagé n°13	6	3	9
Total général	125	61	186

Parmi les cabinets engagés à réaliser le quota fixé de prélèvements, les nombres de prélèvements effectivement réalisés allaient donc de 5 à 11 pour les veaux malades, et de 0 à 7 pour les veaux témoins.

3.1.2. Nombre de prélèvements par statut des veaux

L'ensemble des échantillons prélevés a été analysé au laboratoire. Cependant, certains ont été exclus de l'analyse statistique, pour les raisons suivantes :

- statut malade ou témoin du veau inconnu ;
- âge au prélèvement de fèces n'entrant pas dans les critères d'inclusion (> 8 jours) ;
- prélèvement de sang non reçu par le laboratoire ;
- âge au prélèvement de sang n'entrant pas dans les critères d'inclusion (< 2 jours ou > 8 jours) ou non renseigné.

Le Tableau 12 ci-dessous donne le nombre de prélèvements exclus pour chacune de ces causes.

Tableau 12 : Causes d'exclusion des veaux et nombres totaux de prélèvements inclus dans l'étude

		M	T	Tot
Prélèvements totaux		130	62	192
Statut M/T inconnu		5		5
Exclusion fèces	Âge > 8 jours	5	1	6
Exclusion IgG1	Pas de prélèvement	2	1	3
	Âge incorrect (< 2 ou > 8 jours)	9	3	12
Prélèvements inclus	Fèces	125	61	186
	IgG1	119	58	177

3.1.3. Caractéristiques des veaux prélevés

Si l'on considère uniquement les veaux inclus dans l'analyse des résultats, la moyenne d'âge des veaux malades lors du prélèvement était de 4,6 jours tandis que celle des veaux témoins était de 3,8 jours. Cet écart est faible mais statistiquement significatif ($p = 0,007$). Il existe donc une association entre les variables « âge » et « statut » des veaux.

Les veaux malades présentaient principalement de la diarrhée (96%), celle-ci s'accompagnant d'autres signes cliniques dans 53,6 % des cas. Le Tableau 13 ci-après détaille l'ensemble des signes cliniques associés à la diarrhée chez les veaux malades prélevés.

Tableau 13 : Proportion des signes observés chez les veaux présentant de la diarrhée

Signes cliniques rapportés	Nombre de cas	Pourcentage parmi les veaux diarrhéiques
Déshydratation	16	16,5 %
Hyperthermie	8	8,2 %
Hypothermie	1	1,0 %
Abattement/coma	8	8,2 %
Pétéchies gingivales	1	1,0 %
Ataxie/parésie/paralysie	1	1,0 %
Autre (omphalite, arthrite...)	2	2,1 %
Déshydratation + hyperthermie	3	3,1 %
Déshydratation + abattement/coma	2	2,1 %
Déshydratation + pétéchies gingivales	1	1,0 %
Déshydratation + ataxie/parésie/paralysie	1	1,0 %
Hyperthermie + abattement/coma	1	1,0 %
Hyperthermie + ataxie/parésie/paralysie	1	1,0 %
Hyperthermie + autre (omphalite, arthrite...)	1	1,0 %
Hypothermie + abattement/coma	1	1,0 %
Hypothermie + ataxie/parésie/paralysie	1	1,0 %
Septicémie + autre (omphalite, arthrite...)	1	1,0 %
Hyperthermie + abattement/coma + ataxie/parésie/paralysie	1	1,0 %
Hyperthermie + abattement/coma + septicémie	1	1,0 %

Par ailleurs, 4,0 % des veaux malades prélevés ne présentaient pas de signe digestif. Ainsi sur l'ensemble des veaux malades, 6,9 % présentaient des signes évocateurs de septicémie (diagnostiqués comme tel par le vétérinaire, ou par présence de pétéchies gingivales), associés à de la diarrhée pour 4 de ces 7 cas. Enfin, dans un cas, le veau était hypotherme et dans le coma. Les élevages sélectionnés étaient donc ceux dont un ou plusieurs veaux présentaient ces signes cliniques, sur accord de l'éleveur, qui s'engage alors à remplir le questionnaire associé à l'étude.

Enfin, comme l'illustre la Figure 26 ci-après, les élevages prélevés étaient répartis de façon assez homogène dans le département. Cette étude permet donc de faire le point sur la situation actuelle à l'échelle du département.

Figure 26 : Répartition des prélèvements sur le département en fonction du statut des veaux, les numéros donnant le nombre de prélèvements réalisés sur une même commune



3.2. Taux de réponses aux questionnaires

3.2.1. Questionnaires éleveurs

Parmi les 197 veaux prélevés, 122 questionnaires ont été retournés, soit un taux de réponse d'environ 62 %. Par catégorie, si l'on exclut les veaux ne respectant pas les critères d'inclusion pour des raisons d'âge lors de prélèvement de fèces ou de statut indéterminé, le taux de réponse tombe à 60 %, avec 67 % de réponse pour les veaux malades et 54 % pour les veaux témoins. Ces données sont présentées dans le Tableau 14 ci-dessous :

Tableau 14 : Nombre de questionnaires reçus pour les veaux inclus dans l'étude en fonction de leur statut.

	Malades	Témoins	Total
Reçu	85	33	118
Non reçu	42	28	70
Total	127	61	188

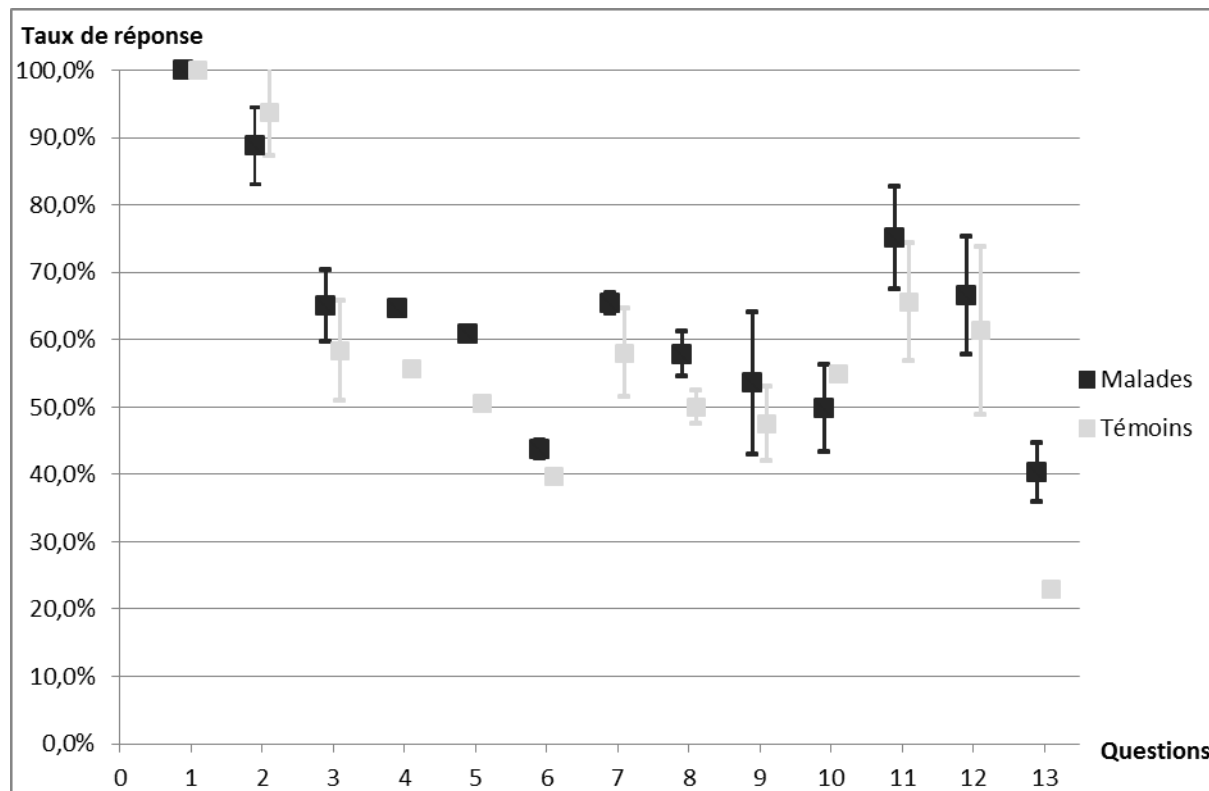
Au sein du questionnaire, le taux de réponse à chaque question est là aussi très variable, allant de 15,6 % à 100,0 % pour les veaux malades et de 14,8 % à 100,0 % pour les veaux témoins. Le Tableau 15 ci-après donne les taux de réponse minimums et maximums par groupe de question et par statut, ce qui est représenté par la Figure 25. Le pourcentage de réponse pour chaque question est détaillé en Annexe 10.

Tableau 15 : Taux de réponse minimums et maximums par groupe de questions en fonction du statut du veau

	MaxM	MinM	MaxT	MinT
1 - Fiche commémoratifs et présentation de l'élevage :	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
2 - Identification du veau malade et commémoratifs :	100,0%	58,3%	100,0%	50,8%
3 - Cheptel et SAU de l'exploitation :	93,8%	54,3%	100,0%	45,9%
4 - Nombres de personnes travaillant sur l'exploitation :	64,6%	64,6%	55,7%	55,7%
5 - Traitements administrés par l'éleveur	61,4%	55,9%	50,8%	45,9%
6 - Traitements administrés par le vétérinaire	54,3%	42,5%	47,5%	39,3%
7 - Pratique de l'antibioprévention chez les veaux :	75,0%	63,8%	100,0%	54,1%
8 - Logement des veaux nouveau-nés :	62,2%	48,0%	55,7%	44,3%
9 - Local et assistance au vêlage :	63,8%	15,8%	52,5%	27,8%
10 - Gestion des malades :	64,6%	42,4%	55,7%	54,5%
11 - Gestion de la préparation au vêlage :	100,0%	64,6%	100,0%	54,1%
12 - Gestion du TIP (qualité et administration du colostrum) :	100,0%	34,6%	95,7%	14,8%
13 - Évolution à 30 jours :	46,5%	34,0%	23,0%	23,0%

Légende : MaxM et MaxT : taux de réponse maximums observés au sein des questionnaires des veaux malades et témoins respectivement, MinM et MinT : taux de réponse minimums observés au sein des questionnaires des veaux malades et témoins respectivement.

Figure 25 : Taux de réponse aux questionnaires éleveurs par thème de questions et par statut des veaux (moyennes et écarts-types)



3.2.2. Questionnaires vétérinaires par veau prélevé

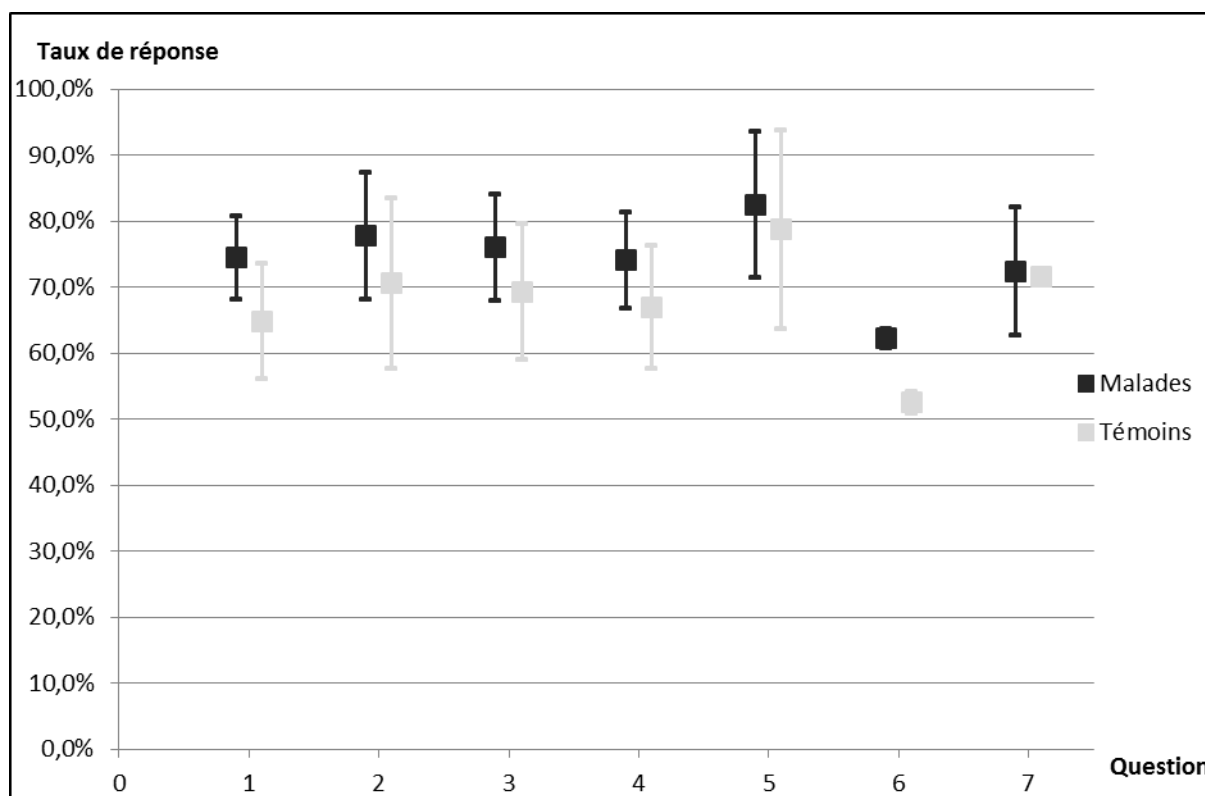
Le taux de réponse global des vétérinaires concernant les veaux inclus est de 66 %, avec 69 % de réponse pour les veaux malades et 59 % pour les veaux témoins. Parmi les questionnaires reçus, le pourcentage de réponse aux questions varie de 55,6 % à 100,0 % concernant les veaux malades, et de 49,2 % à 100,0 % pour les veaux témoins. Le détail des taux de réponse est donné en Annexe 11. Les résultats par thème de question sont donnés dans le Tableau 16 et illustrés par la Figure 26 ci-dessous.

Tableau 16 : Taux de réponse minimums et maximums par groupe de questions en fonction du statut du veau

	MaxM	MinM	MaxT	MinT
1 - Questions préliminaires (bilan sanitaire...)	100,00%	68,50%	100,00%	55,70%
2 - Surface et paillage des logements mères/veaux	100,00%	65,40%	100,00%	52,50%
3 - Gestion des vêlages (case, assistance)	100,00%	66,10%	100,00%	59,00%
4 - Gestion des malades et vaccinations	100,00%	65,40%	100,00%	57,40%
5 - Gestion du parasitisme	98,00%	66,90%	100,00%	57,40%
6 - Gestion de l'alimentation (supplémentation)	65,40%	59,80%	55,70%	49,20%
7 - Gestion du TIP (qualité colostrale, transfert...)	87,50%	55,60%	100,00%	50,00%

Légende : MaxM et MaxT : taux de réponse maximums observés au sein des questionnaires des veaux malades et témoins respectivement, MinM et MinT : taux de réponse minimums observés au sein des questionnaires des veaux malades et témoins respectivement.

Figure 26 : Taux de réponse aux questionnaires vétérinaires par élevage, par thème de questions et par statut des veaux (moyennes et écarts-types)



3.2.3. Questionnaires portant sur les pratiques générales des vétérinaires

Chaque cabinet préleveur devait faire parvenir un questionnaire portant sur ses pratiques générales de l'antibiothérapie. Des 17 cabinets impliqués, 10 questionnaires nous sont revenus. Le pourcentage de réponse aux différentes questions est donné dans le Tableau 17 ci-dessous.

Tableau 17 : Taux de réponse aux questionnaires vétérinaires portant sur les pratiques générales de l'antibiothérapie

Questionnaire véto pratiques générales		
Question	Nombre de réponses	% de réponse
Nom du cabinet	10	58,8 %
Antibiotiques utilisés en cas de diarrhée néonatale	10	58,8 %
Antibiotiques utilisés en cas de d'autre pathologie néonatale	8	47,1 %
Examen avant prescription	10	58,8 %
Test Uriscreen® avant prescription	10	58,8 %
Autre test avant prescription	10	58,8 %
Pratique de l'antibioprévention	10	58,8 %
Molécules utilisées en antibioprévention	9	100,0 %
Pourcentage de naissances ayant lieu en hiver	10	58,8 %
Pourcentage d'élevage présentant des affections néonatales sur les naissances d'hiver	9	52,9 %
Pourcentage d'élevage présentant des affections néonatales sur les naissances ayant lieu hors période hivernale	8	47,1 %
Pourcentage de veaux de moins de 20 jours exposés à des antibiotiques injectables	10	58,8 %
Pourcentage de veaux de moins de 90 jours exposés à des antibiotiques injectables	10	58,8 %
Pourcentage de veaux de moins de 20 jours exposés à des antibiotiques oraux	10	58,8 %
Pourcentage de veaux de moins de 90 jours exposés à des antibiotiques oraux	10	58,8 %
Pratique de la transfusion	8	47,1 %

L'analyse des réponses aux différentes questions de ces questionnaires sera détaillée par thème dans les parties suivantes.

3.3. Dosage des IgG1

Nous avons vu que 177 prélèvements sanguin ont été analysés, répartis en 119 veaux malades (67,2 %) et 58 veaux témoins (32,8 %).

3.3.1. Valeur des taux d'IgG₁

3.3.1.1. Valeurs brutes obtenues, extrêmes et moyennes

- Au cours de la première année, les taux d'IgG₁ relevés allaient de moins de 5 g/L à plus de 40 g/L (de moins de 5 à plus de 40 g/L chez les malades et de moins de 5 à 36,9 g/L chez les témoins).

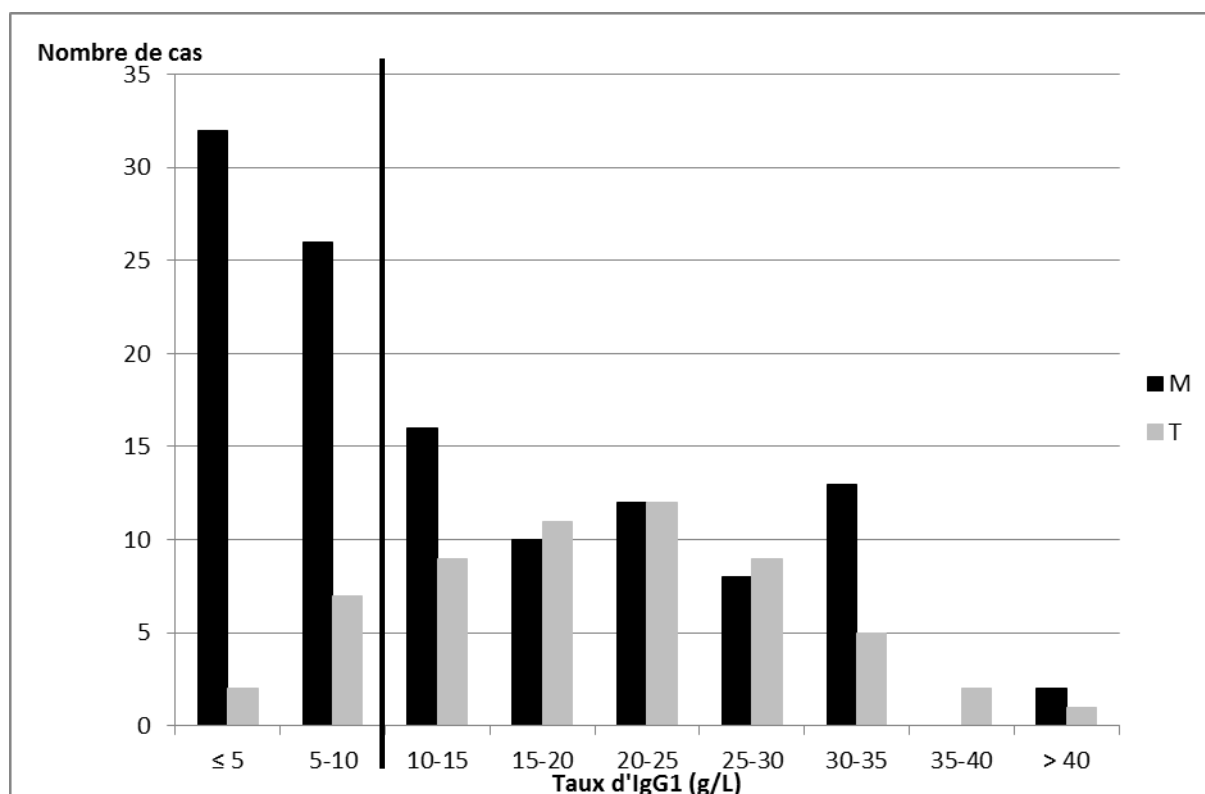
En moyenne, nous avons obtenu un taux de 16,0 g/L (avec un écart-type σ de 10,0 g/L). Il existe cependant des disparités significatives ($p = 0,023$) lorsque l'on observe chaque groupe indépendamment : les veaux malades présentaient un taux moyen de 14,9 g/L ($\sigma = 10,1$ g/L) tandis que les témoins atteignaient une moyenne de 20,4 g/L ($\sigma = 8,8$ g/L) ;

- Lors de la seconde année, les taux d'IgG₁ allaient également de moins de 5 g/L à plus de 40 g/L (de moins de 5 à plus de 40 g/L chez les malades et de 7,9 à plus de 40 g/L chez les témoins).

La moyenne observée étaient de 16,5 g/L ($\sigma = 10,0$ g/L), avec là-encore une différence significative entre les veaux malades et témoins ($p = 0,005$), leurs taux moyens respectifs étant de 13,5 ($\sigma = 10,1$ g/L) et 19,8 g/L ($\sigma = 8,9$ g/L) ;

- Aucune différence significative n'est observée entre les résultats des deux années, quel que soit le groupe considéré ($p = 0,49$ entre les malades et $p = 0,79$ entre les témoins des deux années). Une fois l'ensemble des résultats regroupés, la moyenne globale des taux d'IgG₁ est de 16,2 g/L ($\sigma = 10,0$ g/L). La répartition des taux d'IgG₁ obtenus en fonction du statut des veaux est présentée par la Figure 27 ci-après. Là-encore, la différence entre les deux groupes est significative ($p = 0,0004$), les taux moyens étant de 14,4 g/L ($\sigma = 10,0$ g/L) pour les malades et 20,0 g/L ($\sigma = 8,8$ g/L) pour les témoins.

Figure 27 : Répartition des taux d'IgG1 sérique chez les veaux en fonction de leur statut au cours des deux saisons de prélèvement



3.3.1.2. Valeurs comparées à un seuil

Nous avons vu que le seuil de 10 g/L est souvent relevé dans la littérature. Nous avons donc étudié la proportion de veaux atteignant ce seuil dans les deux groupes. Le Tableau 18 ci-contre présente les données obtenues pour cela. Ainsi, 48,7 % des veaux malades n'atteignent pas ce seuil, contre seulement 15,5 % des veaux sains. La différence est encore très significative ($p = 1,9.10^{-5}$).

Tableau 18 : Données vis-à-vis du seuil de 10 g/L pour les taux sériques d'IgG1 des veaux

	Malades	Témoins
≤ 10 g/L	58	9
> 10 g/L	61	49

De même, le seuil de 15g/L est parfois utilisé par les auteurs. Les résultats obtenus lors de notre étude en considérant ce seuil sont présentés dans le Tableau 19 ci-dessous. Là encore, le pourcentage de veaux présentant des taux sériques inférieurs à ce seuil est plus important chez les malades que chez les sains, avec respectivement 62,2 % et 31,0% des veaux ($p = 1,0.10^{-4}$).

Tableau 19 : Données vis-à-vis du seuil de 15 g/L pour les taux sériques d'IgG1 des veaux

	Malades	Témoins
≤ 15 g/L	74	18
> 15 g/L	45	40

3.3.2. Analyse des commémoratifs et des réponses aux questionnaires portant sur la prise colostrale

Le but de cette partie est de confronter les éléments commémoratifs et les réponses aux questionnaires aux taux sériques d'IgG1 des veaux. En effet, les modalités de mise bas ainsi que les connaissances et les pratiques de l'éleveur au sujet du transfert d'immunité passive pourraient influencer la réussite de ce transfert.

Concernant les pratiques de l'éleveur, aucune association statistique avec la valeur du taux sérique d'IgG1 chez le veau prélevé n'a été observée pour les facteurs suivants :

- temps maximal avant la première buvée ;
- fréquence d'assistance au vêlage (par le vétérinaire comme par l'éleveur) ;
- utilisation de colostrum reconstitué ou de complément et son mode de distribution ;
- évaluation de la qualité du colostrum dans l'élevage ;
- le déparasitage des vaches gestantes avant la mise-bas ;
- la vérification de la ration ou la complémentation des veaux.

Si l'on regarde l'ensemble des veaux, indépendamment de leur statut, la complémentation des mères en oligoéléments avant la mise-bas n'influe pas sur le taux d'IgG1 des veaux. Ceci se confirme chez les veaux malades, ceux nés de mères complémentées ayant un taux moyen de 14,9 g/L contre 13,9 g/L chez les veaux nés de mères non complémentées ($p = 0,56$). Cependant si l'on ne prend en compte que les veaux témoins, une différence significative est observée concernant les taux d'IgG1 des veaux nés de mères complémentées et des autres, avec des taux moyens respectifs de 17,0 et 24,5 g/L ($p = 0,028$).

Puisque les commémoratifs portent sur les veaux prélevés, ils représentent mieux leur exposition aux différents facteurs de risque d'échec du transfert colostrale. Ainsi, il existe plusieurs associations statistiques :

- entre la survenue d'un vêlage dystocique et le défaut de transfert colostrale chez le veau en considérant le seuil de 10 g/L d'IgG1 sérique ($OR = 2,2350$, $IC95\% = [1,0092 ; 4,9497]$, $p = 0,0441$). Ceci est encore plus marqué pour un seuil de 15 g/L ($OR = 2,7133$; $p = 0,0211$) ou de 20 g/L ($OR = 4,0272$; $p = 0,0104$) ;
- les vêlages de nuits (23h-6h) sont moins fréquemment associés à des seuils d'IgG1 sériques inférieurs à 20 g/L ($OR = 0,4734$; $p = 0,0205$). Les différences ne sont pas significatives aux seuils inférieurs à 16 g/L et à 17 g/L. Si l'on stratifie les résultats en fonction du statut des veaux, on observe cet effet de l'heure de naissance uniquement chez les veaux malades ($p = 0,0293$ contre $p = 0,2272$ pour les veaux témoins) ;
- lorsque l'éleveur rapporte que le veau prélevé a bu son colostrum plus de six heures après sa naissance, le seuil de 10 g/L n'est atteint que dans 6 cas sur 34 (26,5 %), contre 100 cas sur 139 (71,9 %) lorsqu'il est bu avant six heures de vie ($OR = 7,1225$; $p = 2.10^{-6}$) ;
- l'apport d'un colostrum de complément (d'une autre vache ou du commerce) est statistiquement associé à un taux d'IgG1 inférieur au seuil de 8 g/L ($OR = 0,2316$; $p = 0,0289$).

Les paramètres « vêlage dystocique », « vêlage de nuit », « prise colostrale avant 6 heures » et « supplémentation colostrale » sont donc associés à des différences de taux d'IgG1 sériques chez les veaux nouveau-nés.

3.4. Recherche des Rotavirus, Coronavirus et de *Cryptosporidium parvum*

3.4.1. Résultats obtenus

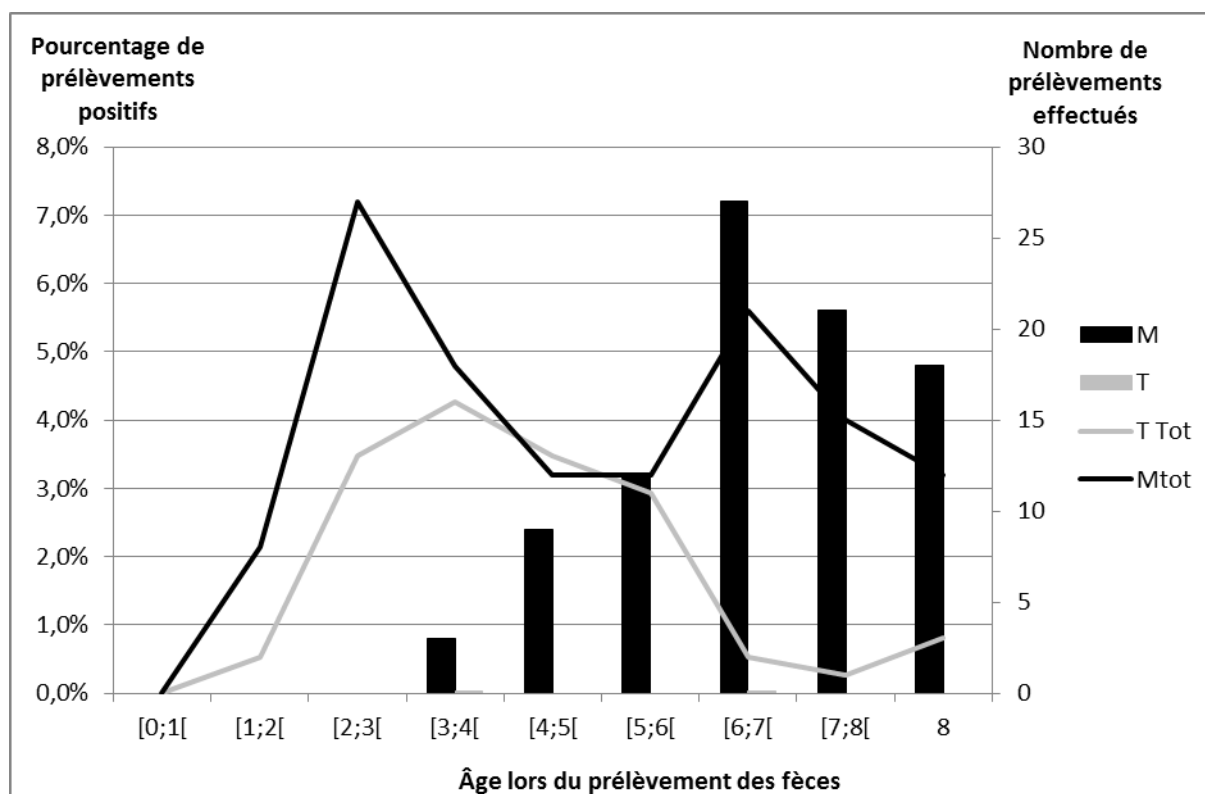
Au cours de la première saison de prélèvement, 19,0 % des fèces étaient positifs pour rotavirus (23,2 % des malades et 4,3 % des témoins), 20,0 % étaient positifs pour coronavirus (24,4 % des malades et 4,3 % des témoins) et 21,9 % portaient des oocystes de *Cryptosporidium* (28,0 % des malades et 0,0 % des témoins). Lors de la seconde saison, ces résultats étaient respectivement de 6,2 % (9,3 % des malades et 2,6 % des témoins), 13,6 % (23,3 % des malades et 2,6 % des témoins) et 9,9 % (18,6 % des malades et 0,0 % des témoins). La comparaison des résultats par année pour chaque statut et chaque agent pathogène ne met en évidence aucune différence significative (p allant de 0,0873 à 1). Les résultats des deux années ont donc été groupés, et sont présentés dans le Tableau 20 ci-dessous :

Tableau 20 : Résultats des recherches de rotavirus, coronavirus et *Cryptosporidium* sur l'ensemble des deux années selon le statut des veaux

Années 1 + 2		Malades	Témoins	Total
Rotavirus	Positifs (dont faible)	23 (18,4 %)	2 (3,3 %)	25 (13,4 %)
	Négatifs	102 (81,6 %)	59 (96,7 %)	161 (86,6 %)
Coronavirus	Positifs (dont faible)	30 (24,0 %)	2 (3,3 %)	32 (17,2 %)
	Négatifs	95 (76,0 %)	59 (96,7 %)	154 (82,8 %)
<i>Cryptosporidium</i>	Score > 0	31 (24,8 %)	0 (0,0%)	31 (16,7 %)
	Score = 0	94 (75,2 %)	61 (100,0 %)	155 (83,3 %)

Ainsi, il existe une différence significative entre la fréquence de portage de rotavirus chez les veaux malades (18,4 %) et les veaux témoins (3,3 %) ($p = 0,005$). L'observation est identique concernant les coronavirus, avec 24 % des malades positifs et seulement 3,3 % des témoins ($p = 0,0003$). Concernant les oocystes de *Cryptosporidium*, aucun veau témoin n'a été positif, comme l'illustre la Figure 28 ci-après. Près de 25 % des veaux malades étaient positifs pour ce parasite. La différence observée entre les deux statuts est donc significative ($p = 2.10^{-5}$).

Figure 28 : Nombre de cas positifs pour *Cryptosporidium parvum* et nombre de prélèvements par tranche d'âge et en fonction du statut des veaux.



Légende : *M* = nombre de prélèvements positifs pour *Cryptosporidium* chez les veaux malades
T = nombre de prélèvements positifs pour *Cryptosporidium* chez les veaux témoins
T Tot : nombre total de prélèvements chez les veaux témoins
M Tot : nombre total de prélèvements chez les veaux malades

3.4.2. Analyse des réponses aux questionnaires

Le Tableau 21 ci-après donne le nombre et le taux de réponse aux principales questions portant sur certains des facteurs de risque de rotavirose, coronavirose et cryptosporidiose identifiés.

Tableau 21 : Nombre de réponses aux principales questions portant sur l'hygiène parmi les questionnaires éleveurs et vétérinaires, et significativité statistique de la différence malade-témoin observée

		Nb M	% M	Nb T	% T	Nb tot	% tot	Stat (p)
Type de stabulation	Libre	72	91,1 %	25	86,2 %	97	89,8 %	0,33
	Entravée	7	8,9 %	4	13,6 %	11	10,2 %	
Désinfection	Oui	25	33,3 %	15	46,9 %	40	37,4 %	0,18
	Non	50	66,7 %	17	53,1 %	67	62,6 %	
Surface mère-veau suffisante	Oui	71	82,6 %	35	97,2 %	106	86,9 %	0,037
	Non	15	17,4 %	1	2,8 %	16	13,1 %	
Paillage suffisant	Oui	63	75,9 %	31	96,9 %	94	81,7 %	0,007
	Non	20	24,1 %	1	3,1 %	21	18,3 %	
Vaccination GENN de la mère	Oui	44	53,7 %	22	64,7 %	66	56,9 %	0,27
	Non	38	46,3 %	12	35,3 %	50	43,1 %	
Vaccination BVD de la mère	Oui	33	37,9 %	17	47,2 %	50	40,7 %	0,34
	Non	54	62,1 %	19	52,8 %	73	59,3 %	

Légende : Nb M, Nb T et Nb Tot : nombre de réponses chez les veaux malades, témoins et totaux respectivement,

% M, % T et % Tot : taux de réponse chez les veaux malades, témoins et totaux respectivement,

Stat (p) : résultat de l'analyse statistique, donnant p, en gras lorsqu'il est inférieur au seuil de significativité fixé à 5 %.

3.4.2.1. Gestion de l'hygiène

Le nombre de cas de rotavirus, coronavirus et cryptosporidiose est trop faible pour permettre une analyse statistique de l'influence de paramètres quantitatifs tels que la fréquence de paillage (de 1 à 14 fois par semaine) ou le nombre de désinfections réalisées par an (de 0 à 4, avec 63 % des élevages ne réalisant aucune désinfection). L'absence de désinfection n'est pas associée à un isolement plus fréquent des agents viraux et parasitaires recherchés, quel que soit le statut du veau. Il en est de même pour le type de stabulation (libre ou entravée) concernant les virus. Le nombre de cas de cryptosporidiose est trop faible pour pouvoir conclure sur ce point.

Dans notre échantillon, il existe une différence significative à 5% entre les veaux malades et les veaux témoins en ce qui concerne la surface allouée par couple mère-veau. Cependant, l'IC95 % de l'OR ([0,0172 ; 1,0657]) indique qu'aucune différence significative n'existe au sein de la population.

L'estimation de la qualité du paillage par les vétérinaires est jugée insuffisante chez 24,1 % des élevages dans lesquels des veaux malades ont été prélevés, contre seulement 3,1 % des veaux témoins. Cette différence est significative (OR = 9,8413 ; IC95% = [1,2620 ; 76,7461] ; p = 0,0071). Les élevages dont le paillage est insuffisant présentent plus souvent de la diarrhée. Ce défaut de paillage n'est toutefois pas associé à la présence plus fréquente d'un des agents pathogènes recherchés.

3.4.2.2. Prévention médicale mise en place

Sur l'ensemble des questionnaires éleveurs reçus, 84 venant de veaux malades et 34 venant de veaux témoins présentaient une réponse quant à la vaccination des mères. 44 et 22 mères de

veaux respectivement malades et témoins étaient vaccinées, soit 52 % des mères malades et 65 % des mères témoins.

Curieusement, aucune association statistique n'a pu être mise en évidence entre la vaccination des mères et le statut des veaux ou leur excrétion virale ou parasitaire, avec ou sans réussite du transfert d'immunité passive (avec un seuil fixé à 10 g/L).

3.5. Recherche et typage d'*E. coli*

3.5.1. Dénombrement des *E. coli*

3.5.1.1. Valeurs extrêmes et moyennes

✓ Valeurs extrêmes : le nombre d'*E. coli* isolé par gramme de fèces est très variable. Ainsi, au cours de la première année, un prélèvement a présenté moins de 1.10^6 UFC/g (notre seuil de détection) alors que le maximum observé a atteint $2,9.10^{10}$. L'année suivante, les valeurs extrêmes allaient de 1.10^6 à $7,4.10^9$ UFC/g ;

✓ Valeurs moyennes : Concernant le nombre moyen de germes par gramme de fèces, il était de $2,1.10^9$ la première année ($1,64.10^9$ pour les malades et $3,69.10^9$ pour les témoins) et de $1,85.10^9$ la deuxième ($2,11.10^9$ pour les malades et $1,55.10^9$ pour les témoins). Quelle que soit l'année considérée, aucune différence significative n'est observée entre les lots malade et témoin. De même, au sein d'un même statut, il n'existe pas de différence entre les années. Ainsi sur l'ensemble des deux années, le nombre moyen de germes par gramme de fèces était de $2,02.10^9$, quel que soit le statut considéré.

La durée de transport et le mode de conservation des prélèvements sont assez variables. Ces données sont connues pour 121 des veaux malades et 57 des veaux témoins. Leur répartition est donnée par le Tableau 22 ci-dessous :

Tableau 22 : Répartition des délais d'arrivée au laboratoire des prélèvements en fonction du statut des veaux

Délai (en jours)	Malades	Témoins	Total
0	13 (10,7 %)	14 (24,6 %)	27 (15,2 %)
1	66 (54,5 %)	26 (45,6 %)	92 (51,7 %)
2	30 (24,8 %)	12 (21,1 %)	42 (23,6 %)
3	8 (6,6 %)	4 (7,0 %)	12 (6,7 %)
4	2 (1,7 %)	1 (1,8 %)	3 (1,7 %)
5	2 (1,7 %)	0 (0,0 %)	2 (1,1 %)
Total	121 (100 %)	57 (100 %)	178 (100 %)

Cependant, les valeurs de dénombrement obtenues ne sont pas associées à ce délai ($p = 0,98$), quel que soit le groupe de veaux considéré. Par contre, parmi les prélèvements parvenus au laboratoire en trois jours, il existe une différence significative entre les numérations moyennes des veaux malades et témoins, qui sont respectivement de $8,1.10^8$ et $7,5.10^9$ germes par gramme de fèces ($p = 0,0281$).

Le mode de conservation des prélèvements ne présente pas non plus d'association statistique, mais les données dont nous disposons sont en nombre peu important. En effet, sur les 179 prélèvements inclus, 119 ont été conservés à température ambiante, et 2 ont été réfrigérés. L'information est manquante pour les 58 autres prélèvements.

3.5.1.2. Nombre de souches par veau

Sur l'ensemble des 186 veaux inclus (125 malades et 61 témoins), un total de 310 souches a été isolé (203 souches isolées de veaux malades et 107 isolées de veaux témoins) (en gardant à l'esprit que si plus de trois souches distinctes étaient trouvées, seules les trois plus représentées étaient prises en compte. Cette situation était tout de même très rare).

Le nombre moyen de souches par veau était de 1,61 au cours de la première année (1,59 pour les malades et 1,70 pour les témoins) et de 1,74 la deuxième (1,70 pour les malades et 1,79 pour les témoins). Aucune différence significative n'est observée entre les statuts, ni entre les statuts des deux années. Une fois les résultats groupés, le nombre moyen de souche par veau est de 1,67 (1,62 pour les malades et 1,75 pour les témoins), sans différence significative entre ces deux groupes.

3.5.2. Typage des *E. coli*

Parmi les 310 souches isolées, 113 étaient typables, c'est-à-dire qu'elles agglutinaient pour au moins un des antigènes testés (CS31A, F5, F17 et F41), comme le montre le Tableau 23 ci-dessous.

Tableau 23 : Répartition du nombre de souches présentant ou non au moins un des facteurs recherchés en fonction du statut malade ou témoin du veau et total

	Malades	Témoins	Total
Souches typables	88	25	113
Souches ne présentant aucun des 4 facteurs recherchés	115	82	197
Total	203	107	310

Parmi les souches typables, celles présentant le facteur CS31A sont les plus représentées, avec plus de 75 % présentant ce facteur de virulence. L'ensemble des données concernant les typages sont présentées par le Tableau 24 ci-après :

Tableau 24 : Nombre de souches de chaque type et pourcentage parmi les souches typables, selon l'année et le statut et résultats totaux

	Total						M						T					
	Année 1		Année 2		Années 1 + 2		Année 1		Année 2		Années 1 + 2		Année 1		Année 2		Années 1 + 2	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
CS31A	51	77,3	38	80,9	89	78,8	43	74,1	25	83,3	68	77,3	8	100,0	13	76,5	21	84,0
F5	6	9,1	4	8,5	10	8,8	6	10,3	4	14,3	10	11,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0
F17	5	7,6	5	10,6	10	8,8	5	8,6	1	3,6	6	6,8	0	0,0	4	23,5	4	16,0
F41	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
F5-F41	4	6,1	0	0,0	4	3,5	4	6,9	0	0,0	4	4,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	66		47		113		58		30		88		8		17		25	

Si l'on envisage de nouveau la question du nombre de souches par veau en ne prenant en compte que les souches typables, le nombre moyen est de 0,63 la première année (0,71 pour les malades et 0,35 pour les témoins) et de 0,58 la deuxième année (0,70 pour les malades et 0,45 pour les témoins). En groupant les deux années, dont les résultats par statut ne sont pas significativement différents, on obtient une moyenne de 0,61 souche typable par veau (0,70 pour les malades et 0,41 pour les témoins). La différence est alors significative ($p = 0,0005$).

3.6. Association d'agents pathogènes

À l'exception d'un prélèvement, toutes les fèces étaient porteuses d'*E. coli*. Cependant, un certain nombre d'entre elles présentaient aussi des virus ou *Cryptosporidium*, comme présenté dans le Tableau 25 ci-après :

Tableau 25 : Ensemble des associations possibles et fréquence d'observation dans notre étude selon le statut du veau

	M	T	Total
Nombre de veaux total	125	61	186

Seuls ou associés	M	T	Total
<i>E. coli</i>	124	61	185
Rotavirus	23	2	25
Coronavirus	30	2	32
<i>Cryptosporidium</i>	30	0	30
Total	207	65	272

1 seul agent	M	T	Total
<i>E. coli</i>	58	57	115
Rotavirus	0	0	0
Coronavirus	0	0	0
<i>Cryptosporidium</i>	1	0	1
Total	59	57	116

2 agents	M	T	Total
<i>E. coli</i> + Rotavirus	14	2	16
<i>E. coli</i> + Coronavirus	18	2	20
<i>E. coli</i> + <i>Cryptosporidium</i>	19	0	19
Rotavirus + Coronavirus	0	0	0
Rotavirus + <i>Cryptosporidium</i>	0	0	0
Coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	0	0	0
Total	51	4	55

3 agents	M	T	Total
<i>E. coli</i> + Rotavirus + Coronavirus	5	0	5
<i>E. coli</i> + Rotavirus + <i>Cryptosporidium</i>	3	0	3
<i>E. coli</i> + Coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	6	0	6
Rotavirus + Coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	0	0	0
Total	14	0	14

4 agents	M	T	Total
<i>E. coli</i> + Rotavirus + Coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	1	0	1
Total	1	0	1

Les associations effectivement observées sont détaillées dans le Tableau 26 ci-dessous :

Tableau 26 : Ensemble des associations observées chez les veaux malades au cours des deux années d'étude

Association	M		T	
	Tous les <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> typables	Tous les <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> typables
<i>E. coli</i> seul	58 (46,4 %)	39 (46,4 %)	57 (93,4 %)	7 (70,0 %)
<i>E. coli</i> + <i>Cryptosporidium</i>	19 (15,2 %)	16 (19,0 %)	0	0
<i>E. coli</i> + coronavirus	18 (14,4 %)	11 (13,1 %)	2 (3,3 %)	1 (10,0 %)
<i>E. coli</i> + rotavirus	14 (11,2 %)	7 (8,3 %)	2 (3,3 %)	2 (20,0 %)
<i>E. coli</i> + coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	6 (4,8 %)	4 (4,8 %)	0	0
<i>E. coli</i> + rotavirus + coronavirus	5 (4,0 %)	3 (3,6 %)	0	0
<i>E. coli</i> + rotavirus + <i>Cryptosporidium</i>	3 (2,4 %)	2 (2,4 %)	0	0
<i>Cryptosporidium</i> seul	1 (0,8 %)	1 (1,2 %)	0	0
<i>E. coli</i> + rotavirus + coronavirus + <i>Cryptosporidium</i>	1 (0,8 %)	1 (1,2 %)	0	0

En comparant la fréquence des associations retrouvées chez les deux groupes de veaux, on observe qu'elles sont significativement différentes ($\chi^2 = 16,86$; $p = 0,0002$). Les veaux témoins ne présentent que rarement une association d'agents pathogènes (seulement 6,6 % des cas), et n'ont jamais plus de deux agents dans notre étude. Au contraire, chez les veaux malades, on isole plus d'un agent pathogène dans 52,8 % des cas, avec deux agents dans 40,8 % des cas, trois agents dans 11,2 % des cas et les quatre agents recherchés dans 0,8 % des cas. Si l'on étudie uniquement les souches d'*E. coli* F5, on observe qu'elles sont isolées seules dans 7 cas sur les 10. Dans les autres cas, on les trouve associées à un coronavirus (2 cas) ou à un rotavirus (1 cas). On peut noter que lors de l'association F5-rotavirus, le veau était aussi porteur d'une souche CS31A.

Comme nous l'avons signalé, un seul prélèvement n'était pas porteur d'*E. coli*. Celui-ci était seulement positif pour *Cryptosporidium*. Les autres observations les plus fréquentes sont celles d'*E. coli* avec le parasite ou l'un des deux virus. La présence de trois agents pathogènes est tout de même retrouvée dans 14 cas, soit chez 11,2 % des veaux malades. Enfin, un prélèvement s'est avéré positif pour les quatre agents pathogènes recherchés. Il est intéressant de préciser que ce veau portait deux *E. coli* CS31A, a obtenu un score 3 pour *Cryptosporidium*, et présentait par ailleurs un taux d'IgG1 de 8,1 g/L. Il a cependant survécu à sa diarrhée.

Ainsi, près de 53 % des veaux malades présentaient plus d'un agent pathogène.

3.7. Antibiorésistance chez les *E. coli* isolés

3.7.1. Taux de résistance global observé pour chaque antibiotique

Sujet d'une très grande importance dans le contexte actuel, l'antibiorésistance observée chez ces colibacilles est un point essentiel de cette étude. En effet, nous avons déjà signalé le rôle majeur de ce germe de la flore commensale dans la dissémination et la persistance des gènes de résistance au sein des populations bactériennes.

Le Tableau 27 ci-dessous récapitule les taux de résistance totaux observés dans notre étude. Sont dits résistants les germes classés comme résistants ou intermédiaires sur les antibiogrammes réalisés. En ce qui concerne la néomycine, les résultats observés chez les témoins au cours des deux saisons ne sont pas comparables, et n'ont donc pas pu être groupés. Ce tableau donne donc les résultats de l'année 1 à gauche et de l'année 2 à droite.

Tableau 27 : Pourcentage de résistance par antibiotique sur l'ensemble des souches d'*E. coli* incluses dans l'étude

Amoxicilline	67,4 %	
Amoxicilline + acide clavulanique	36,1 %	
Céfalexine	17,3 %	
Cefoxitine	10,3 %	
Ceftiofur	4,5 %	
Cefquinome	9,3 %	
Streptomycine	71,2 %	
Kanamycine	33,9 %	
Gentamicine	15,0 %	
Néomycine	27,11%	24,31%
Tétracycline	60,1 %	
Colistine	1,0 %	
Sulfamide + triméthoprim	26,5 %	
Acide nalidixique	25,6 %	
Enrofloxacin	12,8 %	
Marbofloxacin	10,5 %	

Légende : en gras, les taux de résistance supérieurs à 50 %. Les résultats de résistance à la néomycine étant significativement différents entre les deux années, les résultats sont donnés par années, année 1 dans la colonne de gauche, année 2 dans la colonne de droite.

Les taux observés sont donc très variables d'un antibiotique à un autre.

Des résistances à l'amoxicilline sont observées dans environ deux tiers des cas. L'adjonction d'acide clavulanique permet presque de diviser par deux ce taux de résistance. Cependant, encore un tiers des germes isolés ne sont pas sensibles à cette association.

Concernant les céphalosporines, le taux de résistance est décroissant au cours des générations, à l'exception de la dernière génération, représentée par la cefquinome, dont le taux de résistance avoisine celui des céphalosporines de deuxième génération.

Les taux de résistance aux aminosides sont également très variables selon la molécule considérée. Ainsi, l'utilisation de streptomycine risque d'aboutir à un échec thérapeutique dans près de trois quarts des cas. À l'inverse, la gentamicine est encore assez efficace, avec un taux de résistance de 15 %.

La résistance aux tétracyclines est importante, avec plus de 60 % de germes résistants. Au contraire, la colistine est l'antibiotique qui présente le plus faible taux de résistance, avec seulement 3 souches résistantes, toutes isolées de veaux malades.

Enfin, la résistance à l'acide nalidixique est environ deux fois supérieure à celle observée pour les fluoroquinolones.

3.7.2. Différence de taux de résistance entre veaux malades et veaux témoins

Si les taux de résistance sont très variables d'une molécule antibiotique à une autre, ils le sont aussi parfois en fonction du statut du veau. Ainsi le Tableau 28 ci-dessous reprend les taux observés par statut. La colonne « significativité » donne les seuils de significativité permettant de conclure à une différence statistique entre les deux groupes.

Tableau 28 : Comparaison des taux de résistance par molécule et par statut sur l'ensemble des deux années quand la comparaison est possible

		Malades	Témoins	p	Significativité
Amoxicilline		72,7 %	57,4 %	0,0061	**
Amoxicilline + acide clavulanique		42,9 %	23,1 %	0,0005	***
Céfalexine		19,5 %	13,0 %	0,2821	-
Cefoxitine		12,8 %	5,6 %	0,0451	*
Ceftiofur		4,4 %	4,6 %	0,9367	-
Cefquinome		11,7 %	4,6 %	0,0401	*
Streptomycine		77,6 %	59,3 %	0,0007	***
Kanamycine		35,1 %	31,5 %	0,5177	-
Gentamicine		19,5 %	6,5 %	0,0022	***
Néomycine	Année 1	24,4 %	33,3 %	0,2685	-
	Année 2	29,7 %	20,3 %	0,1937	-
Tétracycline		61,5 %	57,4 %	0,4861	-
Colistine		1,5 %	0,0 %	0,2065	-
Sulfamide + triméthoprim		29,8 %	20,4 %	0,0737	-
Acide nalidixique		31,1 %	13,9 %	0,0006	***
Enrofloxacin		16,6 %	5,6 %	0,0055	**
Marbofloxacin		13,2 %	5,6 %	0,0359	*

Légende : p : valeur statistique du p.

Significativité : - : $p > 0,05$; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,005$

Des différences significatives sont donc observées entre malades et témoins pour certaines molécules, avec des taux de résistance supérieurs chez les souches isolées de veaux malades pour :

- l'amoxicilline, avec un OR = 1,9741 (IC95% = [1,2097 ; 3,2215], $p = 0,0061$) ;
- l'association amoxicilline + acide clavulanique, avec un OR = 2,4971 (IC95% = [1,4760 ; 4,2245], $p = 0,0005$) ;
- la cefoxitine, avec OR = 2,4972 (IC95% = [0,9946 ; 6,2695], $p = 0,0451$). Cette association n'est toutefois pas extrapolable en dehors de notre échantillon ;
- la cefquinome, avec un OR = 2,7315 (IC95% = [1,0115 ; 7,3764], $p = 0,0401$) ;
- la streptomycine, avec un OR = 2,3764 (IC95% = [1,4342 ; 3,9375], $p = 0,0007$) ;
- la gentamicine, avec OR = 3,4978 (IC95% = [1,5096 ; 8,1050], $p = 0,0022$) ;
- l'acide nalidixique, avec OR = 2,8786 (IC95% = [1,5491 ; 5,3491], $p = 0,0006$) ;
- l'enrofloxacin, avec OR = 3,3801 (IC95% = [1,3717 ; 8,3294], $p = 0,0055$) ;
- la marbofloxacin, avec OR = 2,5932 (IC95% = [1,0360 ; 6,4913], $p = 0,0359$).

Ainsi environ la moitié des molécules testées présente plus fréquemment des résistances chez les souches isolées de veaux malades. Il est particulièrement intéressant de remarquer la très

grande différence observée concernant l'acide nalidixique, molécule testée pour évaluer le risque d'apparition de résistance aux fluoroquinolones comme nous l'avons vu.

3.7.3. Principaux profils de résistance observés

✓ Profils particuliers de résistance aux bêta-lactamines : c'est la première famille d'importance à considérer. La production de BLSE se caractérise par un profil résistant à l'amoxicilline, résistant ou intermédiaire au ceftiofur, sensible ou intermédiaire à la cefoxitine et présente une synergie en bouchon de champagne entre l'association amoxicilline-acide clavulanique et la céphalosporine de troisième génération testée. Nous avons déjà mentionné l'importance de la détection des BLSE chez les germes testés, sans quoi l'on s'expose à des échecs thérapeutiques (PATERSON *et al.*, 2001). Dans notre étude, 12 *E. coli* se sont avérés producteurs de BLSE, 8 ayant été isolés de veaux malades et 4 de veaux témoins. Parmi ces germes, tous sauf un étaient résistants aux céphalosporines de troisième et de quatrième génération. De plus, 3 étaient également résistants à un des quatre aminosides testés, 3 l'étaient à deux aminosides, 4 l'étaient à trois et un était résistant aux quatre molécules testées. Tous sauf un étaient résistants aux tétracyclines et aux sulfamides potentialisés. Un seul était résistant à la colistine. Enfin, le taux de résistance aux quinolones dans cette population atteint 50 %, chez qui des résistances aux trois quinolones testées sont observées.

D'autres profils de résistance aux bêta-lactamines existent. Ainsi, 9 germes ont présenté des profils de résistances indiquant la production d'une oxacillinase. Ceci se caractérise par un résultat résistant à l'amoxicilline, résistant ou intermédiaire à l'association amoxicilline-acide clavulanique, sensible aux trois premières générations de céphalosporines et résistant ou intermédiaire aux céphalosporines de quatrième génération. Par ailleurs, aucune synergie n'est observée. L'ensemble de ces souches a été isolé chez des veaux malades. Elles étaient également résistantes à 1 à 4 des aminosides testés. Toutes sauf deux étaient résistantes aux tétracyclines. Il en va de même pour les sulfamides potentialisés. Enfin, la résistance aux quinolones atteint 55,6 % dans ce groupe. En effet, une souche était résistante à l'acide nalidixique seul tandis que quatre autres étaient résistantes aux trois quinolones testées.

Le dernier profil de résistance aux bêta-lactamines observé était celui induit par la production d'une céphalosporinase de bas niveau, c'est-à-dire un profil résistant à l'amoxicilline, intermédiaire ou résistant à l'association amoxicilline-acide clavulanique, résistant aux deux premières générations de céphalosporines, résistant ou intermédiaire aux céphalosporines de troisième génération et intermédiaire ou sensible aux céphalosporines de quatrième génération, sans synergie observée. Sept germes de notre étude ont rempli ces caractéristiques, dont 4 chez des veaux malades, 2 chez des témoins et 1 chez un veau dont le statut n'est pas connu. Ils étaient tous résistants aux pénicillines et aux deux premières générations de céphalosporines, et sensibles aux troisième et quatrième générations. Par ailleurs, ce profil s'accompagnait d'une résistance à trois des quatre aminosides testés. Tous sauf un était résistant aux tétracyclines, mais aucun ne l'était à la colistine. Enfin, cinq étaient résistants à l'acide nalidixique, sans aucune perte de sensibilité aux fluoroquinolones testées ;

✓ Profils de résistance aux aminosides : il est intéressant de noter que certains profils de résistance sont majoritairement représentés dans la population globale des *E. coli* isolés. En effet, avec quatre molécules testées, qui permettent de détecter les germes résistants à 0 à 4 molécules, ceci offre seize profils possibles. Cependant, seuls six ont été observés dans notre étude, comme l'illustre le Tableau 29 ci-après :

Tableau 29 : Nombre de cas pour chacun des profils de résistance aux aminosides observés

	R ou I Streptomycine	R ou I Kanamycine	R ou I Gentamicine	R ou I Néomycine	Nombre de cas
0 résistance	-	-	-	-	92
1 résistance	+	-	-	-	111
	-	+	-	-	1
2 résistances	+	-	+	-	12
3 résistances	+	+	-	+	72
4 résistances	+	+	+	+	39

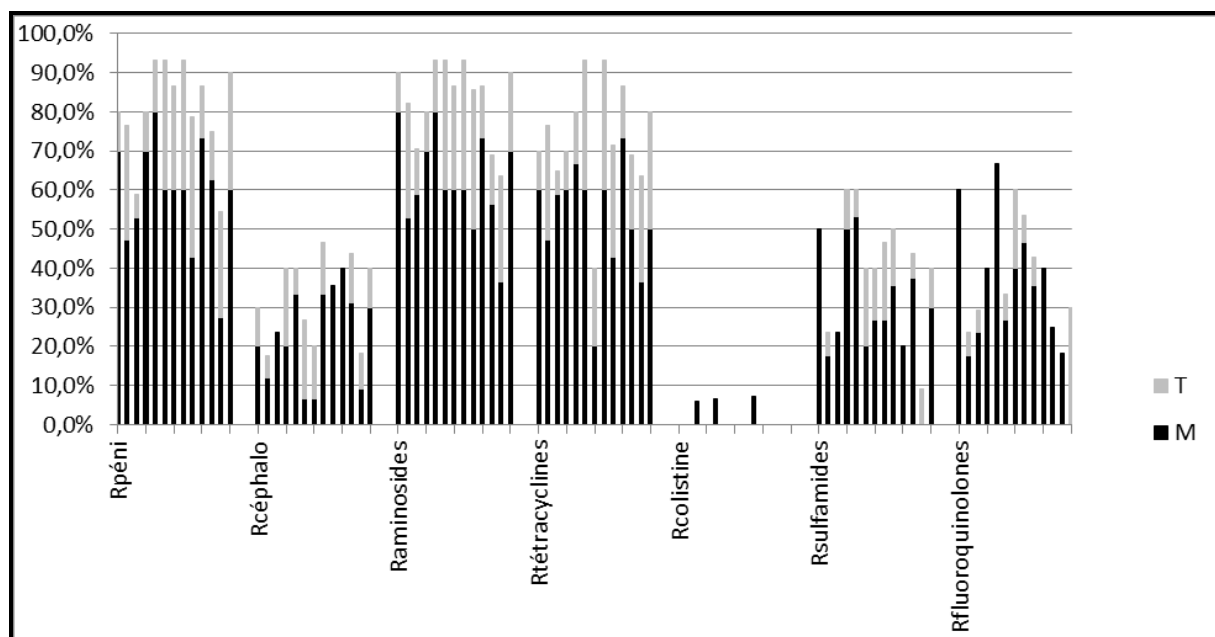
Ainsi 28,1 % des germes isolés ne présentent aucune résistance aux aminosides, mais 11,9 % sont résistants aux quatre molécules testées. Les deux autres profils les plus couramment rencontrés sont une résistance unique à la streptomycine (33,9 % des cas) et une résistance conjointe à la streptomycine, à la kanamycine et à la néomycine (22,0 % des cas) ;

✓ Profils de résistances aux quinolones et fluoroquinolones : nous avons déjà mentionné l'apparition des résistances en paliers successifs pour les molécules de cette famille. Les profils observés illustrent cela. En effet, aucune résistance à l'enrofloxacin n'est observée en l'absence de résistance à l'acide nalidixique, et aucune résistance à la marbofloxacin n'est observée en l'absence de résistance aux deux autres molécules. Ainsi, des 239 germes sensibles à l'acide nalidixique (73,1 %), aucun ne présente de résistance aux deux fluoroquinolones testées. Parmi les 88 souches résistantes à l'acide nalidixique, 44 sont également sensibles à ces deux autres molécules. 7 sont intermédiaires à l'enrofloxacin, parmi lesquelles aucune résistance à la marbofloxacin n'est observée. Enfin, les souches résistantes à l'acide nalidixique et à l'enrofloxacin le sont aussi à la marbofloxacin dans 33 des 37 cas observés (89,2 %).

3.7.4. Différence de taux de résistance en fonction du cabinet préleveur

La Figure 29 ci-après représente le pourcentage de résistance des germes isolés par chaque cabinet en fonction de la famille d'antibiotique considérée et du statut des veaux prélevés.

Figure 29 : Représentation du taux de résistance aux différentes familles d'antibiotiques des germes isolés par chaque cabinet vétérinaire préleveur



Légende : T : témoins ; M : malades ;

Rpéni : taux de résistance à au moins une pénicilline testée ;

Rcéphalo : taux de résistance à au moins une céphalosporine testée ;

RAmino : taux de résistance à au moins un aminoside testé ;

Rtétracyclines : taux de résistance à la tétracycline ;

Rcolistine : taux de résistance à la colistine ;

Rsulfamides : taux de résistance aux sulfamides + TMP ;

Rfluoroquinolones : taux de résistance à au moins une fluoroquinolone testée.

Les résultats obtenus par les différents cabinets ne présentent pas de différence significative, à quelques exceptions près :

- deux cabinets présentent des taux de résistance aux pénicillines inférieurs aux valeurs globales, ceux-ci atteignant 54,5 % et 58,8 %, contre 81,1 % si l'on considère l'ensemble des cabinets (avec respectivement des OR de 0,2514 et 0,2877, des IC95% de [0,0721 ; 0,8759] et [0,1012 ; 0,8181] et des valeurs de p de 0,0361 et 0,0227). Parmi ces deux cabinets, l'un reconnaît utiliser de l'amoxicilline dans le traitement des affections non digestives des veaux. Nous n'avons pas d'information sur les pratiques du second ;

- un cabinet présente un taux de résistance aux tétracyclines inférieur à l'ensemble, avec 40,0 % de résistance contre 74,7 % globalement (OR = 0,1912, IC95% = [0,0641 ; 0,5701] et p = 0,0031) ;

- un cabinet présente un taux de résistance aux fluoroquinolones supérieur à la valeur globale, à savoir 66,7 % contre 38,9 % sur l'ensemble des cabinets (OR = 3,4688, IC95% = [1,1355 ; 10,5966] et p = 0,0280). Nous n'avons pas d'information sur les molécules utilisées par ce cabinet d'une manière générale.

3.7.5. Association avec l'utilisation d'antibiotiques

La connaissance des modes de sélection et de dissémination des résistances bactériennes laisse penser que l'utilisation de molécules antibiotiques entraîne l'augmentation des taux de résistance au sein des populations exposées. Ainsi, les questionnaires interrogeaient les éleveurs et les vétérinaires sur leur utilisation de ces molécules.

À l'échelle de l'élevage, le taux d'exposition des veaux aux différentes familles d'antibiotiques testées est présenté dans le Tableau 30 ci-dessous :

Tableau 30 : Exposition des veaux testés aux principales molécules antibiotiques en fonction de leur statut.

Molécule	Malades exposés		Témoins exposés		Total exposé	
	n = 83		n = 34		n = 117	
Pénicillines	37	44,6%	24	70,6%	61	52,1%
Céphalosporines	28	33,7%	9	26,5%	37	31,6%
Aminosides	38	45,8%	19	55,9%	57	48,7%
Tétracyclines	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
Colistine	53	63,9%	24	70,6%	77	65,8%
Sulfamides	23	27,7%	11	32,4%	34	29,1%
Quinolones	18	21,7%	2	5,9%	20	17,1%

Cependant le lien entre ces expositions et la prévalence de l'antibiorésistance n'est pas si clair. Ainsi, au seuil de significativité de 5 % et en considérant l'ensemble des veaux prélevés, seule l'exposition aux sulfamides est statistiquement associée à un taux de résistance à ces molécules supérieur chez les *E. coli* isolés, avec un OR de 2,4663 (IC95% = [1,0887 ; 5,5871], test exact de Fisher : $p = 0,0362$). Une stratification par statut des veaux montre que cette affirmation n'est pas vraie chez les veaux témoins ($p = 1$). Elle concerne par contre les veaux malades, pour lesquels cette association est d'autant plus forte (OR = 3,3567, IC95% = [1,2366 ; 9,1114], $p = 0,0234$).

On peut également noter que chez les veaux malades, l'utilisation des céphalosporines est, elle aussi, statistiquement associée aux résistances à ces molécules au seuil de 5 %. En effet, chez ce groupe, on obtient un OR de 2,6667 (IC95% = [1,0322 ; 6,8896], test du Chi² : $p = 0,0150$).

À l'échelle des cabinets vétérinaires, l'usage des différentes familles de molécules antimicrobiennes n'impacte pas significativement les taux de résistance des veaux inclus dans l'étude. En ce qui concerne les quelques variations observées entre les différents cabinets, seul l'un des deux présentant une résistance moindre aux pénicillines reconnaît utiliser de l'amoxicilline pour le traitement des affections non digestives des veaux. Nous n'avons pas d'information sur les pratiques des autres cabinets vétérinaires.

4. Discussion

4.1. Choix des préleveurs et des sujets

Le recrutement des vétérinaires n'a pas posé de problème, avec treize cabinets vétérinaires volontaires pour réaliser les prélèvements demandés, ainsi que quatre cabinets supplémentaires ayant accepté de réaliser quelques prélèvements.

Cependant, certains vétérinaires n'ont pas réussi à atteindre leurs quotas, en particulier pour les veaux témoins. Il a donc été décidé lors du dernier mois de prélèvement de redistribuer ceux restant à effectuer. Ainsi les cabinets en difficulté se sont vu retirer une partie voire la totalité des prélèvements leur restant à effectuer, et d'autres ayant rempli leurs objectifs se sont vu donner la possibilité de faire quelques prélèvements supplémentaires. Ainsi, parmi les vétérinaires engagés, le nombre de prélèvements chez des veaux malades va de 5 à 11 par cabinet, pour un objectif de 11 à 12 veaux. Concernant les témoins, les cabinets engagés ont prélevé 0 à 7 veaux, pour un objectif de 5 à 6 par cabinet.

Les difficultés rencontrées pour atteindre le nombre souhaité de prélèvements chez des veaux sains peuvent être liées à trois causes majeures. Tout d'abord, les critères d'inclusion de ces veaux étaient très stricts. En effet, ces animaux devaient provenir d'élevages avec peu ou pas de problème de diarrhée néo-natale au cours des années précédentes. Il semble que ces élevages soient peu nombreux. De plus, si les prélèvements des veaux malades répondaient à un motif d'appel de l'éleveur, ceux sur les veaux témoins nécessitaient une visite du vétérinaire sans nécessité médicale. Les visites réalisées portaient donc sur un autre motif (prophylaxie...). Le vétérinaire devait alors prendre le temps de prélever des fèces et du sang sur un veau sain. Enfin, ces derniers sont généralement vigoureux, rendant ces prélèvements plus difficiles encore.

Face à ces difficultés de recrutement, l'étude qui devait initialement être réalisée sur une seule saison de vêlage a été réalisée sur la fin de la saison 2011-2012 et sur le début de la saison 2012-2013. Cette répartition sur deux années et n'incluant pas les mêmes périodes peut également être responsable d'un biais statistique. Cependant, la comparaison des différents résultats entre les années n'a pas mis en évidence de différence significative pour les différents paramètres étudiés. Ce biais semble donc limité.

Concernant le choix des veaux prélevés, un biais de sélection est possible puisqu'il a été fait par les vétérinaires traitants des élevages concernés. On peut penser que les élevages présentant des problèmes récurrents de diarrhée ont été prélevés préférentiellement, les analyses réalisées permettant de progresser quant à la compréhension du problème dans les élevages atteints. Or il a été montré que les *E. coli* isolés d'élevages à problèmes présentent plus fréquemment certains gènes de résistance, et ceux-ci sont également plus susceptibles de présenter une résistance à un ou plusieurs antibiotiques (DE VERDIER *et al.*, 2012). Le choix de ces élevages risque donc de créer un biais dans l'analyse des pourcentages de résistance des colibacilles isolés. L'importance de ce biais n'est cependant pas quantifiable.

4.2. Méthodes d'analyses

4.2.1. Dosage IgG1

La méthode d'immunodiffusion radiale utilisée ici pour doser les IgG1 sérique est une méthode simple, spécifique et reproductible, dont le coût est compatible avec son utilisation dans les élevages. Le caractère automatisé de la mesure évite les biais de mesures liés au manipulateur.

Le kit utilisé ne permet pas le dosage de l'ensemble des Ig colostrales. De plus, il ne renseigne pas sur la spécificité des anticorps présents, ne garantissant donc pas l'efficacité de la protection vis-à-vis des agents pathogènes rencontrés dans les cas de diarrhée néonatale. Cependant, les IgG1 représentent la part principale des Ig colostrales (ALLEMAND, 2008). Ainsi leur dosage est un indicateur qui nous renseigne sur la qualité globale de la prise colostrale.

4.2.2. Kit ELISA pour la recherche de rotavirus et coronavirus

L'utilisation d'un kit ELISA permet l'obtention rapide des résultats attendus, en environ 1h30 dont un total d'une heure dix d'incubation.

De plus, les résultats de sensibilité et de spécificité de ce test sont satisfaisants. En effet, en les comparant aux tests de référence pour chaque agent pathogène, les spécificités obtenues sont supérieures à 90 %, et les spécificités sont respectivement de 77 % et 100 % pour les coronavirus et rotavirus (THORNS *et al.*, 1992). L'accord entre un tel test et une méthode de RT-PCR atteint même 95 % sur une infection expérimentale à rotavirus. De même, l'accord entre un test ELISA et la recherche virale en microscopie électronique varie de 88 à 96 % pour les diagnostics de coronavirose, et atteint 95-96 % pour la détection des rotavirus (BLANCHARD, 2012). Les résultats obtenus sont donc fiables concernant les rotavirus. Concernant les coronavirus, des résultats faussement négatifs sont à craindre, mais face à la facilité de réalisation de ce test, cette méthode a tout de même été retenue.

4.2.3. *Cryptosporidium*

La recherche de *Cryptosporidium* se faisant par observation directe, il existe un biais possible par l'expérimentateur. Deux expérimentateurs étaient présents au laboratoire impliqué dans l'étude. Il aurait été intéressant de connaître l'opérateur pour chaque résultat, afin de vérifier que celui-ci n'était pas influencé par la personne analysant l'échantillon. Il aurait aussi été intéressant de réaliser cette analyse en aveugle. Cependant, ceci aurait nécessité une préparation du prélèvement de fèces pour que les opérateurs ne puissent pas en évaluer la consistance.

Les opérateurs ayant été régulièrement formés et la procédure dûment respectée, nous pouvons penser que la méthode appliquée a permis d'obtenir la sensibilité et la spécificité rapportées pour cette méthode d'analyse.

La méthode appliquée aboutit à un résultat semi-quantitatif. L'estimation de la quantité d'oocystes et donc du score obtenu peut paraître subjective. Dans notre étude, il a été précisément compté le nombre d'oocystes par champ, avant d'en faire la moyenne, comme décrit dans la méthode (ABBASSI *et al.*, 2000). La sensibilité et la spécificité de cette technique sont respectivement de 88,6 % et 93,8 % (TROTZ-WILLIAMS *et al.*, 2005). Les résultats obtenus avec un personnel qualifié sont donc acceptables.

4.2.4. Bactériologie

4.2.4.1. Dénombrement

Là encore, la méthode est standardisée, limitant le biais dû à l'expérimentateur. Le résultat obtenu au laboratoire est donc fiable, et permet d'obtenir un ordre d'idée de la charge bactérienne des fèces.

Cependant, un biais important peut survenir en amont, puisque le dénombrement est très largement influencé par le mode de conservation des fèces. En effet, il est admis depuis des années que le taux de croissance d'une population bactérienne est influencé par la température. *E. coli* étant un germe mésophile, il se développe mieux à température ambiante que dans une atmosphère réfrigérée (RATKOWSKY *et al.*, 1982). Ainsi si les prélèvements

ne sont pas conservés au réfrigérateur, la multiplication bactérienne se poursuit et le dénombrement sera alors d'autant plus important que les fèces seront analysées tardivement. Le Tableau 31 ci-dessous donne le délai d'acheminement au laboratoire et le mode de conservation des prélèvements en fonction du statut des veaux prélevés.

Tableau 31 : Délai d'acheminement au laboratoire et mode de conservation des prélèvements selon le statut des veaux

Nombre de jours d'acheminement	Statut	Température ambiante	Réfrigération	Non déterminé	Total
0	Malades	8	1	4	13
	Témoins	7	0	8	15
	Total	15	1	12	28
1	Malades	49	1	18	68
	Témoins	21	0	11	32
	Total	70	1	29	100
2	Malades	20	0	17	37
	Témoins	6	0	1	7
	Total	26	0	18	44
3	Malades	6	0	1	7
	Témoins	2	0	3	5
	Total	8	0	4	12
4	Malades	2	0	0	2
	Témoins	2	0	0	2
	Total	4	0	0	4
5	Malades	1	0	0	1
	Témoins	1	0	0	1
	Total	2	0	0	2
Total	Malades	86	2	40	128
	Témoins	39	0	23	62
	Total	125	2	63	190

On observe que 14,7 % des prélèvements sont arrivés au laboratoire le jour même, 52,6 % sont arrivés le lendemain, 23,2 % ont mis deux jours à arriver et 9,5 % ont mis trois jours ou plus, avec un maximum de 5 jours pour deux prélèvements. Dans la très grande majorité des cas, les prélèvements étaient conservés à température ambiante. Ceci pourrait expliquer pourquoi les derniers prélèvements réalisés lors de la première année de prélèvement, soit en avril-mai 2012, aient présenté des charges bactériennes plus importantes. En effet, la hausse des températures peut être intervenue. En hiver, si les prélèvements sont conservés dans les véhicules, la température extérieure n'est souvent pas très différente de celle maintenue dans un réfrigérateur, limitant la croissance bactérienne.

Face à ce biais important, l'exploitation de ce résultat sans connaître les modalités d'acheminement est impossible.

4.2.4.2. Typage

La méthode de séroagglutination sur lame utilisée dans notre étude manque certainement de sensibilité et de spécificité (JAQIELSKI *et al.*, 1993). De plus, il arrive que l'observation directe soit douteuse. Le recours à l'observation après grossissement (loupe, microscope) peut alors être nécessaire. Une bonne formation du personnel est donc nécessaire. Au laboratoire impliqué dans l'étude, les kits utilisés comprennent des témoins positifs et négatifs, qui permettent de valider les résultats obtenus et d'en vérifier la reproductibilité.

Ainsi, face à son faible coût et à sa rapidité de réalisation, cette méthode présente tout de même un certain intérêt, et reste très informative.

4.2.4.3. Antibiotogrammes

Là encore, la méthode de réalisation des antibiotogrammes est standardisée, et répond à une norme française (Norme Française U 47-107, 2004), dont le respect est indispensable à l'obtention d'une accréditation. De plus, des contrôles internes et externes, avec la participation à des essais inter-laboratoires d'aptitude coordonnés par le Resapath, permettent de valider la bonne maîtrise de cette technique. Les résultats obtenus sont donc fiables.

Les antibiotiques testés pour *E. coli* sont principalement ceux disponibles en thérapeutique vétérinaire à destination des bovins allaitants. D'autres ne sont pas disponibles mais sont testées à des fins épidémiologiques, afin de détecter certains profils d'antibiorésistance (détection des BLSE se basant entre autres sur la sensibilité à la céfoxitine) ou de suivre l'évolution possible des résistances afin d'adapter le conseil au vétérinaire. Sur ce point, le meilleur exemple est le test de la sensibilité à l'acide nalidixique, qui permet de prévoir le risque d'apparition de résistance aux fluoroquinolones. Ainsi, en cas de résultat résistant à l'acide nalidixique, le laboratoire rendait un résultat résistant aux fluoroquinolones, même si le diamètre obtenu aurait initialement classé la souche comme sensible ou intermédiaire. Ainsi, le vétérinaire ne doit pas utiliser ces molécules critiques dont le risque d'émergence d'une résistance chez le germe testé est important (HAENNI, 2013).

Les résultats des antibiotogrammes sont cependant à prendre avec précaution, la réussite des traitements *in vivo* n'étant pas toujours corrélée aux résultats obtenus en laboratoire comme nous l'avons vu (PATERSON *et al.*, 2001 ; YU *et al.*, 2003).

4.2.5. Statistiques

Le nombre de veaux prélevés était suffisant pour garantir une exploitation statistique fiable des taux sériques d'IgG1. Concernant les agents pathogènes rencontrés, le nombre de témoins était trop faible, avec par exemple trop peu de cas d'infection par des coronavirus ou des cryptosporidies pour ce groupe. Ainsi, aucune analyse n'a pu être faite pour ces deux agents.

4.3. Questionnaires

Il a été difficile de réaliser un questionnaire portant sur les principaux facteurs de risque décrits dans la littérature sans qu'il soit trop long à remplir. Faisant quatre pages, le temps de remplissage était d'environ 15 minutes. Cependant, de nombreux éleveurs n'ont pas répondu correctement à l'ensemble du questionnaire, et plusieurs questions étaient souvent laissées sans réponse. Il arrivait aussi que les réponses ne soient pas assez précises ou soient incorrectes. Ceci tient d'une part au fait que certaines questions étaient mal formulées, donnant lieu à des réponses trop vagues. D'autre part, dans certains cas, des erreurs par inattention ou incompréhension étaient faites par les éleveurs.

Dans un premier temps, les questionnaires devaient être laissés aux éleveurs le jour du prélèvement afin qu'ils préparent les réponses. Ils étaient ensuite contactés par téléphone pour répondre directement. Ceci permettait de faire préciser les réponses, afin d'exploiter

l'ensemble des questions du questionnaire. Les premiers prélèvements réalisés ayant été reçus très progressivement (pas plus de 10 prélèvements par semaine dans le premier mois et demi), ce fonctionnement était adapté. Mais avec l'augmentation du nombre hebdomadaire de prélèvements, de grosses difficultés techniques se sont rapidement posées, avec en premier lieu la très longue durée de réalisation de cette tâche. En effet, bien qu'une case y soit dédiée sur la feuille de commémoratifs, fournie avec le prélèvement (présente pour tous les veaux sauf deux), le numéro de téléphone de l'éleveur n'était pas toujours renseigné. Il fallait alors appeler le cabinet vétérinaire préleveur pour l'obtenir. Ensuite, il était souvent très difficile de joindre l'éleveur directement. Enfin, lorsque celui-ci était disponible, il n'avait que rarement l'ensemble des informations demandées. Ainsi, cette technique a été abandonnée. Les éleveurs devaient alors remplir eux-mêmes leur questionnaire et le faire parvenir au vétérinaire préleveur. Ce dernier faisait ensuite un envoi groupé au cabinet qui centralisait le tout. Ainsi, un certain nombre de questionnaires sont manquants, et les réponses sont souvent incomplètes. Il serait intéressant pour une étude ultérieure d'améliorer le questionnaire, afin de rendre les questions plus claires et le temps de remplissage moins important. Le système d'appel aux éleveurs fonctionnait bien mais il aurait nécessité plus de personnel.

De même, il était prévu de rappeler l'ensemble des éleveurs lorsque le veau prélevé atteignait 30 jours de vie. Ceci permettait de savoir si les veaux malades avaient survécu, et si les veaux et les élevages témoins n'avaient pas été confrontés à des épisodes de diarrhée. Là encore, pour des difficultés techniques, cette méthodologie a été abandonnée. L'utilisation du logiciel BDIVET, donnant accès aux informations de la DGAL et répertoriant dans SIGAL les décès et les sorties d'animaux a été nécessaire. Ainsi, pour un veau malade déclaré mort quelques jours après la réalisation du prélèvement, il a été considéré qu'il était mort des suites de sa diarrhée. Pour ceux déclarés morts plusieurs semaines après, ils ont été classés comme étant morts d'une autre cause, bien que ceci ne soit pas forcément toujours exact. Il serait également intéressant pour une étude ultérieure de poursuivre les appels aux éleveurs, méthode plus efficace et plus précise.

4.4. Dosage des IgG1

4.4.1. Valeurs obtenues

La moyenne des taux sériques d'IgG1 obtenue est de 16,2 g/L, ce qui est donc assez supérieur au seuil de 10 g/L utilisé pour conclure à un échec de transfert colostral. Cependant, 37,9 % des veaux prélevés présentent des taux inférieurs à ce seuil, avec 48,7 % des malades et 15,5 % des témoins. Ainsi, bien que la valeur moyenne paraisse satisfaisante, de grandes disparités sont observées entre les veaux et un échec de transfert d'immunité passive est à noter chez un grand nombre d'entre eux, principalement chez les veaux malades.

4.4.2. Analyse statistique des valeurs obtenues et des réponses aux questionnaires

Nous avons observé qu'il existait une différence significative entre les taux sériques d'IgG1 de deux veaux malades et témoins ($p = 0,0004$), leurs taux moyens étant respectivement de 14,4 g/L et 20,0 g/L. Une interprétation en termes de causalité serait tentante, mais des facteurs de confusions sont à envisager avant cela. En premier lieu, l'âge des animaux lors du prélèvement sanguin est à envisager comme facteur de confusion potentiel dans la quantification de l'association causale entre « statut » et « échec du transfert colostral ». En effet, nous avons vu qu'il existe une différence significative entre les âges moyens des veaux des deux groupes lors des prélèvements sanguins, ceux des veaux malades ayant été réalisés en moyenne à 4,6 jours tandis que ceux des veaux témoins l'ont été à 3,8 jours ($p = 0,007$). Il existe donc bien une association entre les variables « âge » et « statut » des veaux. Cependant,

pour que l'âge soit un facteur de confusion potentiel, il faut aussi qu'il soit associé à la variable « échec du transfert colostrale » avec $p < 0,20$. Or quel que soit le seuil choisi (valeur entière entre 8 et 20 g/L), aucune différence significative n'est à noter au seuil de 20 %. L'âge n'est donc pas un facteur de confusion. Cependant, d'autres variables peuvent jouer ce rôle, et il faudrait les étudier toutes avant de pouvoir parler de causalité entre le statut des veaux et leur taux d'IgG1. L'interprétation de cette différence statistique observée entre ces deux variables est donc délicate, et doit se limiter à une observation.

Nous avons également observé une association surprenante entre la naissance nocturne des veaux et l'échec de transfert colostrale à partir du seuil de 16 g/L. En effet, la nuit, la surveillance des vêlages paraît plus compliquée. On attendrait donc une fréquence supérieure des défauts de transfert colostrale chez ces veaux. L'observation faite ici, qui contredit le résultat attendu, n'est vraie que chez les veaux malades. Ceci laisse à penser que d'autres facteurs interviennent. Ainsi, les conditions nocturnes des premières heures de vie de ces veaux seraient peut-être plus favorables à une bonne prise colostrale, mais exposerait le veau à d'autres facteurs de risque de diarrhée, en particulier en ce qui concerne l'ambiance et l'hygiène du bâtiment.

Enfin, nous avons également observé une association surprenante entre la complémentation des mères en oligoéléments et les taux d'IgG1 chez les veaux témoins. En effet, face à la mise en place d'une telle complémentation, nous aurions attendu des taux d'IgG1 équivalents ou supérieurs chez les veaux. Or ils ont été trouvés inférieurs chez les veaux témoins nés de mères complémentées. Plusieurs causes peuvent expliquer ce paradoxe. Tout d'abord, les effectifs considérés pour cette analyse sont faibles, avec seulement 31 veaux témoins pris en compte (9 nés de mères complémentées et 22 nés de mères non complémentées). De plus, le classement dans la catégorie complémentée ou non reposait sur la réponse de l'éleveur à la question « complémentez-vous les vaches en oligoéléments en fin de gestation ? ». Il serait intéressant de préciser le complément utilisé et le protocole de distribution. Enfin, la formulation en poudre ou en pierre à lécher de ces compléments n'assure pas toujours une ingestion homogène au sein du troupeau. Ainsi, certaines vaches dominées peuvent avoir un accès restreint à ces éléments. Un biais de classement est alors possible, ces vaches étant considérées comme complémentées sans qu'elles n'aient pour autant un réel accès à ces oligoéléments.

4.5. Agents pathogènes isolés

4.5.1. *E. coli*

Cet agent a été observé chez tous les individus prélevés à l'exception d'un veau malade. Ainsi, 99,2 % des malades et 100 % des témoins sont porteurs d'*E. coli*. Ce résultat diffère de celui obtenu par HERRERA-LUNA *et al.* (2009), étude dans laquelle ce germe était isolé par culture bactérienne dans seulement 17 % des fèces des 230 veaux diarrhéiques ou sains testés. BOUQUET (2011) observe un résultat intermédiaire, avec 51 % de fèces positifs. Leur présence dans la flore digestive naturelle explique la forte prévalence que l'on peut observer. Bien que leur croissance soit rapide, le protocole pour la culture de ce germe doit être respecté précisément. En effet, l'aspect des colonies peut varier en fonction des conditions de culture. Ainsi, si leur aspect n'est pas typique des *E. coli*, les colonies ne sont pas prises en compte, ce qui sous-estime la prévalence de l'excrétion fécale de ce germe. De même, des traitements antibiotiques peuvent réduire cette excrétion fécale. Enfin, si les prélèvements n'ont pas été correctement réalisés, une contamination environnementale est possible. C'est par exemple le cas des prélèvements ramassés au sol trop longtemps après leur excrétion. L'isolement d'*E. coli* dans ces prélèvements peut alors être exagérément fréquent. Ces détails techniques

peuvent en partie expliquer une telle variation dans les résultats de ces études, qui appliquent par ailleurs des méthodes d'analyse assez similaires.

D'autre part, le rôle d'*E. coli* en tant qu'agent pathogène est discutable. La présence de facteurs de virulence chez ces souches est un argument en faveur de cette hypothèse. Ainsi, sur l'ensemble des souches isolées, on observe respectivement chez les malades et chez les sains 50,8 % et 59,0 % d'*E. coli* de type CS31A, 7,7 % et 0 % de F5, 4,6 % et 10,3 % de F17 et 3,1 % et 0 % de F5-F41. Concernant les souches F5, leur prévalence chez les veaux malades est proche des 9,2 % observés par BOURGOIN (1996). Elle est par contre plus importante que celle rapportée par BLANCHARD (2012) ou NACIRI *et al.* (1999), mais aucun n'est observé chez un veau témoin, contrairement aux 0,3 % obtenus dans cette dernière étude. Il est intéressant de noter que les études portant sur la présence des gènes codant pour ces facteurs de virulence donnent des prévalences supérieures. Ainsi, NGUYEN *et al.* (2011) ont détecté par PCR la présence des gènes codant les *fimbriae* F5, F17 et F41 chez respectivement 14,9 %, 22,8 % et 7,1 % des souches isolées de veaux diarrhéiques. Ceci peut s'expliquer par deux hypothèses : soit les germes isolés dans cette étude présentent des prévalences de portage de ces *fimbriae* supérieures, soit la présence du gène n'implique pas son expression systématique. Ces deux hypothèses peuvent bien sûr intervenir conjointement. Bien que le nombre de souches typables ne soit pas suffisant dans notre étude pour montrer un quelconque effet de la vaccination des mères sur la protection des veaux nouveau-nés, cette méthode de prévention peut être responsable d'une modification des types d'*E. coli* identifiés dans les élevages. En effet, dans les années 1980, les taux de prévalence des *E. coli* F5 atteignaient 20 % chez les veaux malades (CONTREPOIS *et al.*, 1985). Or des vaccins contre ces souches colibacillaires existent depuis plusieurs années, le premier brevet ayant été déposé en 1979 (CONTREPOIS, 1996).

En ce qui concerne les valeurs de dénombrement, les valeurs obtenues sont très variables, puisqu'elles vont de 1.10^6 à presque 3.10^{10} UFC/g de fèces. Aucune différence n'a été observée en fonction du statut, à l'exception des prélèvements arrivés au laboratoire en trois jours. Cependant, les grandes variations dans le délai d'acheminement des prélèvements et l'absence de réfrigération de ceux-ci rendent cette exploitation difficile. Pour que ceci soit possible, il faudrait d'avantage standardiser ces procédures, en imposant la réfrigération des prélèvements et leur acheminement devant se faire dans les 24 heures.

4.5.2. Rotavirus et coronavirus

Dans notre étude, 13,4 % des prélèvements étaient positifs pour rotavirus, avec 18,4 % des malades et 3,3 % des témoins. Ces résultats sont assez proches de ceux de HERRERA-LUNA *et al.* (2009), qui prennent en compte des veaux de 0 à 6 semaines et chez qui 9,1 % des veaux étaient positifs pour ce virus (21,1 % des malades et 1,4 % des témoins). D'autres études obtiennent des prévalences inférieures (NACIRI *et al.*, 1999 ; BEJAN *et al.*, 2008). Ceci peut venir en partie du fait que l'âge des veaux inclus diffère parfois. Ainsi, chez des veaux malades de 1 jour à 6 mois présentant de la diarrhée, la prévalence de ce virus n'est plus que de 15,9 % (BEJAN *et al.*, 2008). Cependant, d'autres études rapportent des prévalences supérieures. C'est par exemple le cas de BLANCHARD (2012), pour qui 26,6 % des veaux malades de 1 à 32 jours sont positifs, ou encore BOUQUET (2011) qui rapporte 27 % de résultats positifs chez les veaux diarrhéiques de 2 à 10 jours. Pour les veaux diarrhéiques de 1 à 8 jours, BOURGOIN (1996) rapporte même une prévalence de 36,9 % pour les rotavirus.

Concernant les coronavirus, les observations sont assez similaires, seuls les chiffres varient quelque peu. La littérature rapporte 6,5 à 40 % de veaux malades positifs. Notre résultat est donc dans la moyenne des prévalences rapportées, avec 24 % de veaux malades positifs. Contrairement à ce que l'on observait pour les rotavirus, les résultats de BOURGOIN (1996)

sont bien inférieurs cette- fois, avec 7,7 % de fèces diarrhéiques positifs. Les témoins sont eux aussi infectés, avec une prévalence de 3,3 %, valeur comprise entre les 0,3 % rapportés par NACIRI *et al.* (1999) et les 16,4 % observés par HERRERA-LUNA *et al.* (2009).

4.5.3. *Cryptosporidium*

Dans notre étude, 33,0 % des veaux malades étaient positifs pour *Cryptosporidium*. Cette valeur est très proche de celles observées par BOUQUET (2011) et BLANCHARD (2012). HERRERA-LUNA *et al.* (2009) ont mis en évidence une excrétion d'oocystes chez 25,6 % des veaux malades, et notent eux aussi une différence significative entre les veaux malades et les veaux témoins. Ceci peut être lié à l'âge des veaux prélevés. En effet, nous avons vu que le pic d'excrétion des oocystes avait lieu entre 8 jours et 2 à 3 semaines d'âge selon les études. Or les veaux inclus dans notre protocole devaient avoir moins de 8 jours, et les veaux témoins sont significativement plus jeunes que les veaux malades lors du prélèvement de fèces ($p = 0,007$), avec un âge moyen de 3,8 jours contre 4,6 jours pour les veaux malades. Ceci est illustré sur la Figure 28, sur laquelle on observe que peu de prélèvements de veaux témoins de plus de 6 jours ont été réalisés. Or la prévalence chez des veaux sains de cet âge étant faible, le nombre de prélèvements effectués dans ce groupe n'est pas suffisant pour permettre une telle exploration statistique.

4.5.4. Influence de la vaccination des mères

Nous avons vu que contre toute attente, aucune association statistique entre la vaccination des mères et le statut des veaux ou leur excrétion virale ou parasitaire n'a pu être mise en évidence, avec ou sans réussite du transfert d'immunité passive (avec un seuil fixé à 10 g/L). Tout d'abord, il faut noter que le nombre d'animaux pour lesquels le statut vaccinal est connu est faible (44 mères de veaux malades et 22 mères de veaux témoins). Ceci est d'autant plus vrai si l'on ne considère que les veaux pour lesquels le taux d'IgG1 sérique dépasse 10 g/L. Parmi ceux-ci, seulement 25 veaux malades et 19 veaux témoins sont issus de mères vaccinées. Ces faibles effectifs font perdre en puissance statistique, premier élément pouvant expliquer ce résultat.

De plus, les protocoles vaccinaux nécessitent le plus souvent deux injections au cours de la gestation. La date de mise bas doit pour cela être connue assez précisément (MILLEMANN & BELBIS, 2011). Or en élevage allaitant, le recours à l'insémination artificielle est rare, et la saillie naturelle ne permet pas toujours une connaissance exacte de la date de la saillie fécondante. La date de mise bas n'étant pas précisément connue, le suivi rigoureux des protocoles de vaccination est compliqué, ce qui peut être à l'origine d'échecs vaccinaux. Ceci peut constituer un biais de classement dans notre étude, puisque les animaux mal vaccinés, qui devraient être classés avec les non vaccinés ou ne pas être pris en compte, sont rapportés comme vaccinés par les éleveurs et donc classés comme tel, à tort.

Enfin, les études rapportant l'efficacité d'une telle vaccination sont nombreuses, concernant la réduction de la fréquence ou de la sévérité des diarrhées, ou encore l'excrétion fécale chez les veaux malades (JAYAPPA, 2008 ; PRAVIEUX, 2007 ; RABINOVITZ, 2012). L'hypothèse d'un échec vaccinal dû aux vaccins eux-mêmes est donc exclue, ceci étant d'autant plus vrai que les fabricants et les lots des vaccins utilisés variaient d'un élevage à un autre.

Il aurait été intéressant de noter la sévérité des diarrhées des veaux malades prélevés, ainsi que leur durée. Peut-être aurions-nous pu observer un effet de la vaccination sur ces paramètres.

4.6. Association d'agents pathogènes

Si l'on ne considère que les associations entre les virus et *Cryptosporidium*, les résultats obtenus sont très proches de ceux de BEJAN *et al.* (2008). Seules les fréquences de deux

associations diffèrent. Tout d'abord, la prévalence des coronaviroses simples est supérieure dans notre étude, avec 14,4 % des cas de diarrhée, contre 2,27 % pour BEJAN *et al.* (2008). Par contre, l'association de ces trois agents pathogène n'a été observée que dans un seul cas pour nous, soit 0,8 %, contre 4,55 % des cas dans cette autre étude. La différence d'âge des sujets prélevés peut là encore intervenir, puisque les veaux de l'étude de BEJAN *et al.* (2008) vont jusqu'à 6 mois d'âge.

L'étude des associations des souches F5 d'*E. coli* comparée aux résultats de BOURGOIN (1996) met en évidence dans notre étude une prévalence très inférieure des souches F5 seules (20,1 % contre 5,6 %), des cryptosporidioses seules (23,7 % contre 15,2 %) et des associations rotavirus-*Cryptosporidium* (11,5 % contre 4,0 %). En contre-partie, nos prévalences sont supérieures en ce qui concerne les coronaviroses seules (5 % contre 12,8 %), les rotaviroses seules (4,3 % contre 10,4 %) et les associations coronavirus-*Cryptosporidium* (2,9 % contre 4,0 %). Les autres associations sont retrouvées dans des proportions similaires. Bien que l'ensemble de ces agents pathogènes puisse présenter des porteurs sains, il est intéressant de noter que l'association de plusieurs d'entre eux est statistiquement associée à un statut malade du veau. Ceci corrobore l'hypothèse d'une association dans la pathogénie des diarrhées, le rôle joué par chacun des agents étant alors difficile à prédire.

4.7. Antibiorésistance chez les *E. coli* isolés

4.7.1. Taux de résistance chez les germes isolés de veaux malades

Le Resapath répertorie l'ensemble des résistances observées chez les souches d'*E. coli* isolées lors de pathologie digestive chez les jeunes bovins. Il est donc intéressant de comparer nos valeurs obtenues avec celles-ci, permettant ainsi de se faire une idée de nos résultats par rapport à la situation en France.

D'une manière générale, les taux de résistance dans notre étude sont inférieurs à ceux du Resapath (CHAZEL *et al.*, 2009 ; CHAZEL *et al.*, 2010 ; CHAZEL *et al.*, 2011 ; JARRIGE *et al.*, 2012 ; JARRIGE *et al.*, 2013), avec jusqu'à presque 25 % de moins en ce qui concerne les résistances aux tétracyclines. Ces différences sont toutes significatives, avec des OR allant de 0,2706 à 0,6583 et des p tous inférieurs à 0,05. Les résultats concernant le ceftiofur, la gentamicine et la colistine sont par contre très proches. Enfin, pour une molécule, les taux observés dans notre étude sont supérieurs à ceux du Resapath. C'est le cas de la cefoxitine, molécule non disponible en thérapeutique mais testée afin d'améliorer la détection des souches productrices de BLSE.

Ces différences observées sont là encore à relativiser du fait de l'âge des animaux, qui vont jusqu'à plusieurs mois dans les différents rapports du Resapath. Bien que ces valeurs soient informatives, il est d'autant plus intéressant de suivre leur évolution au cours des années à venir et en fonction des modifications dans la pratique de l'antibiothérapie.

4.7.2. Différence de résistance en fonction du statut des veaux

Nous avons vu que les taux de résistance des germes isolés de veaux malades étaient statistiquement supérieurs à ceux des veaux témoins pour plus de la moitié des molécules testées. Un constat identique a été fait en Grande Bretagne par GUNN *et al.* (2003). Il est particulièrement important de noter que cela est vrai pour certains des antibiotiques critiques, à savoir la cefquinome, et les trois quinolones testées.

4.7.3. Lien avec l'utilisation d'antibiotiques dans les élevages

Face à ces différences en fonction des statuts, il est tentant de conclure à l'implication de l'utilisation d'antibiotiques. En effet, dans les élevages présentant de nombreux problèmes de diarrhée néonatale, on peut supposer que les veaux sont plus souvent exposés à des molécules

antibiotiques, à titre curatif ou préventif. L'étude de SATO *et al.* (2005) semble également aller dans ce sens. En effet, les élevages biologiques, dans lesquels l'usage d'antibiotiques est très limité, présentent des taux de résistance chez les colibacilles isolés des veaux inférieurs à ceux observés en élevage conventionnel pour de nombreuses molécules, telles que les aminosides testés, la tétracycline ou encore les sulfamides potentialisés.

Dans notre étude, nous avons vu que chez les veaux malades, les expositions aux sulfamides et aux céphalosporines étaient statistiquement associées à des taux de résistance supérieurs. Bien que difficile à mettre en évidence en pratique, ceci s'explique aisément par la connaissance des mécanismes de sélection des résistances. Ainsi, l'exposition répétée des flores bactériennes à des molécules antibiotiques confère un avantage sélectif aux germes possédant des gènes de résistance aux molécules en cause. Leur proportion au sein de la population totale a donc tendance à augmenter.

Pour prouver statistiquement l'existence d'une relation causale directe entre l'utilisation des antibiotiques et la résistance observée dans les élevages, de nombreux biais de confusion sont à prendre en compte. En effet, nous avons vu que de nombreux paramètres de la conduite d'élevage augmentaient le risque d'apparition d'antibiorésistance. Ainsi, l'usage des antimicrobiens dans un cadre préventif n'aura peut-être pas le même impact que lors d'une utilisation curative. De même, si l'antibiotique peut détruire un grand nombre des bactéries sensibles, le système immunitaire de l'animal malade joue également un rôle important dans la guérison. Ainsi, l'ensemble des éléments influant sur la qualité du transfert d'immunité passive pourraient intervenir.

Il convient donc de rester prudents quant aux conclusions à tirer de ces analyses. Cependant, des molécules critiques étant concernées, il est essentiel d'adapter les pratiques en matière d'antibiothérapie, afin de limiter le développement de ces résistances. Comme l'ont montré KANEENE *et al.* (2009), la diminution de l'utilisation préventive d'antibiotique s'accompagne d'une réduction de la fréquence des multirésistances. Bien que cet effet ne soit pas durable et que d'autres facteurs interviennent assurément, cette réduction constitue une première étape indispensable.

CONCLUSION

Malgré les moyens médicaux disponibles actuellement, les diarrhées néonatales sont encore des affections de première importance en élevage bovin, et plus particulièrement dans les élevages allaitants chez qui le veau représente la principale source de revenus de l'éleveur. L'Allier étant un département du bassin charolais, ces maladies représentent un manque à gagner très important pour certaines exploitations. Cette étude avait pour but de faire le point sur les agents pathogènes impliqués et les facteurs de risque associés à cette pathologie. Ainsi, les agents viraux (rotavirus et coronavirus) et parasitaires (*Cryptosporidium*) recherchés ont tous été identifiés, majoritairement chez les veaux diarrhéiques, et souvent en association. *E. coli* a aussi été isolé chez presque tous les veaux, et des facteurs de virulence ont été mis en évidence chez plus d'un tiers d'entre eux. Cependant, le point essentiel concernant ce germe naturellement présent dans la flore commensale concerne ses taux de résistance aux antibiotiques. En effet, en tant que réservoir de gènes de résistance, qu'il peut transmettre aux germes pathogènes qui entrent en contact avec lui, il permet l'entretien et la dissémination de l'antibiorésistance. Les bovins allaitants étant destinés à la consommation humaine, la transmission de ces germes à sensibilité parfois réduite pour plusieurs familles d'antibiotiques pose un réel problème de santé publique. Ainsi, des mesures s'imposent pour ralentir, voire stopper l'évolution de ce phénomène. Ceci nécessite tout d'abord de comprendre les mécanismes en jeu et leurs facteurs favorisants. Notre étude a permis de montrer que l'utilisation de sulfamides ou de céphalosporines chez les veaux malades est statistiquement associée à des taux de résistance supérieurs. Ainsi, il semble intéressant de réduire l'utilisation de ces molécules antibactériennes, en privilégiant l'amélioration des conduites d'élevage. Une amélioration de l'hygiène et de la gestion de la période périnatale, avec en particulier une bonne surveillance du transfert d'immunité colostrale, semble associée à une incidence moindre des cas de diarrhée. De plus, bien que notre étude n'ait pas permis de le prouver, la vaccination des mères pourrait également intervenir pour prévenir la déclaration de la maladie chez les veaux nouveau-nés. L'ensemble de ces mesures préventives devrait être mis en place pour réserver l'utilisation des anti-infectieux aux cas les plus sévères.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBASSI, H., WYERS, M., CABARET, J., & NACIRI, M. (2000). Rapid detection and quantification of *Cryptosporidium baileyi* oocysts in feces and organs of chickens using a microscopic slide flotation method. *Parasitol. Res.*, **86**, 179-187.
- ALALI, W., SARGEANT, J., NAGARAJA, T., & DEBEY, B. (2004). Effect of antibiotics in milk replacer on fecal shedding of *E. coli* O157:H7 in calves. *J. Anim. Sci.*, **82**(7), 2148-2152.
- ALBIN, C. (2002). Entérites diarrhéiques du veau charolais. Etude de la diversité des tableaux hydro-électrolytiques et acido-basiques. Thèse Méd. Vét., Toulouse, n°4149, 133p.
- ALDRIDGE, B.M., GARRY, F.B., & ADAMS, R. (1993). Neonatal septicemia in calves: 25 cases (1985-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **203**(9), 1324-1329.
- ALLEMAND, H. (2008). Evaluation par la technique d'immunodiffusion radiale de la qualité du colostrum et du transfert colostral chez les bovins. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°80, 150p.
- ALY, S., PITHUA, P., CHAMPAGNE, J., & HAINES, D. (2013). A randomized controlled trial on preweaning morbidity, growth and mortality in Holstein heifers fed a lacteal-derived colostrum replacer or pooled maternal colostrum. *Vet. Res.*, **9**(168), 1-7.
- ANSARI, S., SPRINGTHORPE, V., & SATTAR, S. (1991). Survival and vehicular spread of human rotaviruses : possible relation to seasonality of outbreaks. *Rev. Infect. Dis.*, **13**(3), 448-461.
- ANSES. (2013a). Les résistances aux insecticides, antiparasitaires, antibiotiques... Comprendre où en est la recherche. *Les cahiers de la recherche : Santé, Environnement, Travail.*, 80p.
- ANSES. (2013b). Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2012 : volume et estimation de l'exposition des animaux aux antibiotiques, 76p.
- ARCANGIOLI, M., LEROY-SETRIN, S., MARTEL, J., & CHASLUS-DANCLA, E. (1999). A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella typhimurium* DT104. *F.E.M.S. Microbiol. Lett.*, **174**, 327-332.
- BALLOU, M., COBB, C., HULBERT, L., & CARROLL, J. (2011). Effects of intravenous *Escherichia coli* dose on the pathophysiological response of colostrum-fed Jersey calves. *Vet. Immunol. and immunop.*, **141**, 76-83.
- BAMPIDIS, V., CHRISTODOULOU, V., FLOROU-PANERI, P., & CHRISTAKI, E. (2006). Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. *J. Vet. Med. A.*, **53**, 154-156.
- BARRON, P. (2002). Etiopathogénie et prévention de la colibacillose du veau : revue bibliographique. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°107.
- BAUER, A.W., KIRBY, WM, SHERRIS, J.C., & TURCK, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**(4), 493-496.
- BEJAN, A., PACURAR, S., IOVU, A., TITILINCU, A., & COZMA, V. (2008). The frequency of the elimination of *Cryptosporidium* spp., F5 *E. coli*, rotavirus and coronavirus in calves in Central and North West Romania. *Bull. U.S.A.M.V., Vet. Med. US*, **65**(2), 44-48.

- BENDALI, F., SANAA, M., BICHET, H., & SCHELCHER, F. (1999). Risk factors associated with diarrhoea in newborn calves. *Vet. Res.*, **30**, 509-522.
- BERMER, H., & DENNIS, P. (1996). Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate. In : *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. 2nd ed. Washington DC, FC Neidhardt, 1553–1569.
- BESSER, T., GAY, C., & PRITCHETT, L. (1991). Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **198**(3), 419-422.
- BEVERIDGE, T. (1999). Structures of Gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. *J. Bacteriol.*, **181**(16), 4725-4733.
- BIELMANN, V., GILLAN, J., PERKINS, N.R., SKIMORE, A.L., GODDEN, S., & LESLIE, K.E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.*, **93**(8), 3713-3721.
- BLACKBURN, D. (2010). The production of the *E. coli* common pilus by enterotoxinogenic *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. These Med., University of Florida, 75p.
- BLACKBURN, D., HUSBAND, A., SALDANA, Z., NADA, R., KLENA, J., QADRI, F., *et al.* (2009). Distribution of the *Escherichia coli* common pilus among diverse strains of human enterotoxigenic *E. coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **47**(6), 1781-1784.
- BLANCHARD, P. (2012). Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.*, **28**, 443-464.
- BONAÏTI, B., BIBE, B., HAVY, A., & MENISSIER, F. (1988). Comparaison des races bovines Charolaise, Limousine et Maine-Anjou en race pure et en intercroisement. 2. Performances d'engraissement des taurillons purs et F1. *Génét. Sél. Évol.*, **20**(3), 343-356.
- BOSSE, P. (2010). *Travaux dirigés : "logement en élevage bovin laitier"*, Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Zootechnie, p. 15.
- BOUQUET, B. (2011). Les clostridies sont (aussi) des agents de diarrhée néonatale. *Point Vét.*, **42**(321), 10-11.
- BOURGOIN, H. (1996). La place de la cryptosporidiose dans les maladies néonatales du veau en Corrèze. *Bull. G.T.V.*, **2**, 19-41.
- BRAUN, J., TAINURIER, D., LAUGIER, C., BENARD, P., THOUVENOT, J., & RICO, A. (1982). Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves - A test of colostrum intake. *J. Dairy Sci.*, **65**(11), 2178-2181.
- BRUUS, M., & LAURITSEN, J.M. (2008). *EpiData* (3.1).
- CAJA, G., SALAMA, A., & SUCH, X. (2006). Omitting the dry-off period negatively affects colostrum and milk yield in dairy goats. *J. Dairy Sci.*, **89**, 4220-4228.
- CAMART-PERIE, A. (2006). *Salmonella*, salmonelloses bovines : état des lieux, épidémiologie en France. Thèse Méd. Vét., Alfort, n° 142.
- CARRIERE, C. (2007). *Génétique bactérienne*. Polycopié. Faculté de médecine Montpellier-Nîmes. Unité pédagogique de bactériologie, 4p.
- CARSON, C., REID-SMITH, R., IRWIN, R., MARTIN, W., & MACEWEN, S. (2008). Antimicrobial resistance in generic fecal *E. coli* from 29 beef farms in Ontario. *The Can. J. Vet. Res.*, **72**, 119-128.
- CA-SFM. (2013). Recommandations 2013 du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 60p.
- CATTOIR, V. (2008). Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Dans *Mise Au Point en Anesthésie Réanimation, communications 2008*, 203-209.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2013). *EpiInfo* (7.1.3.0).
- CHANG, K., CHENG, S., CHEN, Y., HUANG, H., & LIOU, J. (2012). Nanoscopic analysis on pH induced morphological changes of flagella in *E. coli*. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 1-8.

- CHASLUS-DANCLA, E., CLOECKAERT, A., PAYOT, S., & BAUCHERON, S. (2002). Les multiples façons de faire de la résistance aux antibiotiques. Dans J.P. LAFONT, J. MARTEL, R. MAILLARD, E. CHASLUS-DANCLA, J. PUYT, A. LAVAL, *et al.*, *Antibiothérapie bovine : acquis et consensus*. Les éditions du Point Vétérinaire, 53-67.
- CHATELLET, M. (2007). Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou. Thèse Méd. Vét., Alfort n°43, 224p.
- CHAUVIN, C., COLIN, P., GUILLOT, J., LAVAL, A., MILLEMANN, Y., MOULIN, G., *et al.* (2006). Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. AFSSA, 214p.
- CHAVATTE, P., CLEMENT, F., CASH, R., BIOL, M.I., & GRONGNET, J.F. (1998). Field determination of colostrum quality by using a novel, practical method. *Am. Asoc. Equine Pract. Proc.*, **44**, 206-209.
- CHAZEL, M., JOUY, E., MEUNIER, D., HAENNI, M., GAY, E., *et al.* (2009). Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2008, Maisons-Alfort, France, 104p.
- CHAZEL, M., HAENNI, M., GAY, E., CALAVAS, D., MADEC, J., *et al.* (2010). Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2009, Maisons-Alfort, France, 156p.
- CHAZEL, M., JOUY, E., HAENNI, M., GAY, E., & MADEC, J. (2011). Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2010, Maisons-Alfort, France, 158p.
- CHECKLEY, S., CAMPBELL, J., CHIRINO-TREJO, M., JANZEN, E., & WALDNER, C. (2010). Association between antimicrobial use and prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from feedlot cattle in western Canada. *Can. Vet. J.*, **51**, 853-861.
- CHIGERWE, M., COONS, D., & HAGEY, J. (2012). Comparison of colostrum feeding by nipple bottle versus oroesophageal tubing in Holstein dairy bull calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **241**(1), 104-109.
- CHO, Y., SUN, D., COOPER, V., DEWELL, G., SCHWARTZ, K., & YOON, K. (2012). Evaluation of a commercial rapid test kit for detecting bovine enteric pathogens in feces. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **24**(3), 559-562.
- COLLECTIF (2013a). Faites votre calcul de rentabilité [en-ligne], [http://www.prevention-rentable.fr/diarrhees_prevention_rentable.asp], consulté le 14 décembre 2013.
- COLLECTIF (2013b). BiostaTGV, le site de biostatistiques en ligne [en-ligne], [<http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/>], consulté le 12 10, 2013.
- CONNELLY, M., BERRY, D., SAYERS, R., MURPHY, J., LORENZ, I., DOHERTY, M., *et al.* (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, **7**(11), 1824-1832.
- CONSTABLE, P.D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *J. Vet. Intern. Med.*, **18**, 8-17.
- CONSTANT, F. (2001). Enquête sur l'étiologie des diarrhées des veaux nouveau-nés en Haute Vienne de 1994 à 1998. Evolution de l'antibiorésistance des colibacilles isolés au LDA87. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°16, 92p.
- CONTREPOIS, M. (1996). Vaccination contre les colibacilles entérotoxigènes du veau. *Renc. Rech. Ruminants*, **3**, 131-138.
- CONTREPOIS, M., MARTEL, J., BORDAS, C., HAYERS, F., MILLET, A., RAMISSE, J., *et al.* (1985). Fréquence des pili FY et K99 parmi des souches de *E. coli* isolées de veaux diarrhéiques en France. *Ann. Rech. Vét.*, **16**(1), 25-28.
- COUJARD, R., POIRIER, J., & RACADOT, J. (1980). Précis d'histologie humaine. Paris: Masson S.A. 752p.

- DARDILLAT, J., TRILLAT, G., & LARVOR, P. (1978). Colostrum immunoglobulin concentration in cows : relationship with their calf mortality and with the colostrum quality of their female offspring. *Ann. Rech. Vet.*, **9**(2), 375-384.
- DAVAL, S., LEBRETON, P., & RADIGUE, P.E. (2010). Une alternative à l'usage d'antibiotique par voie orale chez le veau diarrhéique est-elle possible ? *Bull. G.T.V.*, **57**, 29-33.
- DE VERDIER, K., NYMAN, A., GREKO, C., & BENGTSSON, B. (2012). Antimicrobial resistance and virulence factors in *E. coli* from Swedish dairy calves. *Acta Vet. Scand.*, **54**(2), 2-10.
- DIEGUEZ, F., GONZALEZ, A., SOILAN, M., EIRAS, C., SANJUAN, M., & YUS, E. (2012). Evaluation of immunochromatographic test strips for rapid diagnosis of neonatal calf diarrhoea. *Cattle Pract.*, **20**(1), 1-4.
- DOWD, S., CALLAWAY, T., WOLCOTT, R., SUN, Y., MCKEEHAN, T., HAGEVOORT, R., *et al.* (2008). Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). *BMC Microbiol.*, **8**(125), 8p.
- DUBOURGUIER, H., GOUET, P., CONTREPOIS, M., & GIRARDEAU, J. (1978). Diarrhée du nouveau-né : propriétés et mécanismes d'action des *E. coli* entéropathogènes chez le veau et le porcelet. *Ann. Rech. Vét.*, **9**(1), 129-152.
- DUFRASNE, V. (2003). Diarrhée néonatale des veaux et réhydratation par la voie orale. Thèse Méd. Vet., Alfort, n°60, 191p.
- DZIVA, F., VLISIDOU, I., CREPIN, V., WALLIS, T., FRANKEL, G., & STEVENS, M. (2007). Vaccination of calves with EspA, a key colonisation factor of *Escherichia coli* O157:H7, induces antigen-specific humoral responses but does not confer protection against intestinal colonisation. *Vet. Microbiol.*, **123**, 254-261.
- ECDC. (2011). Antimicrobial resistance surveillance in Europe : Surveillance report [en-ligne]. Stockholm, Sweden, [http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf.pdf], 212p.
- ELIZONDO-SALAZAR, J., & HEINRICHS, A. (2009). Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.*, **92**, 4565-4571.
- EMILE, C. (2008). Modalité de détection des BLSE chez les entérobactéries. *OptionBio*, **396**, 18p.
- ENJUANES, L. (2003). Coronaviridae – Les coronavirus [en-ligne],[<http://virologie.free.fr/documents/virologie/34-Coronaviridae/coronaviridae.htm>], consulté le 13/02/2014.
- ENRIQUEZ, B. (2002). *Les antibiotiques en médecine vétérinaire : pharmacologie et toxicologie expérimentales et cliniques*, Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Pharmacie et toxicologie, 157.
- EUCAST (2013). European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Review and revision of antimicrobial breakpoints, EUCAST SOP 3.0 [en-ligne], [<http://www.eucast.org>], consulté le 21/02/2014.
- Excel (2010). Microsoft office professionnel 2010, version 14.0.7106.5003. Microsoft corporation.
- FIDLER, A., ALLEY, M., & SMITH, G. (2011). Serum immunoglobulin G and total protein concentrations in dairy calves fed a colostrum-replacement product. *J. Dairy Sci.*, **94**, 3609-3612.
- FOSTER, D., & SMITH, G. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, **25**, 13-36.

- FRANKLIN, S., AMARAL-PHILLIPS, D., JACKSON, J., & CAMPBELL, A. (2003). Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. *J. Dairy Sci.*, **86**(6), 2145-2153.
- GODDEN, S., HAINES, D., KONKOL, K., & PETERSON, J. (2009). Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *J. Dairy Sci.*, **92**(4), 1758-1764.
- GOULET, O. (2009). La flore intestinale : un monde vivant à préserver. *J. Pédiatr. Puér.*, **22**, 102-106.
- GULLIKSEN, S., JOR, E., LIE, K., HAMNES, I., LOKEN, T., AKERSTEDT, J., *et al.* (2009). Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norway dairy calves. *J. Dairy Sci.*, **92**, 5057-5066.
- GUNN, G., HALL, M., & LOW, J. (2003). Comparison of antibiotic resistance for *E. coli* populations isolated from groups of diarrhoeic and control calves. *Vet. J.*, **165**, 172-174.
- HAENNI, M. (2013). Rappels techniques. Journée Résapath 2013 [communication personnelle], Maisons-Alfort.
- HAMILTON, T., & GIESEN, L. (2003, Octobre 23). *Using physical characteristic scores to assess colostrum quality* [en-ligne], [http://bru.aps.uoguelph.ca/Articles%2095/a-using_physical_characteristic_sc.htm], consulté le 10/12/2013.
- HARA, H., YAMAMOTO, Y., HIGASHITANI, A., SUZUKI, H., & NISHIMURA, Y. (1991). Cloning, mapping, and characterization of the *E. coli* *prc* gene, which is involved in C-terminal processing of penicillin-binding protein 3. *J. Bacteriol.*, **173**(15), 4799-4813.
- HARNETT, N., & GYLES, C. (1985). Linkage of genes for heat-stable enterotoxin, drug resistance, K99 antigen, and colicin in bovine and porcine strains of enterotoxigenic *E. coli*. *Am. J. Vet. Res.*, **46**(2), 428-433.
- HEIDARI, F., FASAEI, B., & ASHRAFI, I. (2011). Correlation between colibacillosis diarrhea in calf and *E. coli* isolated from milk and surface skin of staff member. Dans J. KOFER, & H. SCHOBESBERGER (Éd.), *Proceeding of the XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene*, **3**, Vienna, Austria, 3-7 July 2011, 1243p.
- HERRERA-LUNA, C., KLEIN, D., LAPAN, G., REVILLA-FERNANDEZ, S., HASCHEK, B., SOMMERFELD-STUR, I., *et al.* (2009). Characterization of virulence factors in *E. coli* isolated from diarrheic and healthy calves in Austria shedding various enteropathogenic agents. *Vet. Med. - Czech*, **54**(1), 1-11.
- HOUGH, R., MACCARTHY, F., KENT, H., EVERSOLE, D., & WAHLBERG, M. (1990). Influence of nutritional restriction during late gestation on production measures and passive immunity in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, **68**, 2622-2627.
- HYTTEL, P., SINOWATZ, F., & VEJLSTED, M. (2010). *Essentials of domestic animal embryology*. Saunders Elsevier. 472p.
- ISHIHARA, N., CHU, D., AKACHI, S., & JUNEJA, L. (2001). Improvement of intestinal microflora balance and prevention of digestive and respiratory organ diseases in calves by green tea extracts. *Livest. Prod. Sci.*, **68**, 217-229.
- JAQIELSKI, M., SZYCH, J., KALUZEWSKI, S., RASTAWICKI, W., BRZEZINSKA, K., KULEC, W., *et al.* (1993). Identification of enteropathogenic strains of *E. coli* (EPEC) by application of the latex. II. A trial of applying the test in diagnostic examinations. *Med. Dosw. Mikrobiol.*, **45**(4), 433-438.
- JARRIGE, N., JOUY, E., HAENNI, M., GAY, E., & MADEC, J. (2012). Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales, bilan 2011, Maisons-Alfort, France, 167p.

- JARRIGE, N., JOUY, E., HAENNI, M., GAY, E., & MADEC, J. (2013). Résapath, réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales : bilan 2012, Maisons-Alfort, France, 163p.
- JAYAPPA, H., DAVIS, R., DIERKS, L., SWEENEY, D., & WASMOEN, T. (2008). Demonstration of passive protection in neonatal calves against colibacillosis following immunization of pregnant heifers at 3 months of gestation. *Vet. Therapeut.*, **9**(4), 283-289.
- JEZEK, J., ZADNIK, T., KLINKON, M., NEMEC, M., & STARIC, J. (2006). The applicability of rapid tests "strips" for diagnosing the pathogenic agent (rotavirus, coronavirus, *E. coli* F5 K99) causing the diarrhoea in feces of calves. *Slo. Vet. Res.*, **43**(10), 324-326.
- JOHNSON, J., GODDEN, S., MOLITOR, T., AMES, T., & HAGMAN, D. (2007). Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.*, **90**, 5189-5198.
- JONES, B.D., PATERSON, H.F., HALL, A., & FALKOW, S. (1993). *Salmonella typhimurium* induces membrane ruffling by a growth factor-receptor-independent mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **90**, 10390-10394.
- KAESBOHRER, A., SCHROETER, A., TENHAGEN, B., ALT, K., GUERRA, B., & APPEL, B. (2012). Emerging antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* with public health relevance. *Zoon. Publ. Health*, **59**(Suppl. 2), 158-165.
- KAMADA, H., NONAKA, I., UEDA, Y., & MURAI, M. (2007). Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *J. Dairy Sci.*, **90**(12), 5665-5670.
- KANEENE, J., WARNICK, L., BOLIN, C., ERSKINE, R., MAY, K., & MILLER, R. (2008). Changes in tetracycline susceptibility of enteric bacteria following switching to nonmedicated milk replacer for dairy calves. *J. Clin. Microbiol.*, **46**(6), 1968-1977.
- KANEENE, J., WARNICK, L., BOLIN, C., ERSKINE, R., MAY, K., & MILLER, R. (2009). Changes in multidrug resistance of enteric bacteria following an intervention to reduce antimicrobial resistance in dairy calves. *J. Clin. Microbiol.*, **47**(12), 4109-4112.
- KEY, D., & DERBYSHIRE, J. (1984). Serological studies of parainfluenza type 3 virus, bovine adenovirus type 3 and bovine respiratory syncytial virus infection in beef calves. *Vet. Microbiol.*, **9**(6), 587-592.
- LAPLAZE, J. (2002). Rôle des *Escherichia coli* producteurs de cytotoxines dans la diarrhée du veau. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 62p.
- LEPOIVRE, P. (2003). Phytopathologie. Bruxelles: De Boeck & Larcier. 432p.
- LEVIEUX, D. (1991). Dosage des IgG du lait de vache par immunodiffusion radiale semi-automatisée, pour la détection du colostrum, des laits de mammites ou de fin de gestation. *Lait*, **71**, 327-338.
- LEVIN, B.R., PERROT, V., & WALKER, N. (1999). Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. *Genet.*, **154**, 985-997.
- LOFSTEDT, J., DOHOO, I.R., & DUIZER, G. (1999). Model to predict septicemia in diarrheic calves. *J. Vet. Int. Med.*, **13**(2), 81-88.
- MADEC, J., CHAZEL, M., HAENNI, M., & GAY, E. (2011). Tendances de l'évolution des résistances aux antibiotiques des agents pathogènes bovins. *Point Vét.*, **42**(Numéro spécial), 136-140.
- MAËS, P. (2010). Étiologie des diarrhées néonatales et transfert colostral chez le veau : enquête dans la Creuse. Thèse Méd. Vét., n°59, 132p.
- MAINIL, J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*E. coli* : I) les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann. Méd. Vét.*, **147**, 105-126.

- MANGIN, S. (2002). Transfert d'immunité colostrale chez le veau (étude bibliographique). Thèse Méd. Vét., Alfort, n°107, 92p.
- MANSFELD, R., SAUTER-LOUIS, C., & MARTIN, R. (2012). Effects of dry period length on milk production, health, fertility, and quality of colostrum in dairy cows. Invited review. *Tieraerztl Prax. G N*, **40**(4), 239-250.
- MANTECA, C., CZAPLICKI, G., GINTER, A., CORNUJOLS, M.J., COUQUET, C.Y., REMMY, D., ROBERT, N., & BUGHIN, J. (2009). *Clostridium perfringens* type A as a major etiological agent of calf scours? *European Buiatrics Forum*, Marseille, 1-3 Décembre 2009, 95.
- MARTEL, J. (2002). Bactéries pathogènes chez les bovins et écologie microbienne. Dans J. LAFONT, J. MARTEL, R. MAILLARD, E. CHASLUS-DANCLA, J. PUYT, A. LAVAL, *et al.*, Antibiothérapie bovine : acquis et consensus. Maisons-Alfort: Les éditions du Point Vétérinaire, 15-34.
- MECH, A., DHALI, A., BARUAH, K., SINGH, R., MONDAL, S., & RAJKHOWA, C. (2011). Effect of method and time of first colostrum feeding on serum immunoglobulin concentration, health status and body weight gain in mithun (*Bos frontalis*) calves. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **95**, 756-761.
- MILLEMANN, Y. (2014). Communication personnelle.
- MILLEMANN, Y., & BELBIS, G. (2011). Actualités sur les viroses digestives du veau. *Point Vét.*, **42**(Numéro spécial), 1-9.
- MILLEMANN, Y., EVANS, S., COOK, A., SISHO, W., CHAZEL, M., & BURET, Y. (2011). Salmonellosis. Dans CHERMETTE, LEFEBVRE, & BLANCOU, Infectious and parasitic diseases of livestock, volume 2. Lavoisier, Paris, France. 947-984.
- MILLEMANN, Y., HESKIA, B., & BELBIS, G. (2012). Stratégie thérapeutique et impact sur la résistance. *Bull. G.T.V.*, **64**, pp. 19-28.
- MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT (2013a). Questions / réponses sur les antibiotiques à usage vétérinaire et sur l'antibiorésistance [en-ligne], mise à jour le 14 Novembre 2013. [<http://agriculture.gouv.fr/Questions-reponses-sur-les>], consulté le 28 Novembre 2013.
- MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT (2013b). EcoAntibio. [en-ligne], [<http://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2017>], consulté le 14 Décembre 2013.
- MULLER, L., & ELLINGER, D. (1981). Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **64**(8), 1727-1730.
- NACIRI, M. (1994). Cryptosporidiose des ruminants et santé publique. *Point Vét.*, **26**, 875-881.
- NACIRI, M., LEFAY, M., MANCASSOLA, R., POIRIER, P., & CHERMETTE, R. (1999). Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.*, **85**, 245-257.
- NAYLOR, J. (2005). The infectious and managemental causes of neonatal calf diarrhea. *Ontario Vet. Med. Assoc. Conf. Proc.*, Toronto, 27-29 janvier 2005, 190-197.
- NGUYEN, T., VO, T., & VU-KHAC, H. (2011). Virulence factors in *E. coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam. *J. Vet. Sci.*, **12**(2), 159-164.
- Norme Française U 47-107 (2004). Méthodes d'analyse en santé animale - Détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries aux anti-infectieux par la méthode de dilution en milieu gélifié.
- ORR, J. (1984). Necrotizing enteritis in a calf infected with adenovirus. *Can. Vet. J.*, **25**, 72-74.
- PANNAUX, G. (2012). Résistance aux céphalosporines dans la flore commensale digestive des ruminants. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°24, 84.

- PATERSON, D., KO, W., VON GOTTFBERG, A., CASELLAS, J., MULAZIMOGLU, L., KLUGMAN, K., *et al.* (2001). Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases : implications for the clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, **39**(6), 2206-2212.
- PERIE, A. (2009). Les examens complémentaires utilisables au chevet du veau nouveau-né. *Dépêche Vét.*, (1048), 16p.
- PERINO, L., WITTUM, T., & ROSS, G. (1995). Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *Am. J. Vet. Res.*, **56**(9), 1144-1148.
- PIDDOCK, L. (2006). Multidrug-resistance efflux pumps - not just for resistance. *Nature Rev. Microbiol.*, **4**, 629-636.
- POURLIOTIS, K., KARATZIA, M., FLOUROU-PANERI, P., KATSOULOS, P., & KARATZIAS, H. (2012). Effects of dietary inclusion of clinoptilolite in colostrum and milk of dairy calves on absorption of antibodies against *Escherichia coli* and the incidence of diarrhea. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **172**, 136-140.
- PRAVIEUX, J.J., POULET, H., CHARREYRE, C., & JUILLARD, V. (2007). Protection of newborn animals through maternal immunization. *J. Comp. Pathol.*, **137**, S32-S34.
- PRESCOTT, L., HARLEY, J., & KLEIN, D. (2002). Microbiologie (éd. 2e). Bruxelles, Belgique. De Boeck & Lacier S.A, 1200p.
- QUIGLEY, J., MARTIN, K., BEMIS, D., POTGIETER, L., REINEMEYER, C., ROHRBACH, B., *et al.* (1995). Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins, growth, and fecal scores of Jersey calves. *J. Dairy Sci.*, **78**, 893-901.
- RABINOVITZ, B., GERHARDT, E., TIRONI FARINATI, C., ABDALA, A., GALARZA, R., VILTE, D., *et al.* (2012). Vaccination of pregnant cows with EstA, EspB, gamma-intimin, and Shiga toxin 2 proteins from *E. coli* O157:H7 induces high levels of specific colostrum antibodies that are transferred to newborn calves. *J. Dairy Sci.*, **95**, 3318-3326.
- RABOISSON, D., CLEMENT, J., QUENEY, N., LEBRETON, P., & SCHELCHER, F. (2010). Detection of bacteriuria and bacteremia in newborn calves by a catalase-based urine test. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 1532-1536.
- RADOI, I., SAPCALIU, A., CAUIA, E., & TUDORAN, C. (2007). Researches regarding the obtaining and the testing of a new api-phyto-therapeutic product anti-diarrhea in farm animals. *Bull. U.S.A.M.V.-C.N.*, 1-2.
- RAHAMAN, S., MUKHERJEE, J., CHAKRABARTI, A., & PAL, S. (1998). Decreased membrane permeability in a polymyxin B-resistant *E. coli* mutant exhibiting multiple resistance to beta-lactams as well as aminoglycosides. *F.E.M.S. Microbiol. Lett.*, **161**, 249-254.
- RATKOWSKY, D., OLLEY, J., MACMEEKIN, T., & BALL, A. (1982). Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *J. Bacteriol.*, **149**(1), 1-5.
- REGLEMENT CEE. (1990). Règlement (CEE) N°2377/90 du conseil du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale.
- RIVERO, M.J., VALDERRAMA, X., HAINES, D., & ALOMAR, D. (2012). Prediction of immunoglobulin G content in bovine colostrum by near-infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.*, **95**(3), 1410-1418.
- ROBERTS, M., ROBERTS, I., KORHONEN, T., JANN, K., BITTER-SUERMAN, D., BOULNOIS, G., *et al.* (1988). DNA probes for K-antigen (capsule) typing of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **26**(2), 385-387.

- ROKKA, S., KORHONEN, H., NOUSIAINEN, J., & MARNILA, P. (2001). Colostral whey concentrate supplement increases complement activity in the sera of neonatal calves. *J. Dairy Res.*, **68**, 357-367.
- ROLLIN, F. (2002). Réhydratation orale raisonnée du veau atteint de gastro-entérite néonatale. *Proc. Vet. Sci. Cong.*, 10-12 Août 2002, Oeiras, Portugal, 79-94.
- ROUSSEAU, F. (2007). Veau sous la mère. Moderniser les bâtiments d'élevage : une priorité pour la production du veau de lait sous la mère [en-ligne], [www.veausouslamere.com/img/upload/.../dossier-batiment-3.pdf], 87p.
- SANDER P., SPRINGER, B., PRAMMANANAN, T., STURMFELS, A., KAPPLER, M., PLETSCHETTE, M., & BÖTTGER, E.C. (2002). Fitness cost of chromosomal drug resistance-conferring mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **5**(46), 1204-1211.
- SANDERS, P. (2005). L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bull. Acad. Vét. France*, **158**(2), 137-143.
- SATO, K., BARLETT, P., & SAEED, M. (2005). Antimicrobial susceptibility of *E. coli* isolates from dairy farms using organic versus conventional production methods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **226**, 589-594.
- SCHAFER, M., SHARP, P., BROOKS, V., XU, J., CAI, J., KEULER, N., *et al.* (2008). Enhanced bactericidal activity against *Escherichia coli* in calves fed *Morinda citrifolia* (*noni*) puree. *J. Vet. Intern. Med.*, **22**, 499-502.
- SCHMASSMANN, A. (1998). Mechanisms of ulcer healing and effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.*, **104**(3) (suppl. 1), 43S-51S.
- SHIH, Y., & ROTHFIELD, L. (2006). The bacterial cytoskeleton. *Microbiol. Mol. Biol. R.*, **70**(3), 729-754.
- SINGER, C., STANCU, P., COSOVEANU, S., OSIAC, L., GRIGORIE, C., & BOTU, A. (2010). Diarrhea with rotavirus in children. *Curr. Health Sci. J.*, **36**(4), 240-244.
- SMITH, D., KONONOFF, P., & KEOWN, J. (2007). *Dairy cow health and metabolic disease relative to nutritional factors* [en-ligne], [<http://www.ianrpubs.unl.edu/epublic/pages/publicationD.jsp?publicationId=836#top>], consulté le 3 Décembre 2013,.
- SPARKES, A., HEIENE, R., LASCELLES, B., MALIK, R., SAMPIETRO, L., ROBERTSON, S., *et al.* (2010). Guide de recommandations ISFM-AAFP : Utilisation à long terme des AINS chez le chat. *J. Feline. Med. Surg.*, **12**, 521-538.
- SWANSON, T., HAMMER, C., LUTHER, J., CARLSON, D., TAYLOR, J., REDMER, D., *et al.* (2008). Effects of gestational plane of nutrition and selenium supplementation on mammary development and colostrum quality in pregnant ewe lambs. *J. Anim. Sci.*, **86**, 2415-2423.
- SZALO, I., TAMINIAU, B., & MAINIL, J. (2006). Le lipopolysaccharide d'*Escherichia coli*: structure, biosynthèse et rôles. *Ann. Méd. Vét.*, **150**, 108-124.
- THORNS, C., BELL, M., CHASEY, D., CHESHAM, J., & ROEDER, P. (1992). Development of monoclonal antibody ELISA for simultaneous detection of bovine coronavirus, rotavirus serogroup A, and *E. coli* K99 antigen in feces of calves. *Am. J. Vet. Res.*, **53**(1), 36-43.
- TORSEIN, M., LINDBERG, A., HALLEN SANDGREN, C., PERSON WALLER, K., TORNQUIST, M., & SVENSSON, C. (2011). Risk factors of calf mortality in large swedish dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, **99**, 136-147.
- TOUZEAU, B. (2009). Les colibacilloses néonatales caprines : évaluation du rôle pathogène d'*Escherichia coli*. Thèse Méd Vét, Nantes, n°44, 99p.
- TROTZ-WILLIAMS, L., MARTIN, S., MARTIN, D., DUFFIELD, T., LESLIE, K., NYDAM, D., *et al.* (2005). Multiattribute evaluation of two simple tests for the detection of *Cryptosporidium parvum* in calf faeces. *Vet. Parasitol.*, **134**(1-2), 15-23.

- TROTZ-WILLIAMS, L., MARTIN, S., LESLIE, K., DUFFIELD, T., NYDAM, D., & PEREGRINE, A. (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.*, **82**, 12-28.
- VAN DE VEN, J., & MAKOSCHEY, B. (2009). A simple 5 step farm protocol to solve neonatal calf diarrhoea in problem farms. *Proceedings of the European Buiatrics Forum*, Marseille, 1-3 Décembre 2009, 188p.
- WANG, W., JIANG, Z., WESTERMANN, M., & PING, L. (2012). Three mutations in *Escherichia coli* that generate transformable functional flagella. *J. Bacteriol.*, **194**(21), 5856-5863.
- WEAVER, D., TYLER, J., VANMETRE, D., HOSTETLER, D., & BARRINGTON, G. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.*, **14**, 569-577.
- WOLFSON, J., & HOOPER, D. (1985). The fluoroquinolones : structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity *in vitro*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **28**(4), 581-586.
- YOSHIDA, H., BOGAKI, M., NAKAMURA, M., YAMANAKA, L., & NAKAMURA, S. (1991). Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **35**(8), 1647-1650.
- YU, V., CHIOU, C., FELDMAN, C., ORTQVIST, A., RELLO, J., MORRIS, A., *et al.* (2003). An international prospective study of pneumococcal bacteremia : correlation with in vitro resistance, antibiotics administered, and clinical outcome. *Clin. Infect. Dis.*, **37**, 230-237.
- ZARCULA, S., TULCAN, C., SAMANC, H., KIROVSKI, D., CERNESCU, H., & MIRCU, C. (2010). Clinical observations in calves fed colostrum supplemented with clinoptilolite. *Lucrări Stiințifice Medicină Veterinară*, **43**(2), 64-69.

Annexe 1 : Protocole de l'étude

0. RENSEIGNEMENTS ADMINISTRATIFS

- Adresse du gestionnaire :
GTV03
Clinique vétérinaire des Colettes
03330 BELLENAVES
- Dates de réalisation : Début : 15/12/2011
Fin : 31/03/2012, 30/04/2012 si besoin
- Personnel impliqué dans la réalisation de l'étude :
 - ✓ GTV03 : Bertrand ROUMEGOUS, président
Jean-Yves THIERCY, secrétaire
Claude RIZET, trésorier
 - ✓ ENVA : Yves MILLEMANN, maître de conférences
Hélène LACROUTE, étudiante
 - ✓ Eurofins – Cœur de France : Philippe GISBERT, Responsable service Santé Animale
 - ✓ Merial : Pierre MATHEVET, directeur
Arnaud BOLON, responsable technique ruminants
 - ✓ Vétérinaires investigateurs : cf. liste jointe en annexe

1. BUT

Caractériser les souches de colibacilloses chez les veaux d'âge ≤ 8 jours et identifier leurs antibiorésistances.

2. MATERIEL

2.1 Animaux

2.1.1 Animaux malades

Veaux ≤ 8 jours présentant des symptômes d'entérite.

Nombre : 140, répartis sur le département de l'Allier entre les différents cabinets participants. L'objectif est de prélever 1 ou 2 veaux par élevage. P. GISBERT prévient le GTV03 quand le chiffre de 140 est atteint. Un bilan partiel sera fait le 1er mars.

Rem : si 14 cabinets participent, chaque cabinet prélèvera 10 animaux, soit 5 à 10 élevages. On pourra monter à 3 veaux par élevage si on rencontre des difficultés à atteindre 140 au total sur le département.

2.1.2 Animaux sains

Veaux ≤ 8 jours ne présentant pas de symptômes digestifs dans un élevage ne présentant pas d'animaux avec pathologie digestive donc différents des élevages où des animaux malades sont prélevés.

Nombre : 70, répartis sur le département de l'Allier entre les différents cabinets participants. L'objectif est de prélever 1 ou 2 veaux par élevage.

Quand : en milieu de campagne, c'est-à-dire entre le 1er et le 15 mars.

Rem : si 14 cabinets participent, chaque cabinet prélèvera 5 animaux sains soit 3 à 5 élevages.

2.2 Équipements et fournitures

- Protocole, écrit par Merial et fourni aux différentes personnes impliquées ;
- Matériel pour prises de sang : porte aiguilles, aiguilles à usage unique, tubes sec, fourni par le vétérinaire investigateur ;

- Matériel pour prélèvement de fèces : disponible chez les vétérinaires ou envoi par le laboratoire sur simple demande ;
- Étiquettes : voir modèles (sang et fèces) en annexe, fournies par Merial ;
- Matériel pour réalisation des analyses sur fèces et sang, fourni par Eurofins.

3. METHODE

3.1 Prélèvements

Le vétérinaire investigateur effectue une prise de sang (5ml minimum) sur tube sec et un prélèvement de fèces sur des veaux ≤ 8 jours, soit sur veau malade, soit sur veau sain. Si le veau a moins de 48h, le prélèvement de sang sera décalé à partir d'un âge >48 h.

Chaque prélèvement est étiqueté selon le modèle joint en annexe qui comporte :

- le nom du vétérinaire ;
- le numéro de cheptel de l'élevage ;
- le nom de l'élevage ;
- la date ;
- le numéro de travail du veau et de sa mère.

3.2 Envoi des prélèvements

Dans l'attente de l'envoi, les prélèvements sont conservés entre +2 et +8°C.

Le vétérinaire investigateur joint à l'envoi une feuille de commémoratifs selon le modèle joint en annexe.

Les prélèvements sont expédiés dans les 48 heures qui suivent leur réalisation, sous couvert du froid à l'adresse suivante :

Eurofins – Cœur de France
Boulevard de Nomazy - BP 1707
03017 Moulins cedex
Téléphone: 04 70 47 71 00

- soit grâce au service de ramassage du GDS (lundi, mardi ou jeudi suivant les cabinets) ;
- soit en appelant le laboratoire pour organiser le passage de la navette (coût de 5,50 € par prélèvement, pris en charge dans le budget de l'étude).

Pour pouvoir respecter ce délai de 48h, on n'effectue pas de prélèvements le vendredi et le samedi.

3.3 Analyses

Le laboratoire réalise :

- Sang : dosage IgG1 ;
- Fèces :
 - recherche rotavirus et coronavirus par méthode ELISA, cryptosporidium par méthode semi quantitative ;
 - bactériologie : culture et isolement, typage F5, FY(F17), F41 et CS31A ;
 - antibiogramme : 1, 2 ou 3 par prélèvement en fonction du nombre de souches identifiées. 16 antibiotiques sont testés : Amoxicilline, Amoxicilline + acide clavulanique, Céfalexine, Cefoxitine, Ceftiofur, Cefquinome, Streptomycine, Kanamycine, Gentamicine, Néomycine, Tétracycline, Colistine, Trimethoprime + sulfamides, Acide nalidixique, Enrofloxacin et Marbofloxacin.

3.4 Conservation des prélèvements

Après analyse, les souches de colibacilles seront conservés à -80°C au minimum jusqu'à la fin de l'étude pour constituer la souchothèque de l'étude. En accord avec les 4 partenaires, les souches seront détruites ou conservées par le laboratoire.

En outre, le laboratoire faisant partie du réseau Resapath de l'Anses, des souches pourront, à la demande de cet organisme, être envoyées, sous couvert de l'anonymat, pour étude à l'Anses.

3.5 Analyses supplémentaires

3.5.1 Typage des souches non typables d'*E. Coli*

Technique PCR

Où : LASAT (Ph Nicollet)

Quoi : tous ou 5 par catégorie (sains sensibles, sains résistants, malades sensibles, malades résistants) soit 20 analyses

Quand : en fonction des résultats des premières analyses, du nombre de souches concernées et du budget, une décision sera prise par le groupe en fin d'étude le 15 avril 2012.

3.5.2 Recherche des gènes de résistance et facteurs de pathogénicité

Où : ENVA

Quoi : IPL envoie sous couvert du froid les prélèvements des souches résistantes à ENVA ou ENVA vient les chercher, à déterminer en fin d'étude.

3.6 Gestion des résultats

Pour chaque envoi de prélèvement d'un vétérinaire investigateur, le laboratoire envoie un compte-rendu d'analyses au vétérinaire et à l'éleveur. Les membres du groupe auront accès aux résultats via l'extranet du laboratoire : Merial (arnaud.bolon@merial.com), secrétariat du GTV03 (s.gtv03@orange.fr) et Hélène LACROUTE (helene.lacroute@gmail.com). Les codes d'accès seront fournis par P. GISBERT.

4. QUESTIONNAIRES

Pour chaque élevage prélevé, un questionnaire éleveur (joint en annexe) sera rempli de préférence par le vétérinaire.

Pour chaque cabinet vétérinaire investigateur, un questionnaire vétérinaire (joint en annexe) sera rempli par le vétérinaire.

5. REMUNERATION

Chaque veau analysé amènera à une facturation de 61,90 € HT par IPL au GTV03. A cette somme sera ajoutée les éventuels frais de ramassage (5.50 euros HT) et les antibiogrammes (12,80 euros HT par antibiogramme).

GTV03 établira deux factures à Merial, l'une directement à Merial Service Technique Ruminants 13B avenue Albert Einstein 69623 VILLEURBANNE Cedex pour un montant de 3000€ l'autre sous la forme de contrat de service pour un montant de 5000€.

Participation ENVA : taxe d'apprentissage, pas de récupération de TVA, pour un montant de 2000 €.

6. EVENEMENTS REMARQUABLES ET DEVIATIONS AU PROTOCOLE

Tout événement remarquable survenant lors du déroulement du protocole devra immédiatement être signalé au coordinateur de l'étude ou aux autres personnes concernées (voir liste et numéros de téléphone ci-dessous)

- Bertrand ROUMEGOUS
- Philippe GISBERT
- Hélène LACROUTE
- Arnaud BOLON

Annexe 2 : Détails du financement de l'étude

Hauteur de la participation financière prévue pour chaque organisme impliqué :

- GTV03 : 12 000€ pour les analyses et vétos « bénévoles »
- MERIAL : 8 000 €
- ENV Alfort : 2 000 €
- IPL : logistique, transport, flacons, analyses à tarif spécial

Fonds totaux disponibles : 22 000 €.

Frais engagés par veau prélevé :

Analyses	Quantité par veau	Tarif catalogue unitaire H.T. (€)	Tarif GTV unitaire H.T. (€)	Total H.T. (€)
Bactériologie + ELISA (rotavirus/coronavirus) + parasitologie	1	58,40	53,70	53,70
Antibiogramme	2 en moyenne	12,80	12,80	25,60
Dosage IgG1	1	9,77	8,20	8,20
Conservation de souches	2 en moyenne	5,00	0,00	0,00
Frais de dossier	1	3,60	0,00	0,00
Total par veau en moyenne				87,50

Frais totaux réellement engagés :

- Merial : 8000 €
- GTV 03 : 19263,97 €
- (2000 € de l'ENVA non encore perçus)

Frais totaux engagés : 27263,97 €

Annexe 3 : Schéma des étiquettes apposées sur les prélèvements

ETIQUETTE DES PRELEVEMENTS

Prélèvement sang

Dr Date Cheptel N° Nom éleveur N° mère : N° veau : GTV03 – <i>E. Coli</i> - 2012
--

Prélèvement fèces

Dr Date Cheptel N° Nom éleveur N° mère : N° veau : GTV03 – <i>E. Coli</i> - 2012
--

Annexe 4 : Feuille de commémoratif veau malade

FICHE DE COMMÉMORATIFS VEAU MALADE

Etude GTV03 – *E. Coli* – FICHE DE COMMÉMORATIF POUR CHAQUE VEAU PRELEVÉ (SANG + FECES)

PARTIE RÉSERVÉE A IPL-LA03		N° DE DOSSIER :	
Transporté par : ☐ Vétérinaire ☐ Propriétaire ☐ Poste ☐ DSV ☐ GDS ☐ LA03 ☐ Autre :			
Réceptionné et accepté le		à H par	
Mode d'acheminement : ☐ Température ambiante ☐ Réfrigéré ☐ Congelé			
		Préleveur	Résultats
Vétérinaire : Nom: N° d'ordre du cabinet :		☐	☒
Commune : Signature obligatoire :			
Propriétaire : N° EDE :		☐	☒
Adresse :			
Code postal : Commune :			
N° tél. : N° fax :			
Autres : MERIAL		☐	☒
GTV03			
ENVA			

PRELEVÉ LE :(FECES) (SANG)

VEAU

NUMÉRO DU VEAU : AGE: SEXE:

.....

MÈRE

NUMÉRO DE LA VACHE: AGE:

DATE DE VÊLAGE:Heure de Vêlage:

CONDITIONS DE VÊLAGE: ☐ FACILE ☐ CÉSARIENNE ☐ DIFFICILE

VACCINATION CONTRE LES ENTERITES NEONATALES : ☐ OUI ☐ NON

COLOSTRUM : ☐ De la mère ☐ D'une autre vache

☐ Du commerce (préciser:.....) ☐ ne sait pas

DELAI DE LA PRISE COLOSTRALE : ☐ <6h ☐ + de 6h

SYMPTÔMES (description des symptômes, durée, évolution)

.....

A envoyer sous couvert du froid positif à:

IPL

Boulevard de Nomazy - BP 1707

03017 Moulins cedex

Téléphone: 04 70 47 71 00

Annexe 5 : Feuille de commémoratif veau témoin

FICHE DE COMMEMORATIFS VEAU TEMOIN

Etude GTV03 – *E. Coli* – FICHE DE COMMEMORATIF POUR CHAQUE VEAU PRELEVE (SANG + FECES)

Partie réservée a IPL-LA03		N° de dossier :	
Transporté par : ☐ Vétérinaire ☐ Propriétaire ☐ Poste ☐ DSV ☐ GDS ☐ LA03 ☐ Autre :			
Réceptionné et accepté le _____ à _____ H _____ par _____			
Mode d'acheminement : ☐ Température ambiante ☐ Réfrigéré ☐ Congelé			
		Préleveur	Résultats
Vétérinaire : Nom: _____ N° d'ordre du cabinet : _____		☐	☒
Commune : _____ Signature obligatoire : _____			
Propriétaire : _____ N° EDE : _____		☐	☒
Adresse : _____			
Code postal : _____ Commune : _____			
N° tél. : _____ N° fax : _____			
Autres : Merial GTV03 ENVA		☐	☒
		☐	☐

PRELEVE LE :(FECES) (SANG)

VEAU

NUMERO DU VEAU : AGE: SEXE:

MERE

NUMERO DE LA VACHE: AGE:

DATE DE VELAGE:Heure de Vêlage:

CONDITIONS DE VELAGE: ☐ FACILE ☐ CESARIENNE ☐ DIFFICILE

VACCINATION CONTRE LES ENTERITES NEONATALES : ☐ OUI ☐ NON

COLOSTRUM : ☐ De la mère ☐ D'une autre vache

☐ Du commerce (préciser:.....) ☐ ne sait pas

DELAI DE LA PRISE COLOSTRALE : ☐ <6h ☐ + de 6h

A envoyer sous couvert du froid positif à:

IPL

Boulevard de Nomazy - BP 1707

03017 Moulins cedex

Téléphone: 04 70 47 71 00

Annexe 6 : Questionnaire éleveur

Questionnaire éleveur :

Présentation de l'élevage :

Identification de l'élevage :

Nom :

Adresse :

Identification du veau malade :

N° du veau et/ou de sa mère :

Race :

Âge : jours

N° de cheptel :

Nom du vétérinaire traitant :

Nom du vétérinaire sanitaire si différent :

Informations sur l'élevage :

Nombre de bovins présents sur l'exploitation :

- Allaitants :

- Laitiers :

Race des bovins présents :

Nombre de vêlages effectués :

Nombre de vêlages totaux attendus sur l'année :

Présence d'autres ateliers (volailles, porcs...) :

Oui

Non

[]

[]

Si oui, espèce(s) :

SAU de l'exploitation :

Répartition :

- pâturage :

- autre :

Nombre d'animaux présents dans ce/ces atelier(s) :

Nombres de personnes travaillant sur l'exploitation :

- Associés :

- Salariés :

Nombre de personnes travaillant sur l'atelier bovin :

- Associés :

- Salariés **Questions préliminaires :**

Avez-vous un registre d'élevage ?

Oui

Non

[]

[]

Est-il toujours à jour ?

Oui

Non

[]

[]

Lorsque vous découvrez un veau malade, quel est votre premier geste (prise de température, évaluation du pli de peau, appel au vétérinaire...) ?

Traitements administrés aux veaux âgés de moins de 8 jours présentant une diarrhée et/ou une septicémie :

Que préconise le bilan de la visite sanitaire au sujet des diarrhées néonatales ? (fournir une copie si possible ?) :

- Administrés par vous-même en première intention :

	Oui	Non
Antibiotique :	[]	[]

Si oui, quelles spécialités :

Autre (anti-inflammatoires, compléments nutritionnels...)	[]	[]
---	-----	-----

Si oui, quelles spécialités :

- Prescrits par le vétérinaire :

	Oui	Non
Antibiotique :	[]	[]
Autre (anti-inflammatoires, compléments nutritionnels...)	[]	[]

Spécialités antibiotiques :

Autres spécialités :

Pratique de l'antibioprévention chez les veaux :

Vous arrive-t-il d'administrer des antibiotiques à des veaux de moins de 8 jours ne présentant aucun symptôme ?

Oui	Non
[]	[]

Si oui, dans quelles circonstances :

Systématiquement	Si le nombre de cas dans l'élevage est élevé	Si la prise colostrale ne vous paraît pas optimale	Autre
[]	[]	[]	[] Détaillez les circonstances :

Avec quelles spécialités ?

Logement des veaux nouveau-nés :

Type de stabulation :

Fréquence de paillage :

Quantité de paille utilisée par semaine (estimation) :

Fréquence de désinfection :

Local de vêlage :

Les vêlages se font-ils dans une case de vêlage ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, où se trouve-t-elle ?

Assistance au vêlage :

Intervenez-vous souvent ?

Oui

[]

Non

[]

Estimation nombre de vêlages assistés/nombre de vêlages total :

Estimation du nombre de césariennes/nombre de vêlages total :

Gestion des malades :

Avez-vous une case dédiée aux animaux malades ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, où se trouve-t-elle dans l'exploitation ?

Gestion de la préparation au vêlage :

- Quelle est la ration type des vaches en fin de gestation ?

Fourrage (nature et quantité estimée) :

Concentrés (nature et quantité estimée):

Complément minéral et vitaminique (nature et quantité estimée):

- Les mères sont-elles vaccinées ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, contre quoi ?

- Déparasitage des gestantes avant la mise-bas ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, quels traitements ?

Spécialité antiparasitaire	Date du traitement par rapport à la date attendue de vêlage

- Autres traitements aux vaches en fin de gestation ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, lesquels :

Gestion de la qualité du colostrum :

La qualité du colostrum dans l'élevage est-elle évaluée ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, comment ?

	Oui	Non
Pèse-colostrum	[]	[]
Dosage des IgG1 en laboratoire	[]	[]

Autre :

Gestion de la prise colostrale :

- En général, après combien de temps le veau boit-il le colostrum (donner une valeur moyenne ou une fourchette si la variation est importante) ?

..... heures après la naissance

- D'après vous, quelle quantité de colostrum doit boire le veau dans la première heure ?

- Comment est distribué le colostrum : tétée ou biberon ?

- Utilisez-vous du colostrum reconstitué ou de complément ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui :

- Quelle spécialité ?
- Quel pourcentage de veaux complémentés dans l'élevage ?
- Dans quelles circonstances (défaut de qualité, de quantité, systématique, en cas de pathologie néonatale importante...) ?

EVOLUTION à 30 jours :

Annexe 7 : Questionnaires vétérinaires

Questionnaire vétérinaire : PRATIQUE GÉNÉRALE :

Étude des pratiques de l'antibiothérapie néonatale (pas uniquement dans cet élevage):

- Antibiotiques que vous utilisez en première intention sur les veaux nouveau-nés :

En cas de diarrhée/septicémie :

Pour les autres maladies :

- Utilisation d'antibiotiques (quelle que soit la voie d'administration) :

Après examen clinique ?

Systématiquement

[]

Souvent

[]

Parfois

[]

Rarement

[]

Après test Uriscreen positif ?

Systématiquement

[]

Parfois

[]

Rarement

[]

Jamais

[]

Après un autre test ?

Systématiquement

[]

Parfois

[]

Rarement

[]

Jamais

[]

Détailler quel(s) test(s) vous utilisez dans ce cas :

- Utilisation d'antibiotiques **PAR VOIE ORALE** :

- Sur prescription après visite dans l'élevage :

Oui

[]

Non

[]

Si oui, dans quelles proportions :% des antibiotiques néonataux utilisés.

Avec quelles spécialités ?

- Par l'éleveur sous votre responsabilité, dans le cadre du décret prescription-délivrance :

Oui

[]

Non

[]

Si oui, dans quelles proportions :% des antibiotiques néonataux utilisés.

Avec quelles spécialités ?

- Utilisation des antibiotiques néonataux **INJECTABLES** :

	Après examen clinique	Dans le cadre du Décret prescription-délivrance
Dans quelles circonstances ?		
À quels veaux (malades uniquement ou autres...) ?		

- Pratique de l'antibioprévention sur les veaux nouveau-nés (moins de 8 jours) ?

Systématiquement

[]

Parfois

[]

Rarement

[]

Jamais

[]

Si oui : - avec quelques spécialités ?

- dans quelles circonstances ?

- Quel pourcentage de cheptel à vêlages en période hivernale dans la clientèle (1 Décembre au 31 Mars) ?

- Quel pourcentage de cheptels à problèmes néonataux ?

- En période hivernale :%
- Hors période hivernale :%

- Quel pourcentage de veaux exposés aux antibiotiques néonataux INJECTABLES dans la clientèle :
Pour les maladies néonatales avant 20 jours ?

Pour toutes maladies confondues avant 60-90 jours ?

- Quel pourcentage de veaux exposés aux antibiotiques néonataux ORAUX dans la clientèle :
Pour les maladies néonatales avant 20 jours ?

Pour toutes maladies confondues avant 60-90 jours ?

- Quelle est votre source pour ces deux dernières questions (SIGAL, logiciel de gestion, estimation par vous-même...) ?

Prévention MÉDICALE mise en place dans les cheptels :

- Si vêlages en période hivernale (01/12 au 31/03) ?

- Si vêlages hors période hivernale ?

Gestion du transfert colostral de l'immunité :

Pratiquez-vous la transfusion ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, dans quelles circonstances ?

Questionnaire vétérinaire : PRATIQUE DANS CET ÉLEVAGE :

Description de l'élevage :

Identification de l'élevage :

Nom :

Pour cet élevage, êtes-vous :

Vétérinaire traitant :

Adresse :

Oui

[]

Non

[]

Vétérinaire sanitaire :

Et/ou N° de cheptel :

Oui

[]

Non

[]

Bâtiment et gestion du péripartum :

Type de stabulation (en ce qui concerne les veaux) :

Estimez-vous que la surface pour le couple veau-mère soit suffisante ?

Oui

[]

Non

[]

Qualité du paillage et propreté :

- de la case de vêlage si existante ?

- de l'aire fréquentée par les veaux nouveau-nés ?

Local de vêlage :

Les vêlages se font-ils dans une case de vêlage ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, où se trouve-t-elle ?

D'autres veaux fréquentent-ils cette case entre deux vêlages ?

Oui

[]

Non

[]

La case de vêlage sert-elle aussi de case à veau ?

Oui

[]

Non

[]

Assistance au vêlage :

Intervenez-vous souvent dans l'élevage pour des vêlages dystociques ?

Oui

[]

Non

[]

Donnez un nombre (au moins approximatif) d'interventions pour ce motif au cours de la dernière saison de vêlage :

L'éleveur a-t-il tendance à intervenir fréquemment d'après vous ?

Oui

[]

Non

[]

Gestion des malades :

Existe-t-il une case dédiée aux animaux malades ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, où se trouve-t-elle dans l'exploitation ?

Prévention mise en place dans le cheptel :

- Vaccination des mères avant la mise bas ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui :

Type de vaccin :	Date de vaccination par rapport à la date attendue de vêlage :

- Gestion du BVD ?

Vaccination ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, avec quel vaccin (nom de la spécialité) ?

Contrôle systématique à l'introduction ?

Oui

[]

Non

[]

- Déparasitage des gestantes avant la fin du 8^e mois de gestation ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, quels traitements ?

Grande douve		[]
Paramphistomes		[]
Strongles	Avec endectocide (formes enkystées)	[]
	Sans endectocide	[]
Autre : détailler		

- Vérification de la ration alimentaire ?

Oui

[]

Non

[]

Description du type de ration :

Foin :

Oui

[]

Non

[]

Quel type d'ensilage ?

Autre ? (enrubannage...)

Complémentation suffisante en oligoéléments ?

- des mères avant le 8^e mois de gestation ?

- Du veau naissant (I, Se) ?

Gestion de la qualité du colostrum :

La qualité du colostrum dans l'élevage est-elle évaluée ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, comment ?

	Oui	Non
Pèse-colostrum	[]	[]
Dosage des IgG1 en laboratoire	[]	[]

Autre :

Gestion du transfert de l'immunité :

La qualité du transfert colostré est-elle évaluée ?

Oui

[]

Non

[]

Si oui, comment ?

	Oui	Non
Dosage des protéines totales du sang du veau	[]	[]
Autre		

Utilisation d'un colostrum de remplacement ou de complément :

Oui

Non

[]

[]

Si oui :

- Quelle spécialité ?
- Quel pourcentage de veaux complémentés dans l'élevage ?
- Dans quelles circonstances (défaut de qualité, de quantité, systématique, en cas de pathologie néonatale importante...) ?

Bilan sanitaire annuel et tenue du registre d'élevage :

Le bilan sanitaire est-il systématisé ?

Oui

Non

[]

[]

Que préconise-t-il au sujet des diarrhées néonatales ?

L'éleveur a-t-il un registre d'élevage ?

Oui

Non

[]

[]

Si oui, le remplissez-vous à chaque visite ?

Oui

Non

[]

[]

Annexe 8 : Extrait du fichier Excel reprenant les résultats d'analyses de laboratoire

N°	Statut	Éleveur	Score crypto	Rota	Corona	<i>E. coli</i>	AMX-1	AMC	CN	FOX	XNL	CEQ	S	K	GM 1	N	TE	CS	SXT	NA	ENR	MAR-1	IgG1
1.1	M	GAEC a	2	N	P	1.2 CS31A	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	33,8
1.2	M	GAEC a	2	N	P	2.2 <i>E. coli</i>	R	I	R	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	33,8
2.1	M	GAEC b	0	N	N	1.3 CS31A	R	I	S	-	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	5,0
2.2	M	GAEC b	0	N	N	2.3 CS31A	R	R	R	I	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R	R	R	5,0
2.3	M	GAEC b	0	N	N	3.3 <i>E. coli</i>	S	S	S	-	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	5,0
3	M	c	0	N	P faible	1.1 CS31A	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	20,2
4.1	M	GAEC d	1	N	N	1.2 CS31A	R	I	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	R	S	S	9,1
4.2	M	GAEC d	1	N	N	2.2 <i>E. coli</i>	R	R	I	S	S	I	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	9,1
5.1	M	GAEC e	5	N	N	1.2 <i>E. coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	30,9
5.2	M	GAEC e	5	N	N	2.2 CS31A	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	30,9
6.1	M	GAEC f	0	N	N	1.2 CS31A	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	21,4
6.2	M	GAEC f	0	N	N	2.2 <i>E. coli</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	21,4

Légende : chaque ligne représente un souche bactérienne isolée.

- N° : numéro de l'élevage prélevé, donné par ordre chronologique de prélèvement

- Statut : statut malade (M) ou témoin (T) du veau chez qui la souche a été isolée

- Éleveur : nom de l'élevage chez qui le veau en question est élevé

- Score crypto : score obtenu pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* chez le veau qui héberge la souche considérée

- Rota : résultat positif (P), positif faible (P faible) ou négatif (N) pour la recherche de rotavirus

- Corona : résultat positif (P), positif faible (P faible) ou négatif (N) pour la recherche de coronavirus

- *E. coli* : numéro donné à la souche considérée (ex : 1.3, 2.3 et 3.3 pour un veau chez qui trois souches ont été isolées) et type identifié (mention « *E. coli* » si aucun des types recherchés n'est identifié)

- Résultat de l'antibiogramme : résistant (R), intermédiaire (I), sensible (S) ou résultat non disponible (-) pour chaque antibiotique testé :

AMX-1 : amoxicilline

XNL : ceftiofur

GM 1 : gentamicine

SXT : sulfamides + TMP

AMC : amoxicilline + acide clavulanique

CEQ : cefquinome

N : néomycine

NA : acide nalidixique

CN : cefalexine

S : streptomycine

TE : tetracycline

ENR : Enrofloxacin

FOX : cefoxitine

K : kanamycine

CS : colistine

MAR-1 : marbofloxacin

- IgG1 : valeur du dosage sérique d'IgG1 chez le veau hébergeant la souche, en g/L.

Annexe 9: Communications réalisées ou prévues portant sur les résultats de cette étude

Communications réalisées :

- Présentation par Arnaud BOLON (Merial) lors du Salon international des productions animales, du 10 au 13 septembre 2013 à Rennes.
- Communication par Bertrand ROUMEGOUS et Arnaud BOLON lors de la IX^{ème} édition de la journée bovine toulousaine : “Actualités sur les diarrhées néonatales : épidémiologie, antibiorésistance et conséquences thérapeutiques”, le 7 novembre 2013 à Toulouse.
- Communication par moi-même lors de la Journée Résapath en novembre 2013 à Maisons-Alfort.
- Présentation par moi-même lors de l’assemblée générale du GTV 03, le 29 janvier 2014 à Tronget (03).

Communications prévues à ce jour :

- Journée nationales des GTV 2014, présentation prévue le 22 mai 2014.
- Rédaction possible d’un article dans le bulletin des GTV.

Annexe 10 : Taux de réponse aux questionnaires éleveurs
pour chaque question

Questionnaire éleveur :				
<i>Dénomination EpiData</i>	<i>Nombre de réponses M</i>	<i>Nombre de réponses T</i>	<i>Pourcentage de réponses M</i>	<i>Pourcentage de réponses T</i>
Fiche commémoratifs et présentation de l'élevage :				
ELEVAGE	127	61	100,00%	100,00%
VILLE	127	61	100,00%	100,00%
EDE	127	61	100,00%	100,00%
VETO	127	61	100,00%	100,00%
AUTRVETO	5	2		
Identification du veau malade et commémoratifs :				
NVEAU	116	60	91,30%	98,40%
RACE	74	31	58,30%	50,80%
AGE	127	61	100,00%	100,00%
SEXE	112	56	88,20%	91,80%
DATEFECES	127	61	100,00%	100,00%
DATESANG	127	60	100,00%	98,40%
NMERE	99	56	78,00%	91,80%
AGEMERE	105	56	82,60%	91,80%
DATENAIS	125	61	98,40%	100,00%
HNAIS	114	60	89,70%	98,40%
DYSTOCIE	118	59	92,90%	96,70%
COLOS	109	59	85,80%	96,70%
HCOLOS	112	59	88,20%	96,70%
STATUT	127	61	100,00%	100,00%
SYMPTO	101	Sans objet	79,50%	Sans objet
Informations sur l'élevage :				
Nombre de bovins présents sur l'exploitation :				
NBVA	69	28	54,30%	45,90%
NBVL	77	32	60,60%	52,50%
SAU	81	33	63,80%	54,10%
PRE	79	33	62,20%	54,10%
CULTURE	79	33	62,20%	54,10%
RACE1	80	34	63,00%	55,70%
Q1	77	34	60,60%	55,70%
Q2	80	34	63,00%	55,70%
Q3	84	34	66,10%	55,70%

Dénomination EpiData	Nombre de réponses M	Nombre de réponses T	Pourcentage de réponses M	Pourcentage de réponses T
Q4	15	2	93,80%	100,00%
Nombres de personnes travaillant sur l'exploitation :				
Q5	82	34	64,60%	55,70%
Q6	82	34	64,60%	55,70%
Nombre de personnes travaillant sur l'atelier bovin :				
Q7	82	34	64,60%	55,70%
Q8	82	34	64,60%	55,70%
Questions préliminaires :				
Q9	84	34	66,10%	55,70%
Q10	84	34	66,10%	55,70%
Q11	73	33	57,50%	54,10%
Traitements administrés aux veaux âgés de moins de 8 jours présentant une diarrhée et/ou une septicémie :				
Q12	71	28	55,90%	45,90%
AMOX1	78	31	61,40%	50,80%
AMOXACCLAV	78	31	61,40%	50,80%
AUTREPENI1	78	31	61,40%	50,80%
C1G1	77	31	60,60%	50,80%
C2G1	77	31	60,60%	50,80%
C3G1	77	31	60,60%	50,80%
C4G1	77	31	60,60%	50,80%
STREPTO1	77	31	60,60%	50,80%
KANA1	77	31	60,60%	50,80%
GENTA1	77	31	60,60%	50,80%
NEO1	77	31	60,60%	50,80%
TETRA1	78	31	61,40%	50,80%
COLISTINE1	78	31	61,40%	50,80%
SULFA1	78	31	61,40%	50,80%
SULFATMP1	78	31	61,40%	50,80%
ENRO1	78	31	61,40%	50,80%
MARBO1	78	31	61,40%	50,80%
FLUOROQUI1	78	31	61,40%	50,80%
FLORPHENI1	78	31	61,40%	50,80%
Q14	69	29	54,30%	47,50%
AMOX2	55	24	43,30%	39,30%
AMOXACCLAV2	55	24	43,30%	39,30%

<i>Dénomination EpiData</i>	<i>Nombre de réponses M</i>	<i>Nombre de réponses T</i>	<i>Pourcentage de réponses M</i>	<i>Pourcentage de réponses T</i>
AUTREPENI2	55	24	43,30%	39,30%
C1G2	54	24	42,50%	39,30%
C2G2	54	24	42,50%	39,30%
C3G2	54	24	42,50%	39,30%
C4G2	54	24	42,50%	39,30%
STREPTO2	55	24	43,30%	39,30%
KANA2	55	24	43,30%	39,30%
GENTA2	55	24	43,30%	39,30%
NEO2	55	24	43,30%	39,30%
TETRA2	55	24	43,30%	39,30%
COLISTINE2	55	24	43,30%	39,30%
SULFA2	55	24	43,30%	39,30%
SULFATMP2	55	24	43,30%	39,30%
ENRO2	55	24	43,30%	39,30%
MARBO2	55	24	43,30%	39,30%
FLUOROQUI2	55	24	43,30%	39,30%
FLORPHENI2	55	24	43,30%	39,30%
<i>Pratique de l'antibioprévention chez les veaux :</i>				
Q16	82	34	64,60%	55,70%
Q17	6	2	75,00%	100,00%
COLISTINE3	82	33	64,60%	54,10%
PENI3	82	33	64,60%	54,10%
AMOXACCLAV2	82	33	64,60%	54,10%
C3G3	82	33	64,60%	54,10%
C4G3	82	33	64,60%	54,10%
GENTA3	81	33	63,80%	54,10%
SULFA3	82	33	64,60%	54,10%
SULFATMP3	82	33	64,60%	54,10%
FLUOROQUI3	82	33	64,60%	54,10%
FLORPHENI3	82	33	64,60%	54,10%
<i>Logement des veaux nouveau-nés :</i>				
Q19	79	29	62,20%	47,50%
Q20	79	34	62,20%	55,70%
Q21	61	27	48,00%	44,30%
Q22	75	32	59,10%	52,50%
<i>Local de vêlage :</i>				
Q23	81	32	63,80%	52,50%

<i>Dénomination EpiData</i>	<i>Nombre de réponses M</i>	<i>Nombre de réponses T</i>	<i>Pourcentage de réponses M</i>	<i>Pourcentage de réponses T</i>
Q24	9	5	15,80%	27,80%
Assistance au vêlage :				
Q25	78	32	61,40%	52,50%
Q26	81	32	63,80%	52,50%
Q27	80	32	63,00%	52,50%
Gestion des malades :				
Q28	82	34	64,60%	55,70%
Q29	14	6	42,40%	54,50%
Q30	14	6	42,40%	54,50%
Gestion de la préparation au vêlage :				
Q32	83	34	65,30%	55,70%
Q33	83	34	65,30%	55,70%
Q34	83	34	65,30%	55,70%
Q35	82	34	64,60%	55,70%
Q36	39	20	88,60%	90,90%
Q37	82	34	64,60%	55,70%
Q38	60	24	96,80%	100,00%
Q39	83	33	65,40%	54,10%
Q40	10	4	100,00%	66,70%
Gestion de la qualité du colostrum :				
Q41	82	34	64,60%	55,70%
Q42	14	2	100,00%	50,00%
Gestion de la prise colostrale :				
Q43	81	34	63,80%	55,70%
Q44	34	9	34,60%	14,80%
Q45	64	29	50,40%	47,50%
Q46	78	34	61,40%	55,70%
Q47	82	34	64,60%	55,70%
Q48	41	20	67,20%	87,00%
Q49	48	22	78,70%	95,70%
Q50	49	22	80,30%	95,70%
Devenir du veau prélevé				
Q51	59	14	46,50%	23,00%
Q52	17	Sans objet	34%	Sans objet

**Annexe 11 : Taux de réponse aux questionnaires
vétérinaires par élevage pour chaque question**

<u>Questionnaire vétérinaire par veau prélevé :</u>				
<i>Dénomination EpiData</i>	<i>Nombre de réponses M</i>	<i>Nombre de réponses T</i>	<i>Pourcentage de réponses M</i>	<i>Pourcentage de réponses T</i>
VETT	89	36	70,10%	59,00%
VETS	89	36	70,10%	59,00%
BILANSANI	88	35	69,30%	57,40%
SURDIARRH	88	35	100,00%	100,00%
REGISTRE	87	35	68,50%	57,40%
REMPLI	87	34	68,50%	55,70%
SSUF	86	36	67,70%	59,00%
PAIL1	60	25	100,00%	100,00%
PAIL2	83	32	65,40%	52,50%
CASEV	88	36	69,30%	59,00%
CASEV1	60	25	100,00%	100,00%
ASSISV	84	36	66,10%	59,00%
ASSISV1	87	36	68,50%	59,00%
CASEM	88	36	69,30%	59,00%
VACCMERE	85	36	66,90%	59,00%
VACC	40	22	100,00%	100,00%
VACCBVD	87	36	68,50%	59,00%
BVD	83	35	65,40%	57,40%
PARASIT	85	35	66,90%	57,40%
AP	48	17	98,00%	100,00%
VERIFALIM	83	34	65,40%	55,70%
COMPLMERE	78	32	61,40%	52,50%
COMPLVEAU	76	30	59,80%	49,20%
EVALCOLOS	89	36	70,10%	59,00%
EVACOLOS1	5	1	55,60%	50,00%
EVATRANSF	89	36	70,10%	59,00%
EVATRANS1	6	2	75,00%	100,00%
COLOSREMP	88	36	69,30%	59,00%
SPECOLOST	49	24	87,50%	88,90%
CASREMPA	42	23	78,60%	85,20%

RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LES COLIBACILLES AGENTS DE COLIBACILLOSES CHEZ LE VEAU :

contribution à une étude dans l'Allier entre 2011 et 2013

NOM et Prénom : LACROUTE Hélène

Les diarrhées néonatales sont une cause majeure de pertes économiques pour les élevages bovins. Les principaux agents pathogènes impliqués chez les veaux de moins de 8 jours sont *Escherichia coli*, rotavirus, coronavirus et *Cryptosporidium parvum*, mais de nombreux facteurs environnementaux et liés à la conduite d'élevage interviennent également. Le but de cette étude était de faire le point sur la prévalence de ces différents agents dans l'Allier, en caractérisant en particulier les types et les profils d'antibiorésistance des colibacilles isolés. Pour cela, au cours des saisons de vêlage 2011-2012 et 2012-2013, des prélèvements de fèces et de sang ont été réalisés chez 125 veaux de moins de 8 jours présentant des signes de diarrhée et/ou septicémie et chez 61 veaux ne présentant pas de tels signes et se trouvant dans des élevages ayant peu ou pas de pathologie digestive chez cette classe d'animaux. Outre la recherche des agents pathogènes précédemment cités, un dosage sérique des immunoglobulines G1 a été réalisé. Enfin, des questionnaires destinés aux éleveurs et à leurs vétérinaires ont porté sur les pratiques d'élevage. Les différents agents pathogènes ont certes été retrouvés avec une prévalence supérieure chez les veaux malades, mais d'autres facteurs interviennent, tels que l'échec de transfert colostral ou une qualité de paillage insuffisante. À propos de l'antibiorésistance observée, les taux observés dans l'Allier sont globalement inférieurs à ceux rapportés au niveau national, mais n'en restent pas moins inquiétants. De plus, l'utilisation de certaines molécules telles que les céphalosporines est associée à une fréquence de résistance supérieure chez les colibacilles des veaux malades exposés. Des mesures préventives passant par l'amélioration des conditions d'hébergement et des conduites d'élevage, autour de la mise-bas en particulier, sont donc des éléments de maîtrise essentiels face à des cas de diarrhée/septicémie chez les veaux nouveau-nés.

Mots clés : DIARRHÉE NÉONATALE / *Escherichia coli* / ROTAVIRUS / CORONAVIRUS / *Cryptosporidium parvum* / FACTEUR DE RISQUE / COLOSTRUM / IMMUNITÉ PASSIVE / FLUIDOTHÉRAPIE, ANTIBIOTIQUE / ANTIBIORÉSISTANCE / BOVIN / VEAU / ALLIER

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. Yves MILLEMANN

Assesseur : Dr. Sébastien PERROT

Membre invité : Dr. Philippe GISBERT

ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN *ESCHERICHIA COLI* RESPONSIBLE FOR SCOURS IN CALVES: contribution to a study conducted in france between 2011 and 2013

SURNAME: LACROUTE

Given name: Hélène

Diarrhea in newborn calves is a major cause of economic losses in farms. The most frequent pathogens isolated from less than 8-day-old calves are *Escherichia coli*, rotavirus, coronavirus and *Cryptosporidium parvum*, but the contribution of many risk factors is also suspected. The aim of this study was to update our knowledge about the prevalence of these pathogens in the French county of Allier, typing and testing the isolated *E. coli* for their antimicrobial resistance. Thus, blood and feces of 125 diarrheic and 61 healthy less than 8-day-old calves have been sampled between January 2012 and January 2013. Major pathogens have been searched and immunoglobulin G1 blood concentration was evaluated by radial immunodiffusion. Questionnaires have also been filled in by farmers and veterinarians implied in this study. Though the various pathogens have been isolated more frequently in diarrheic calves, other factors are also prominent, such as a passive immunity transfer failure or a lack of mulching. About antimicrobial resistance in *E. coli*, its rate in this county is generally lower than in the rest of France. However, it is still worrying. Moreover, the use of some molecules such as cephalosporin is associated with an increased resistance in *E. coli* isolated from unhealthy calves. Prevention, including good housing conditions and good practices of animal husbandry, mostly around birth, is a key factor to face newborn calves diarrhea.

Keywords: DIARRHEA / *Escherichia coli* / ROTAVIRUS / CORONAVIRUS / *Cryptosporidium parvum* / RISK FACTOR / COLOSTRUM / PASSIVE IMMUNITY / FLUIDOTHERAPY, ANTIBIOTIC / ANTIMICROBIAL RESISTANCE / BOVIN / NEWBORN CALF / ALLIER

Jury:

President: Pr.

Director: Pr. Yves MILLEMANN

Assessor: Dr. Sébastien PERROT

Guest: Dr. Philippe GISBERT