

M. Lacreusette (1), J. Amiot (2), C. Lucas (3), C. Levesque (3), M. Béral (4), S. Geollot (1)

- (1) VIRBAC FRANCE Service Technique, Espace Azur Mercantour 3ème Rue LID 06510 CARROS
- (2) Clinique vétérinaire de Monestoy, 14 le Grand Chemin 71190 EPINAC
- (3) LABOCEA 35, BioAgroPolis, 10 rue Claude Bourgelat 35306 FOUGERES Cedex
- (4) Groupement Technique Vétérinaire de Bourgogne Franche-Comté

## **Introduction**

La placentation des bovins est de type syndesmochoriale, il n'y a donc aucun transfert de macromolécules entre la mère et le veau avant la naissance : le veau naît agammaglobulinémique. Même s'il naît avec un système immunitaire opérationnel, on considère qu'il n'acquiert la capacité à se défendre seul contre les pathogènes qu'il va rencontrer qu'au bout de 3 à 6 semaines.

Les entérites néonatales (ENN) sont la première cause de morbidité et de mortalité en élevage bovin [1]. Les veaux peuvent s'infecter dès la naissance et les premières ENN peuvent se manifester dès les premières 24 heures de vie. L'agent pathogène le plus souvent mis en évidence à cette période est *Escherichia coli* F5. Très précocement, il est également fréquent de rencontrer des infections à rotavirus ou coronavirus. Ces 3 agents sont responsables d'une forte proportion d'ENN, seuls ou en association [2]. Cependant dans certaines régions, il semblerait qu'*Escherichia coli* CS31A puisse être considéré comme assez prévalent. Même si son action pathogène est fortement remise en cause et qu'il semblerait que CS31A soit plus un agent opportuniste qu'un pathogène primaire [3], les vétérinaires et les éleveurs mettant en place une vaccination suite à un épisode clinique dans lequel cette bactérie a été isolée estiment qu'une protection vaccinale avec cette valence spécifique présente un intérêt clinique.

Les agents d'ENN étant capables d'infecter très rapidement les veaux après la naissance, le seul moyen de les protéger est d'enrichir le colostrum en défenses immunitaires spécifiques, anticorps et cellules immunitaires. La colostrogenèse commence en moyenne 3 à 6 semaines avant le part, une vaccination de la mère ciblée sur les pathogènes d'ENN va donc permettre

d'enrichir ce colostrum en défenses spécifiques et *in fine* protéger le veau par transfert d'immunité passive.

Un seul vaccin possédant les différentes valences d'*Escherichia coli* en plus des valences rotavirus et coronavirus est disponible sur le marché. Cependant le protocole est jugé peu pratique notamment en primovaccination. De plus, par le passé, les ruptures se sont produites, posant un problème de continuité de protocole vaccinal. C'est pourquoi il n'est pas rare de voir pratiquer sur le terrain une double vaccination avec un des vaccins trivalents rotavirus, coronavirus, *Escherichia coli* F5 existants sur le marché et le vaccin comportant les différentes souches d'*Escherichia coli* dont CS31A. Malheureusement, à l'heure actuelle, il n'existe aucune donnée sur l'efficacité de cette double vaccination même si sur le terrain les résultats semblent intéressants. Afin de vérifier qu'il n'existe pas d'interaction entre les 2 vaccins en cas de vaccination simultanée, qui pourrait mener à une baisse d'efficacité de l'une ou de l'autre, voir des deux spécialités, il a semblé intéressant de mener une étude d'efficacité d'une vaccination concomitante à l'aide de Bovigen® Scour et Imocolibov®. Cette vaccination a été réalisée en 2 points d'injection et a été comparée à l'efficacité d'une vaccination simple avec chacun des 2 vaccins sur la production d'anticorps spécifiques et la sécurité d'utilisation.

## **Matériel et méthode**

160 vaches gestantes ont été sélectionnées dans 3 élevages de bovins allaitants de race Charolaise appartenant à la clientèle de la Clinique vétérinaire de Monestoy à Epinac. L'élevage avec 170 vêlages annuels vaccinait tous les ans ENN en routine, les 2 autres (65 et 70 vêlages annuels) ne pratiquaient pas de vaccination ENN. Dans chaque élevage, 50 vaches gestantes ont été randomisées

dans 3 lots. Un lot vacciné en intramusculaire avec un vaccin inactivé destiné à immuniser les vaches et génisses gestantes contre *Escherichia coli* F5, rotavirus et coronavirus afin que leur veau soit immunisés passivement (groupe Bovigen® Scour = "BS"), un lot vacciné en sous-cutané avec un vaccin inactivé destiné à l'immunisation passive des veaux contre les souches d'*Escherichia coli* F5, CS31A et FY (groupe Imocolibov® = "IMC") et un groupe vacciné avec les 2 vaccins précités (groupe "BS + IMC"). Dans ce dernier groupe, les injections de vaccins se faisaient de façon simultanée en 2 points d'injection de chaque côté de l'encolure.

Préalablement au traitement, les animaux devaient être complétés en oligo-éléments. L'élevage de 170 vèlages a distribué par voie orale 300mg de sélénite en 10 jours, un mois avant le début des vèlages, avec entretien hebdomadaire pendant tout l'hivernage (50mg par semaine). Les deux autres élevages ont distribué 500mg de sélénite par voie orale un mois avant le début des vèlages (sur 10 jours), avec 50mg de sélénite distribués tous les 15 jours en entretien par la suite. Une coproscopie était réalisée en systématique afin de déterminer la présence d'une infestation parasitaire active des animaux et la nécessité ou pas de traiter les animaux avec un antiparasitaire. Cinquante-neuf vaches ont ainsi reçu de l'Ivomec® Pour-on indépendamment du groupe de traitement dont elles faisaient partie.

Tenant compte des résumés des caractéristiques des produits (RCP), la vaccination était réalisée 5 semaines avant la date présumée de vèlage à plus ou moins 1 semaine.

Une prise de sang était faite chez les vaches à l'inclusion avant traitement afin de connaître leur statut basal en anticorps contre ces 4 agents pathogènes. L'échantillon était centrifugé et congelé sur tube sec en position debout avant envoi au laboratoire d'analyses pour dosage des anticorps dirigés contre

*Escherichia coli* F5, CS31A, rotavirus et coronavirus.

Au vèlage, 10 mL de colostrum étaient prélevés dans les 6 heures maximum après vèlage et avant toute buvée du veau. 5 mL étaient congelés pour envoi postérieur au laboratoire d'analyses, une partie du reste était analysée au réfractomètre afin de déterminer le %Brix.

Du traitement au vèlage, les vaches étaient suivies et les effets secondaires éventuels notés et classés selon le barème suivant :

- Présence d'une réaction locale au site d'injection : 0-Pas de réaction, 1-Réaction modérée (nodule ≤ 7cm), 2-réaction sévère (nodule > 7 cm).
- Appétit : 0-Appétit normal, 1-entre 50 et 90% de la ration, 2-<50% de la ration, 3-Anorexie.
- Hyperthermie : 0-Absence, 1-Hyperthermie modérée (sans signes généraux), 2-Hyperthermie sévère (avec signes généraux).

Après vèlage, les veaux étaient suivis pendant 21 jours et toute diarrhée néonatale notifiée selon le barème suivant : 0-Absence, 1-Présence (germe différent des germes contenus dans les vaccins), 2- Présence de germes contenus dans le vaccin (analyses de laboratoire).

Après exclusion, il est resté 47 vaches dans le groupe "BS", 48 dans les groupes "IMC" et "BS + IMC".

Les 143 prélèvements de sang et de colostrum ont été envoyés par transporteur spécifique (garantie de la traçabilité et de la chaîne du froid) au laboratoire LABOCEA 35 pour être analysés. Les anticorps des 4 valences étudiées y ont été dosés qualitativement et semi-quantitativement par des tests BioX Monoscreen AbELISA.

Les analyses statistiques ont été réalisées par le GTV B-FC.

## **Résultats**

Cent-soixante vaches gestantes étaient initialement incluses dans l'étude. Cependant, compte-tenu des critères d'exclusion définis, 17 données ont été exclues de l'étude.

Ces exclusions ayant été prévues, les groupes finaux comportaient près de 50 vaches chacun et restaient homogènes.

Une forte proportion des vaches gestantes incluses dans l'étude présentaient une séropositivité à rotavirus et coronavirus avant vaccination (tableau 1)

Les taux en anticorps du colostrum sont présentés dans le tableau 2.

D'après le test X<sup>2</sup> d'homogénéité (ou test d'égalité des proportions), on n'observe aucune différence apparente de réaction immunitaire entre les groupes BS et IMC *versus* BS+IMC. L'injection des 2 vaccins le même jour, en 2 points d'injection, ne semble donc pas diminuer la réaction immunitaire humorale individuelle.

En analysant les données de manière plus fine, toujours selon une réponse qualitative au test anticorps (positif ou

négatif), à l'aide d'une régression logistique, on peut observer :

- une différence significative (p value = 0.035\*) entre le groupe vacciné BS et le groupe vacciné BS+IMC vis-à-vis des *E. coli* F5
- un effet de la préparation au vêlage avec un taux d'anticorps plus important chez les vaches supplémentées avec du Sélénium 300 mg en cure avant vêlage (p value = 0.021\*\*)
- aucune différence significative entre les groupes BS et BS+IMC vis-à-vis des rotavirus et des coronavirus, sans effet de confusion due à la préparation au vêlage ou à un traitement antiparasitaire interne (API)
- aucune différence significative entre les groupes IMC et BS+IMC vis-à-vis des *E. coli* F5
- Aucune différence significative entre les groupes IMC et BS+IMC vis-à-vis des *E. coli* CS31A, malgré le fait qu'il semble exister un effet de confusion induisant une

	<i>Escherichia coli</i> F5	%	<i>Escherichia coli</i> CS31A	%	Rotavirus	%	Coronavirus	%
Négatif	93	65,03%	99	69,23%	1	0,70%	6	4,20%
+	13	9,09%	13	9,09%	6	4,20%	31	21,68%
++	13	9,09%	12	8,39%	24	16,78%	30	20,98%
+++	10	6,99%	8	5,59%	45	31,47%	36	25,17%
++++	14	9,79%	11	7,69%	67	46,85%	40	27,97%

Tableau 1 : Répartition des 143 prélèvements sérologiques avant traitement selon les taux d'anticorps dirigés contre *Escherichia coli* F5 et CS31A, rotavirus et coronavirus.

	<i>Escherichia coli</i> F5	%	<i>Escherichia coli</i> CS31A	%	Rotavirus	%	Coronavirus	%
Négatif	47	32,87%	98	68,53%	1	0,70%	4	2,80%
+	29	20,28%	17	11,89%	2	1,40%	32	22,38%
++	4	2,80%	7	4,90%	16	11,19%	43	30,07%
+++	14	9,79%	10	6,99%	34	23,78%	27	18,88%
++++	49	34,27%	11	7,69%	90	62,94%	37	25,87%

Tableau 2 : Répartition des 143 prélèvements colostraux selon les taux d'anticorps dirigés contre *Escherichia coli* F5 et CS31A, rotavirus et coronavirus.

moins production d'anticorps (estimate -1.87) lorsqu'aucun API n'est appliqué (p-value = 0.0012\*\*).

Douze animaux ont présenté des réactions locales au site d'injection indépendamment du groupe de traitement. Cependant, toutes les réactions locales ont été notifiées dans les 2 élevages sans habitudes de vaccination. Aucune vache n'a présenté d'hyperthermie ou d'anorexie suite au traitement. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

Il n'y avait pas de différence significative dans l'apparition de réactions locales au site d'injection entre les groupes de traitement.

Deux veaux du groupe IMC ont présenté de la diarrhée aqueuse à une semaine d'âge. Les veaux ont reçu un sachet de réhydratant et aucune intervention de l'investigateur n'a été nécessaire. Les 2 veaux ont récupéré au bout de 24 heures. Tableau 4.

## **Discussion**

Une grande partie des vaches étaient séropositives vis-à-vis des virus lors de la prise de sang d'inclusion. Cependant l'étude se voulait une étude terrain, adaptée aux conditions de ce dernier. Or les virus tels que rotavirus et coronavirus sont des virus endémiques, qui circulent fortement dans les élevages français [2] et il est ainsi compliqué de trouver des élevages séronégatifs en conditions terrain. Le but de cette étude était de

prouver l'efficacité de l'utilisation d'un protocole combinant 2 vaccins destinés à l'immunisation active des vaches gestantes pour le transfert passif d'anticorps aux veaux et de ce fait les analyses statistiques démontrent cette efficacité. De plus, des taux faibles en anticorps sériques peuvent entraîner une charge faible en anticorps dans le colostrum et donc une moindre protection du veau : ainsi, même en situation endémique, il est important de stimuler la réponse immunitaire anamnétique par la vaccination.

De la même manière, il est actuellement bien connu que la réponse immunitaire cellulaire transférée au veau est importante en complément de la réponse humorale. Ainsi Riedel-Caspari [4] démontrait en 1993 que les leucocytes colostraux contribuaient à une meilleure résistance des veaux à une infection à EPEC, concluant que la qualité et la quantité de ces derniers semblaient cruciales pour leur efficacité. En 2007, Donovan mettait en évidence que le transfert passif de cellules maternelles au veau augmentait la réponse du veau aux antigènes contre lesquels la mère avait auparavant développé une réponse immunitaire, suggérant également que le transfert d'immunité cellulaire au veau était amélioré par la vaccination [5]. D'autre part, des études antérieures ont montré la capacité de la saponine et du Montanide™ ISA 206VG, adjuvant des vaccins utilisés, à stimuler une réponse immunitaire cellulaire forte [6, 7]. Cependant, les méthodes d'analyse de cette réponse sont très spécifiques et

	Modérée (nodule ≤ 7cm)	Sévère (nodule > 7cm)	Total réactions par vaccin
BS	25,0%	8,3%	2,8%
IMC	16,7%	8,3%	2,1%
BS+IMC	33,3%	8,3%	3,4%

Tableau 3 : Répartition des effets secondaires locaux en fonction de leur sévérité et du groupe de traitement.

	Nombre de cas	Durée diarrhée	Total ENN par vaccin
BS	0	/	0%
IMC	2	12h	4,2%
BS+IMC	0	/	0%

Tableau 4 : Répartition des ENN et durée de la diarrhée dans chaque groupe.

déliçates à mettre en place en routine. Dans cette étude, il est apparu que les taux en anticorps colostraux, éléments objectifs de mesure de la réponse immunitaire, étaient moins élevés pour les deux valences d'*Escherichia coli*, indépendamment du groupe traitement. Il convient donc de relativiser ces résultats chiffrés au regard des résultats cliniques. Une séroprévalence initiale forte des vaches signant une circulation active des pathogènes, si l'immunité transférée aux veaux n'avait pas été suffisante il y aurait eu beaucoup plus de veaux malades.

Les résultats montraient un effet de l'utilisation d'une préparation de 300mg de sélénite lors de la phase de préparation au vêlage sur la réponse anticorps contre les *Escherichia coli* F5 comparées aux vaches ayant reçu 500mg de sélénite. Ces observations n'étaient pas en accord avec les données de littérature existantes montrant que le sélénium joue un rôle important dans la mise en place de la réponse immunitaire [8]. Ces résultats sont toutefois à relativiser dans le cas présent. Il s'avère que dans l'élevage qui utilisait une complémentation avec le sélénium à 300 mg, les animaux étaient rentrés à l'étable plus tôt que dans les autres élevages, ce qui fait que la complémentation ayant été plus longue, la dose reçue par les bovins était au final sensiblement la même dans les 3 élevages. De plus, 80 vêlages avaient déjà eu lieu avant l'étude, et en regardant les données de façon plus fine, il apparaissait que les vaches de cet élevage présentaient des taux de séroprévalence envers *Escherichia coli* F5 avant traitement significativement plus élevés que dans les 2 autres élevages. Signant probablement une circulation active de ce pathogène et donc une pré-immunisation avant traitement.

De même il semblait exister un effet positif d'un traitement API systématique sur la réponse à la stimulation *E. coli* CS31A. Cela peut paraître étonnant du fait que dans un souci de préservation des molécules API, l'investigateur procédait à des analyses de fèces afin de décider de la pertinence ou non d'un traitement. Il se

pourrait que cette observation soit due au fait que seuls les vers gastro-intestinaux adultes excrètent des œufs et que cette excrétion soit fréquemment intermittente. Ainsi, un animal avec une coproscopie négative pourrait se révéler porteur de parasites entravant la mise en place d'une réponse immunitaire de qualité. Des publications ont déjà démontré l'effet délétère des strongles ou de la douve sur la mise en place de l'immunité [9] en modifiant la réponse immunitaire de l'hôte [10]. Dans le cas présent, les animaux non traités étaient majoritairement des primipares, les 3 élevages n'étaient pas exposés à la douve, mais il est possible que les animaux aient été porteurs de larves de strongles enkystées, modifiant la réponse vaccinale.

Les réactions locales au site d'injection ont toutes été relevées dans les 2 élevages qui n'avaient pas d'habitudes de vaccination. Il est possible que les éleveurs aient été moins habitués au chantier de vaccination ou peut être plus sensibles à l'apparition de nodules qui sont des réactions secondaires fréquentes d'une vaccination. Cela dit le pourcentage de réactions dans chaque groupe n'était pas significativement différent et restait cohérent avec celui décrit dans les RCP des 2 produits. Seuls 2 veaux ont développé une diarrhée à 1 semaine de vie. L'investigateur n'a pas été appelé et la diarrhée s'est résolue en 24 heures avec la prise d'un sachet réhydratant et sans autre traitement. Aucune analyse n'ayant été faite sur ces cas, il n'est pas possible de déterminer avec certitude son origine.

## **Conclusion**

Le protocole Bovigen® Scour associé à Imocolibov® est un protocole couramment utilisé dans les régions où une vaccination contre *Escherichia coli* CS31A est pratiquée en routine. Ce protocole original ne bénéficiant d'aucune donnée issue des laboratoires producteurs des deux vaccins, il paraissait donc nécessaire de produire ces données d'innocuité et d'efficacité. En effet les deux vaccins utilisant des adjuvants différents, il était

important de vérifier que ce type de protocole permet d'induire une réponse immunitaire envers les agents pathogènes visés de qualité, sans qu'un des antigènes ne prenne le dessus, tout en maintenant la sécurité des animaux.

Imocolibov® en 2 sites d'injection le même jour. De plus, il n'y a pas eu plus d'effets secondaires remontés dans le groupe test, ce protocole est donc aussi sûr que ceux utilisant un seul des 2 vaccins.

Cette étude démontre donc l'efficacité d'un protocole utilisant Bovigen® Scour et

### **Références**

1. RADOSTITS et al., A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses- Dietary diarrhea; *Veterinary Medicine*, 9ème Edition, 2001, Part 1-6; 344-346.
2. FOURNIER et NACIRI, Prévalence des agents de diarrhée chez le jeune veau; *Le Point Vétérinaire*; 2007; (273) 58-63.
3. VIALARD et al., Les laboratoires vétérinaires départementaux moteurs des progrès sur l'étiologie des diarrhées néonatales du veau; *JNGTV*; 2007; 1116
4. RIEDEL-CASPARI G., The influence of colostral leukocytes on the course of an experimental Escherichia coli infection and serum antibodies in neonatal calves, *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1993, 35:275-288.
5. DONNOVAN D. C. et al., Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves, *AJVR*, 2007, Vol 68, No 7:778-782.
6. de PAULA BARBOSA A., Saponins as immunoadjuvant agent: A review, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2014, Vol. 8(41):1049-1057.
7. KREJCI J. et al., Effects of adjuvants on the immune response of pigs after intradermal administration of antigen, *Research in Veterinary Science*, 2013, 94:73-76
8. RABOISSON D., SCHELCHER F., Sélénium et transfert d'immunité passive. Statut sélénié de la vache et concentration en IgG du colostrum, *Le Nouveau Praticien Vétérinaire Elevage et Santé*, 2009, Vol.2, No 11:61.
9. N. McNeilly T., J. Nisbet A., Immune modulation by helminth parasites of ruminants: implications for vaccine development and host immune competence, *Parasite*, 2014, 21, 51.
10. M. MAIZELS R., J. McSORLEY H., Regulation of the host immune system by helminth parasites, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2016; 138:666-75.