Etude du transfert d'immunité cellulaire colostrale chez le veau au pis

Study of colostral cellular immunity transfer in the suckling calf

Laurane Lebrun

Travail de Fin d'Etudes
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2013-2014

Etude du transfert d'immunité cellulaire colostrale chez le veau au pis

Study of colostral cellular immunity transfer in the suckling calf

Laurane Lebrun

Professeur Frédéric Rollin

Travail de Fin d'Etudes
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2013-2014

Remerciements

La première personne que je souhaiterais remercier est le Professeur Frédéric Rollin, mon promoteur, sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour. Je le remercie de m'avoir lancée sur ce sujet pour un travail de deux ans plein de rebondissements, de stress mais aussi d'espoir !
Son encadrement et sa rigueur m'ont permis de mener au mieux ce travail et d'ouvrir de belles perspectives futures d'avenir.

Je souhaiterais également remercier Pierre Dubreucq pour sa disponibilité dans la réception des échantillons de sang et de colostrum et pour m'avoir assisté dans l'analyse de mes prélèvements.

Je souhaite te remercier tout particulièrement, papa. Merci pour ton encouragement si discret depuis toutes ces années. Tu as toujours été derrière moi !
Merci de m'avoir tant aidée dans la composante pratique de ce travail. Merci d'avoir mis ces animaux à mon entière disposition, de m'avoir tant aidée dans la contention, dans la réalisation des mesures parfois compliquées par le caractère des animaux. Merci d'avoir été là.

Merci à toi, maman ! Tu m'as encouragée haut et fort dans mes études et ce depuis toujours. Tu réalises vraiment mes motivations et mon engagement dans cette future profession.

Mon chéri, merci de m'avoir toujours soutenue dans l'élaboration de ce travail comme dans toutes mes actions. Tu as été présent de la première lettre au dernier point de ce TFE. Tu m'as suivie partout et tu as su me guider au mieux. Tu m'as aussi supportée malgré mon caractère pas toujours évident à gérer en période de stress. Je ne serais pas là aujourd'hui sans toi, merci !

Merci à mes amis, à mes amies qui m'ont aidée à prendre confiance en moi tout au long de ce travail et qui m'ont permis de mettre à plat certaines craintes, bien souvent partagées.

Table des matières

1. Introduction 8
1.1. Le colostrum : importance pour la santé du veau 8
1.2. Le colostrum : composition et rôles des différents composants 8
1.3. Le colostrum : immunité cellulaire 10
1.3.1. Cellules 10
1.3.2. Passage des cellules maternelles au travers de l'épithélium intestinal du nouveau-né…… 10
1.3.3. Rôles des cellules maternelles 12
1.3.4. Importance des cellules maternelles 14
1.4. Evaluation du transfert d'immunité cellulaire 15
2. Objectif de l'étude 16
3. Matériels et méthodes 17
3.1. Protocole général 17
3.2. Exploitation et animaux 17
3.3. Vaccination 18
3.4. Injection intradermique (ID) 19
3.5. Vêlage 20
3.6. Distribution de colostrum et mesure de sa qualité 20
3.7. Mesure du transfert d'immunité colostrale chez les veaux 20
4. Résultats 20
4.1. Intradermiques (ID) réalisées sur les vaches non vaccinées 20
4.2. Intradermiques (ID) réalisées sur les vaches vaccinées 21
4.3. Intradermiques (ID) réalisées sur les veaux issus des vaches vaccinées 21
4.3.1. Transfert d'immunité colostrale (TIC) des 11 veaux issus de mères Vac 21
4.3.2. Intradermiques (ID) des 11 veaux issus des vaches Vac âgés de 2 à 42 jours 21
4.4. Intradermiques (ID) réalisées sur les veaux des groupes C1 et C2 22
4.5. Persistance de la réactivité à l'intradermique (ID) chez les veaux issus des vaches Vac. 22
4.6. Réponse à l'intradermique (ID) chez les veaux atteints de teigne 22
5. Discussion 23
5.1. Test intradermique (ID) 23

5.2. Test intradermique (ID) des vaches Vac 24
5.3. Test intradermique (ID) des animaux atteints de teigne 24
5.4. Transfert d'immunité par le biais du colostrum chez le veau 24
5.4.1. Transfert d'immunité colostrale chez le veau issu de vache Vac 24
5.4.2. Transfert d'immunité cellulaire et test intradermique (ID) chez le veau Vac 25
5.4.3. Test intradermique (ID) chez les veaux C 27
6. Conclusion et perspectives 29
7. Annexes 30
8. Bibliographie 36

Etude du transfert d'immunité cellulaire colostrale chez le veau au pis

OBJECTIF DU TRAVAIL

Ce travail de fin d'études a pour objectif de tester une méthode simple d'évaluation du transfert d'immunité cellulaire par voie colostrale chez le veau au pis.

RESUME

Le transfert d'immunité cellulaire colostrale chez le veau au pis est l'objet de ce travail de fin d'études. Pour ce faire, une revue détaillée de la littérature scientifique a tout d'abord été entreprise. Des données concernant les différents composants du colostrum et son importance pour la santé du veau ont été recherchées. Ensuite, les cellules de ce premier lait ont été investiguées afin de connaitre leur type, leur passage au travers de la barrière intestinale du veau et leur devenir au sein des tissus. En outre, l'évaluation de cette immunité cellulaire a été étudiée via la recherche de différents tests disponibles. De plus, des matériels et méthodes ont été posés. Onze vaches gestantes (Vac) ont été sélectionnées au sein d'une exploitation belge. Ces animaux ont été immunisés face aux antigènes de la teigne. Une fois les veaux nés et le colostrum de leur propre mère ingéré, un test immunologique via une intra-dermoréaction a été réalisé. Ce test est positif lorsque le pli de peau mesuré augmente de manière significative entre le moment de l'injection de l'antigène test et 72 h post-injection, ce qui s'est révélé être le cas pour 8 veaux. Ensuite, 2 groupes d'animaux contrôles, l'un en contact avec les couples mères-veaux Vac (C1) et l'autre non (C2), ont été choisis. Ces individus n'ont pas été vaccinés et permettent de critiquer les résultats obtenus. Enfin, les perspectives d'avenir ont été envisagées.

Study of colostral cellular immunity transfer in the suckling calf

PURPOSE OF THE WORK

The aim of this work is to test a simple method of evaluation of colostral cellular immunity transfer in the suckling calf.

SUMMARY

The transfer of colostral cellular immunity in the suckling calf is the aim of this work. To achieve this study we have first undertaken a detailed review of the scientific literature about the different components of the colostrum and its impact on the calf's health. Then, the colostrum's cells have been investigated to know their type, the way they go through the intestinal tract of the newborn calf and their evolution in the tissues. Besides the evaluation of this cellular immunity has been studied by the research of the different available tests. Then, materials and methods have been described to model the study. Eleven pregnant cows have been selected in a Belgian farm. These adult animals have been immunized with ringworm antigens. Once the calves were born and colostrum from their own mother have been ingested an immuno-assay using an intra-dermoreaction has been realized. This test is positive when the measured skin fold increases significantly between the time of injection of the antigen test and 72 h post-injection, which was the case for 8 calves. The next two groups of control animals, one in contact with vaccinated mothers and their calves (C1) and the other group not (C2) have been chosen. These animals have not been vaccinated and they allow criticizing the results. Finally, the future prospects have been considered.

1. Introduction

1.1. Le colostrum : importance pour la santé du veau

A la naissance, le veau est immunologiquement naïf (Donovan *et al.*, 2007). En effet, il n'y a pas de transfert trans-épithélial d'immunité de la vache au veau vu la placentation de type épithélio-chorial (Reber *et al.*, 2006). Un transfert d'immunité est donc nécessaire via l'ingestion de colostrum (Donovan *et al.*, 2007 ; Reber *et al.*, 2005 ; Reber *et al.*, 2006). Ce premier lait est produit par la mère et est, de ce fait, adapté aux pathogènes rencontrés dans le milieu de vie (Reber *et al.*, 2005). Il constitue donc une barrière contre les infections et les maladies du veau (Reber *et al.*, 2006). Le colostrum doit être ingéré au bon moment (idéalement dans les 6 premières heures de vie), en bonne quantité (10-15 % du poids vif de l'animal dans les 24 premières heures de vie) et être de qualité correcte (>75g/L d'immunoglobulines) (Ravary *et al.*, 2006). Ceci est repris dans le tableau I en annexe.

L'échec de ce transfert d'immunité colostrale entrainera une immunodéficience, ce qui peut prédisposer les jeunes animaux à tout type d'infection néonatale comme les bactériémies, les septicémies, les méningites, les arthrites, … Cet échec peut également rendre le nouveau-né plus sensible aux conséquences des diarrhées et des affections ombilicales (Ravary *et al.*, 2006). D'ailleurs, la morbidité et la mortalité des veaux augmentent respectivement de 3,2 fois à 9,5 fois et de 5,4 fois suite à un échec de transfert d'immunité colostrale (Rollin, 2003). Riedel-Caspari et Schmidt (1991) ont mené une étude qui a permis d'illustrer les conséquences d'un échec de transfert d'immunité. En effet, les animaux ayant reçu du colostrum n'ont pas nécessité de traitement médical. A l'inverse, tous les individus nourris au lactoremplaceur, supplémenté en leucocytes maternels colostraux (isolés via centrifugation) ou non, ont développé de la diarrhée néonatale à partir du troisième jour et ont dû être traités médicalement. Huit animaux sur ces treize nourris au lactoremplaceur sont morts.

1.2. Le colostrum : composition et rôles des différents composants

La glande mammaire sécrète un premier lait jaunâtre, épais et visqueux qui constitue le colostrum (Naylor, 1979). Celui-ci est plus riche que le lait vu la teneur plus élevée en matière sèche (22 % > 12 %) (Naylor, 1979). La différence de composition entre le lait et le colostrum est reprise dans le tableau II. Le colostrum est constitué principalement de protéines, de graisses, de minéraux, d'oligo-éléments, de vitamines (surtout A et E), de cytokines,

d'hormones (comme par exemple l'hormone de croissance, l'insuline,…), de cellules,… (Naylor, 1979 ; Reber *et al.*, 2006 ; Hagiwara *et al.*, 2008 ; Quigley, 2001)

Les protéines sont entre autres la caséine, la lactoferrine, la transferrine et les immunoglobulines (Ig). La lactoferrine et la transferrine ont un rôle bactériostatique en captant le fer et en le rendant indisponible pour les bactéries présentes au sein du tractus digestif du nouveau-né (Naylor, 1979). Elles participent à l'immunité locale (Naylor, 1979 ; Donovan *et al.*, 2007). Les Ig sont, quant à elles, actrices de l'immunité systémique en traversant la barrière intestinale (Naylor, 1979). Un détail des taux d'Ig est renseigné dans le tableau II. Les Ig sont principalement des IgG (IgG1 > IgG2) mais des IgA et des IgM sont aussi rencontrées (Naylor, 1979 ; Reber *et al.*, 2005). Les IgG1 sont sélectionnées à partir du sérum de la mère dans les cinq dernières semaines de gestation et sont transférées activement dans le pis où elles se trouvent donc concentrées (Naylor, 1979).

Il faut cependant noter que les IgA sont principalement actrices de l'immunité locale au sein du tractus digestif.

Hagiwara et ses collaborateurs (2008) décrivent la présence de cytokines sécrétées par la glande mammaire telles que l'interleukine 1β (IL-1β), l'IL-6, l'interféron gamma (IFN-γ) et le « Tumor necrosis factor alpha » (TNF-α). En 2006, Reber *et al.* identifient entre autres des hormones nécessaires pour la croissance et le développement physiologique du veau.

Le colostrum jouerait aussi un rôle important de contrôle de la flore qui s'établit dans le tractus digestif du nouveau-né (Naylor, 1979).

Des cellules sont également identifiées comme étant présentes dans le colostrum (Liebler-Tenorio *et al.*, 2002 ; Reber *et al.*, 2005 ; Reber *et al.*, 2006 ; Hagiwara *et al.*, 2008). Les cellules épithéliales du pis sont décrites mais les principales sont les leucocytes : neutrophiles, macrophages et lymphocytes.

Actuellement, beaucoup d'éleveurs congèlent leur colostrum ou disposent de colostrum lyophilisé en renfort. Ces deux types de colostrum sont distribués aux nouveau-nés lorsque leur mère n'est pas capable d'assurer une production optimale de premier lait. Cependant, ces deux types de procédés entrainent la destruction de toute cellule contenue dans le colostrum. Ces veaux ne bénéficieront donc pas de la partie cellulaire apportée par le colostrum.

1.3. Le colostrum : immunité cellulaire

1.3.1. Cellules

Parmi les leucocytes rencontrés dans le colostrum, des polymorphonucléaires neutrophiles (PMN) sont présents (entre 25 % et 37 %) (Reber *et al.*, 2005). Les macrophages sont également présents à des taux variables selon les différents auteurs. De même, les taux de lymphocytes varient mais les auteurs s'entendent sur le fait que les lymphocytes T (L_T) constituent une part majeure par rapport aux lymphocytes B (L_B) (Reber *et al.*, 2005 ; Liebler-Tenorio *et al.*, 2002). Ces différents taux sont repris dans le tableau III. Les différences observées entre les auteurs peuvent être éventuellement expliquées par le statut sanitaire différent des vaches en post-partum. Il faudrait s'assurer de prélever des vaches saines quant à la présence de mammites subcliniques.

Il faut noter la présence, dans le colostrum, des lymphocytes T helper, T cytotoxiques et T-γδ. Les L_T helper (TCD4) sont classifiés en Th1 (production d'IFN-γ et activation de la réponse immune cellulaire), Th2 (production d'IL-4, d'IL-5, d'IL-6, d'IL-10, induction des L_B et production d'anticorps). Les L_T cytotoxiques (TCD8) produisent des cytokines de type 1 comme l'IL-2 et l'IFN-γ. Les L_T-γδ sont, quant à eux, généralement localisés dans les épithélia intestinal et cutané où ils contribuent à l'immunité des muqueuses (Hagiwara *et al.*, 2008). Reber et ses collaborateurs, en 2005, décrivent la présence de cellules natural-killers (NK) à un taux de 5 à 15 %.

1.3.2. Passage des cellules maternelles au travers de l'épithélium intestinal du nouveau-né

L'absorption des cellules dans la circulation et les tissus néonataux est rendue possible via une implication de la glande mammaire qui a pour but d'induire un changement phénotypique des cellules d'origine maternelle (Reber *et al.*, 2006).

Une fois le colostrum ingéré, les cellules maternelles vont être absorbées à partir du tube digestif vers les tissus du nouveau-né. Ceci est illustré dans la figure 1.

Tout d'abord, l'absorption des cellules maternelles a été observée via les plaques de Peyer par Liebler-Tenorio et ses collaborateurs (2002). Cette voie semble être la plus effective pour le passage cellulaire à travers la barrière intestinale. Les auteurs ont noté une absorption plus importante via les plaques de Peyer jéjunales que via les plaques de Peyer iléales. Cela pourrait être expliqué, d'une part, par des villosités plus larges et plus exposées au niveau du jéjunum. Ceci entraine donc une surface plus importante de follicules associés aux

épithéliums (FAE). D'autre part, la composition cellulaire des FAE diffère entre le jéjunum et l'iléon. Ceci expliquerait donc que les cellules soient rapidement absorbées au niveau jéjunal et ce, afin d'éviter une exposition prolongée aux sucs digestifs qui leur sont délétères. Au sein des FAE, l'absorption est possible via les cellules M mais aussi entre les cellules épithéliales. Ces auteurs n'ont pu conclure quant à la route vraiment utilisée et il n'est donc permis que de spéculer sur celle-ci.

Les lymphocytes maternels ne sont pas seulement absorbés, ils gagnent également la circulation et les tissus du nouveau-né. En effet, des cellules sont retrouvées au niveau des sinus lymphoïdes qui sont drainés par les nœuds lymphatiques mésentériques. Les lymphocytes peuvent donc circuler. Ceci permet aux lymphocytes maternels d'être en contact direct avec les leucocytes immunocompétents du nouveau-né (Liebler-Tenorio *et al.*, 2002). Il y a donc présentation des cellules maternelles absorbées aux cellules immunitaires du nouveau-né.

Ensuite, des récepteurs ont été identifiés à la surface des différentes cellules actrices du transfert depuis le compartiment sanguin vers les tissus du nouveau-né (Reber *et al.*, 2006). Ces récepteurs permettent, via leur travail en collaboration, de ralentir le flux des leucocytes le long des parois vasculaires, d'augmenter leur temps de contact avec l'endothélium pour finalement permettre leur adhésion et leur migration à travers la paroi du vaisseau (Reber *et al.*, 2006). Ainsi, les leucocytes maternels auront migré de la circulation sanguine néonatale aux tissus du nouveau-né.

Lorsque tous ces récepteurs sont exprimés, ces auteurs ont prouvé que les lymphocytes maternels vont se localiser au niveau des tissus lymphoïdes secondaires. Rappelons que les tissus lymphoïdes primaires sont le thymus et la moelle osseuse et les tissus lymphoïdes secondaires sont les ganglions lymphatiques, la rate et le tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Plaques de Peyer notamment). Cette distribution est très importante pour assurer l'initiation et la régulation des réponses immunes spécifiques par les leucocytes maternels.

Lorsque les lymphocytes maternels perdent l'expression d'un récepteur particulier (CD62L), cela permet le développement de cellules mémoires. Ces cellules se localisent dans les tissus non–lymphoïdes et pourraient ainsi fournir une protection immunitaire circulante au sein des tissus du nouveau-né.

Les lymphocytes maternels se distribuent donc dans les tissus lymphoïdes secondaires et dans les tissus non-lymphoïdes.

Cette absorption cellulaire est illustrée par l'expérimentation de Reber *et al.*, (2006). La proportion de cellules maternelles marquées dans le sang du nouveau-né augmente progressivement dans les 8 à 24 heures après ingestion du colostrum. Ensuite, une diminution est remarquée dans les 28 à 36 heures. Ceci serait dû à la séquestration des cellules maternelles dans les tissus néonataux et les tissus lymphoïdes secondaires.

1.3.3. Rôles des cellules maternelles

Les leucocytes colostraux ont été étudiés *in vitro*, ce qui a permis d'identifier différentes propriétés antimicrobiennes, cytotoxiques, productrices d'Ig, d'IFN,… (Riedel-Caspari *et al.*, 1991). Différents auteurs se sont attachés à décrire leurs rôles.

Tout d'abord, les leucocytes colostraux pourraient stimuler les **mécanismes de défense** de la surface intestinale en cas d'infection. Cela se traduit par une augmentation des taux de lymphocytes et de PMN recrutés sur le site d'infection (Riedel-Caspari *et al.*, 1991).

Ensuite, Reber et ses collaborateurs (2005) ont démontré que les lymphocytes colostraux permettent le développement de **cellules présentatrices d'antigènes** (APC) **néonatales** matures qui circulent dans le flux sanguin. Ceci permet l'initiation de réponses immunes spécifiques. En effet, les veaux nourris au colostrum complet stimulent les APC dans les 24 heures qui suivent leur premier repas et cette activité augmente encore durant leur deuxième semaine de vie. A l'inverse, il faut environ deux semaines pour que les veaux nourris au colostrum dépourvu de cellules immunitaires développent une telle réponse cellulaire aux antigènes (Reber *et al.*, 2005).

De plus, Reber et ses collaborateurs (2008a) ont étudié le rôle des leucocytes maternels sur les cellules néonatales appartenant à la **lignée monocytaire** (monocytes, macrophages, APC).

Pour cela, ils ont étudié différents récepteurs présents à la surface des monocytes. Ils ont ensuite comparé les résultats obtenus dans deux groupes de veaux : les veaux nourris avec un colostrum complet et les veaux nourris avec un colostrum acellulaire. Ils ont retenu que, pour les veaux nourris de colostrum complet, les monocytes sont plus matures et possèdent une capacité de présentation antigénique meilleure. Pour les animaux de l'autre groupe, les monocytes sont moins matures et tentent de lutter contre cet état via une augmentation de leur

nombre. De plus, ces animaux sont plus sensibles au stress, ce qui induit une modification de leur profil cellulaire.
Ces auteurs concluent donc que les leucocytes colostraux ont une meilleure capacité à présenter les antigènes aux monocytes du nouveau-né (Reber *et al.*, 2008a).

Reber *et al.* (2008b) ont également étudié les effets des leucocytes colostraux sur le développement et la maturation des **lymphocytes néonataux**. Ces derniers sont les cellules les plus importantes à la naissance, elles représentent 83 % du nombre total de cellules mononucléées sanguines.
Dans un premier temps, il ressort que les veaux privés de cellules colostrales seraient plus sensibles face à un environnement stressant ou face à des agents infectieux. En effet, des taux plus élevés du récepteur cellulaire signant cette sensibilité (CD11a) ont été observés.
Dans un deuxième temps, la réponse des L_T néonataux serait stimulée par les cellules colostrales et ce, via un contrôle ou une co-stimulation de la liaison entre APC et L_T. Les cellules colostrales permettent ainsi d'aider la constitution de la défense cellulaire du système immunitaire du nouveau-né.

En outre, les L_T de type Th1 et L_T cytotoxiques sécrètent de l'**IFN-γ** qui permet de booster l'activation de l'immunité cellulaire (Hagiwara et al., 2008). En effet, cet interféron a un rôle d'induction et de modification de cette réponse cellulaire. Il est décrit qu'il permet également l'activation des PMN, macrophages et NK. Il faut remarquer également qu'Hagiwara et ses collaborateurs (2008) décrivent que les L_T CD8 sont présents dans le colostrum et expriment le gène de l'IFN-γ. Ces L_T CD8 sont donc recrutés au sein de la glande mammaire en vue de produire cette cytokine. Il conviendrait alors, selon eux, de favoriser la distribution de colostrum enrichi en L_T CD8 dans le but de potentialiser la réponse immunitaire des veaux nouveau-nés.

Pour terminer, en 2007, Donovan et ses collaborateurs ont tenté de mettre en évidence l'effet des composants cellulaires sur les réponses immunes du nouveau-né face à un pathogène intracellulaire afin d'illustrer les conclusions précitées. Les vaches ont été vaccinées avec un vaccin inactivé du virus de la diarrhée virale bovine (BVD). Les chercheurs ont testé *in vitro* la prolifération des cellules mononucléées sanguines néonatales, issues de veaux ayant bu leur colostrum enrichi, en réponse à une stimulation *in vivo* par le virus BVD. Ils ont constaté que les cellules néonatales ne se multiplient pas si l'animal n'a pas ingéré son

colostrum complet. Une fois ingéré, une réaction proliférative est notée le lendemain de manière significative ($p<0,01$). Cette observation est confortée par le fait que les animaux ayant reçu un colostrum privé de cellules ne réagissent pas à la stimulation. Cette expérimentation permet aux auteurs de tirer une conclusion importante : les vaches vaccinées face à un pathogène spécifique peuvent développer une immunité capable d'être transférée à sa descendance via un transfert colostral de cellules immunitaires viables. Cette immunité transférée, via le transfert de L_T mémoires, va permettre de protéger le nouveau-né dans les 24 premières heures suivant la prise colostrale. Il apparaît cependant que cette immunité ne perdure pas plus de sept jours après ingestion.

Cette phase expérimentale permet cependant de tirer une conclusion intéressante : la vaccination des mères face à un pathogène intracellulaire peut améliorer la protection des veaux. La vaccination permet donc un apport de leucocytes maternels sensibles via le colostrum.

Cette recherche bibliographique sur le rôle des cellules colostrales nous montre que leur rôle n'est encore que partiellement élucidé.

1.3.4. Importance des cellules maternelles

En parcourant la littérature, il est toujours question des cellules colostrales maternelles. Nous pouvons donc nous poser la question quant à leur importance et leur tolérance par le système immunitaire du nouveau-né. Reber et ses collaborateurs soulèvent justement la question en 2005 et y apportent des éléments de réponse. Ils ont remarqué l'absorption des leucocytes colostraux dès 12 heures après la prise de colostrum et un pic d'absorption après 24 heures. Ce timing correspond avec le pic de réponse aux antigènes présentés sous forme de complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) aux leucocytes néonataux. Il y a donc, selon eux, une relation étroite entre les cellules maternelles et les leucocytes du nouveau-né. Un effet immuno-modulateur ainsi qu'une aide au développement des leucocytes sont décrits comme rôles des cellules colostrales (Reber *et al.*, 2005). Surtout, elles induisent un état de tolérance sur le système immunitaire du nouveau-né face aux antigènes maternels (Reber *et al.*, 2005). Ceci a été objectivé via une observation de la diminution de la réponse aux cellules maternelles par les leucocytes colostraux (Reber *et al.*, 2005).

1.4. Evaluation du transfert d'immunité cellulaire

L'immunité cellulaire peut être évaluée chez l'animal via différents tests : le test à l'IFN-γ, le test intradermique (ID) et le test « High Immune Response » (HIR).

Le test à l'IFN-γ met en évidence la cytokine produite par les cellules immunitaires. En effet, suite à une stimulation antigénique particulière et déjà rencontrée par le système immunitaire, les L_T mémoires produisent de l'IFN-γ. Celui-ci peut être dosé via un test sanguin *in vitro* et signe le développement d'une immunité cellulaire.

Le test intradermique, comme par exemple la tuberculination, ne repose que sur la détection de la mise en place d'une hypersensibilité de type IV. Celle-ci nécessite uniquement le développement d'une immunité cellulaire.

Ce test se base sur la réaction d'hypersensibilité de type tuberculinique (Britton, 2007). Pour que cette réaction se développe, l'animal doit déjà être rentré en contact avec l'antigène ou avec des cellules colostrales ayant déjà rencontré cette stimulation antigénique. Différents antigènes peuvent être utilisés pour réaliser ce test : par exemple, la tuberculine bovine, la tuberculine aviaire, *Candida albicans* ou encore l'anaphylatoxine tétanique. Donc, après injection ID de l'antigène (tuberculine dans le cas de la tuberculination), les L_T mémoires spécifiques de cette tuberculine sont recrutés et activés. Ceux-ci vont permettre, via la sécrétion de différentes cytokines (dont l'IFN-γ), le recrutement de macrophages, PMN, L_T et monocytes. Cet infiltrat cellulaire se produit dans les 72 premières heures suivant l'injection antigénique. Cette réaction cellulaire s'accompagne d'une tuméfaction, d'une induration au site d'injection, de douleur, de chaleur voire même d'une réaction ganglionnaire ipsi-latérale au site d'injection de l'antigène.

Ce sont ces réactions qui vont permettre l'utilisation en routine de ce test en pratique rurale. L'injection antigénique a lieu dans le tiers médian du cou de l'animal. L'article 3 de l'arrêté français du 11 juillet 1990 explique clairement la technique à adopter : « La zone d'injection est tondue et nettoyée. Un pli de la peau est pris entre l'index et le pouce et mesuré à l'aide d'un cutimètre et noté. Une petite aiguille stérile, avec le bord biseauté à l'extérieur, reliée à une seringue contenant de la tuberculine, est introduite obliquement dans les couches les plus profondes de la peau. La dose de tuberculine (0,1 mL) est ensuite injectée. L'injection bien faite doit donner à la palpation un léger renflement de la grosseur d'un petit pois au point d'injection. L'épaisseur du pli de la peau au point d'injection est remesurée à l'aide d'un cutimètre soixante-douze heures après l'injection et notée. » Il est ensuite nécessaire d'interpréter les résultats et voici ce que l'agence fédérale pour la sécurité de la chaîne

alimentaire (AFSCA) référence comme analyse : si l'accroissement est de moins de 2 mm, la réaction est négative. Au delà de 4 mm d'accroissement, la réaction est positive. Entre 2 et 4 mm, le résultat est alors douteux.

Un autre test a été mis en place récemment pour évaluer la réponse immunitaire humorale et cellulaire, le « High Immune Response » (HIR) (Wagter-Lespérance, 2012). C'est l'hypersensibilité retardée qui permet, ici encore, d'objectiver une réponse immune cellulaire.

Le protocole requiert l'injection d'un antigène, *Candida albicans*, deux fois, à 14 jours d'intervalle (Thompson-Crispy *et al.*, 2012). Afin de mesurer l'amplitude de cette hypersensibilité retardée, au jour 21, une mesure du pli de peau est effectuée selon les standards de l'AFSCA. Cette valeur est considérée comme la référence. Ensuite, la réaction cellulaire des animaux est testée en injectant cet antigène en ID. Au jour 23, soit 48 h après l'injection antigénique, le pli de peau est à nouveau mesuré et référencé. Une injection de placebo, sur l'autre côté de l'encolure, peut être utilisée comme mesure de contrôle.

Différents animaux sont testés, après immunisation, afin d'identifier ceux qui développent les meilleures réponses immunitaires protectrice, sensées représenter leur résistance à différentes pathologies, de ceux qui développent des réponses immunitaires de moins bonne qualité. Les animaux qui développent une bonne réponse immune protectrice sont qualifiés de HIR et seraient alors associés à un moindre risque de maladie. Ils développeraient une meilleure réponse immunitaire également suite à la vaccination. De même, leur lait et leur colostrum seraient de meilleure qualité. Le but de cette méthodologie est de limiter le recours aux médicaments tels que les antibiotiques de par la sélection génétique des vaches et des taureaux les plus efficients d'un point de vue immunitaire.

Ce test est bien sûr réalisable en exploitation. (Wagter-Lespérance, 2012).

2. Objectif de l'étude

Après avoir ainsi parcouru la littérature sur l'immunité cellulaire colostrale, on se rend compte qu'il y a encore beaucoup de choses à apprendre à ce sujet. Ce travail a donc pour but d'étudier ce transfert d'immunité cellulaire par voie colostrale chez le veau au pis. En effet, il est intéressant de réaliser une expérimentation *in vivo* afin de pouvoir le mettre en évidence. Les résultats que nous obtiendrons permettront peut-être d'ouvrir de nombreuses perspectives d'avenir.

3. Matériels et méthodes

3.1. Protocole général

Le transfert d'immunité cellulaire de la mère au veau par le biais du colostrum a été testé dans une exploitation de vaches allaitantes de la province de Namur. Pour ce faire, un groupe de vaches gestantes a été vacciné contre la teigne au moyen d'un vaccin enregistré, avant de tester, au moyen d'une ID avec le même produit, si cette vaccination induisait bien chez elles une réponse cellulaire mesurable. Ce test ID a ensuite été utilisé chez leur veau après ingestion et absorption du colostrum de leur mère afin de tester chez eux le transfert colostral d'immunité cellulaire. Un groupe de vaches gestantes non vaccinées et leurs veaux ont suivi le même protocole pour servir de contrôle.

3.2. Exploitation et animaux

Afin de vérifier la présence éventuelle d'une réaction à l'ID chez des bovins non vaccinés préalablement, 6 vaches Holstein pie-noires de réforme (0156, 0678, 0687, 1266, 6971 et 6974) ont été sélectionnées dans le troupeau du Département clinique des animaux de production de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège pour un test préliminaire. Elles étaient âgées de 6,8 +/- 0,3 ans de moyenne. Elles étaient originaires de 2 exploitations différentes mais 3 vaches avaient auparavant transité par 2 autres exploitations.

Ensuite, les animaux nécessaires pour cette expérimentation ont été sélectionnés au sein d'une exploitation de vaches allaitantes croisées Blanc-Bleu belges (BBB) située en province de Namur. Cette exploitation compte environ 200 animaux BBB croisés principalement Maine-Anjou et Charolais. Dans cette exploitation, environ 60 veaux naissent chaque année par césarienne et sont élevés au pis par leur mère. Un plan d'exploitation repris en annexe (figure 2) permet de suivre le mouvement habituel des animaux. Les vaches gestantes sont en attente d'un vêlage plus ou moins imminent dans les loges 1 et 2. Elles sont ensuite déplacées dans l'étable 3 où une césarienne est pratiquée afin de mettre au monde le veau. Dès lors, le veau tête le pis de sa mère et le couple mère-veau n'est plus séparé jusqu'au sevrage. Ces animaux rejoignent les stabulations libres paillées en commençant par la loge 4 ou 5 afin de favoriser la reconnaissance entre le veau et sa mère et de s'assurer que celui-ci tête correctement. Les 3 à 5 couples mère-veau qui se suivent peuvent ensuite être regroupés dans la loge 6. Les veaux et leurs mères passent ensuite dans la loge 7 ou 8 dès qu'ils sont

âgés d'au minimum une semaine. Enfin, les animaux les plus âgés peuvent également être déplacés dans la loge 9.

Au sein de cette exploitation, 11 vaches pluripares confirmées gestantes par fouiller rectal ont été sélectionnées sur base de la date de vêlage prévue par l'éleveur, celle-ci s'étalant du premier novembre 2013 au premier janvier 2014. Au début de l'étude, les vaches étaient âgées en moyenne de 4,7 +/- 0,2 ans. Les informations individuelles sont reprises dans le tableau IV de même que celles concernant leurs veaux.

En plus de ces animaux « vaccinés » (groupe Vac), 2 groupes d'animaux contrôles (C) ont été choisis au sein de cette même exploitation.
Le premier groupe de 6 vaches contrôles (C1) a été en contact direct avec les animaux Vac dès la loge 6. Un contact étroit entre vaches et veaux Vac et vaches et veaux C1 ne peut dès lors pas être exclu. C'est important à signaler car il est un fait, observé régulièrement par l'éleveur, que les veaux peuvent téter une autre mère que la leur.
Ces animaux C1 sont les vaches 6363, 6330, 6352, 6309, 6400 et 7904 et leurs veaux respectifs. Ils sont intégrés au tableau IV repris en annexe.
Le deuxième groupe de 4 vaches contrôles (C2) reprend des animaux vivant dans les mêmes conditions que leurs congénères mais maintenus exclusivement entre eux dans les loges 4, 5 ou 6 de façon à éviter tout contact possible avec les autres animaux de l'exploitation. Il s'agit des vaches 0510, 0438, 6319 et 7312 avec leurs veaux respectifs. Leurs données personnelles sont intégrées dans le tableau IV repris en annexe.

De plus, 3 veaux de race BBB ont été sélectionnés dans 2 exploitations de la région de Mons, où sévissait la teigne. Il s'agit des animaux 4035, 4815 et 4838. Ces veaux présentaient des lésions évidentes de teigne, circulaires et alopéciques. Ils étaient âgés, pour deux d'entre eux, d'1,5 mois (4035 et 4838) et de 6 mois pour le dernier (4815).

3.3. Vaccination

Les 11 vaches Vac ont été immunisées vis-à-vis des antigènes de *Tricophyton verrucosum*, *T. mentagrophytes* et *T. sarkisovii* au moyen du vaccin Insol Tricophyton® (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Germany). Suivant la notice, ces vaches ont reçu 2 injections de 5 mL du vaccin par voie IM à 14 jours d'intervalle. Ces injections ont été

réalisées au niveau de l'encolure. Les dates de vaccination des différents animaux sont consignées dans le tableau IV.

3.4. Injection intradermique (ID)

Tous ces animaux ont été testés au moins une fois immunologiquement via une ID réalisée comme suit : la zone sélectionnée sur l'encolure a été tondue. De plus, une mesure de l'épaisseur du pli de peau a été pratiquée à l'endroit d'injection ID désiré au moyen d'un pied à coulisse. Ensuite, une injection ID de 0,1 mL de la solution du vaccin Insol Tricophyton® a été réalisée au niveau de l'encolure de l'animal testé. Cette zone a été contrôlée après 72h via une mesure du pli de peau au pied à coulisse, comme cela a été référencé par l'AFSCA. Il a également été noté la présence éventuelle de chaleur, douleur ou d'une réaction ganglionnaire ipsi-latérale, confirmée en comparant ce ganglion au ganglion contra-latéral.

Ce test ID a été d'abord effectué de façon préliminaire sur les 6 vaches Holstein de réforme et sur 4 des 11 vaches sélectionnées dans le groupe Vac, mais avant leur vaccination (voir tableau IV). Ensuite, le test ID a été effectué 28 jours après la deuxième injection vaccinale sur les 11 vaches Vac (tableau IV).

Quant aux veaux du groupe Vac, l'ID a eu lieu à différents moments (tableau IV). Un test a été pratiqué sur 2 veaux à 48 h de vie (pour attendre la fin du transfert de l'immunité cellulaire). Deux autres veaux ont été testés à 72 h de vie. Deux autres ont alors été testés à 7 jours de vie. Enfin, parmi les 5 veaux restants, 2 ont été testés à 14 jours, 1 à 3 semaines, 1 à 1 mois et 1 à 1,5 mois. Ainsi, chaque veau a subi l'ID à un timing précis.

Afin de mesurer la persistance de l'immunité cellulaire conférée par les leucocytes maternels, un test supplémentaire (ID_2) a été réalisé chez certains veaux Vac, entre 5 et 68 jours après la première ID. Celui-ci est référencé dans le tableau IV.

Les animaux appartenant aux 2 groupes C1 et C2 ont également été soumis au test ID.

Toutes les vaches C ont été testées le 2 mars ainsi que les veaux du groupe C2. Quant aux veaux du groupe C1, il a été essayé de réaliser les tests ID approximativement aux mêmes moments que pour les veaux Vac, soit 2 jours, 14 jours et environ 4 semaines, 6 semaines et 8 semaines après la naissance. Les veaux du groupe C2 ont tous eu leur ID 4 semaines après leur naissance.

Les 3 veaux teigneux ont également été testés via une injection ID afin de mettre en évidence le type de réaction que peut présenter un animal atteint de teigne.

3.5. Vêlage

Les naissances des animaux Vac se sont étalées du 12 novembre 2013 au 12 janvier 2014. Les 11 vaches Vac ont vêlé par césarienne réalisée par le vétérinaire d'exploitation.

3.6. Distribution de colostrum et mesure de sa qualité

Dès leur première heure de vie, les 11 veaux issus de mères Vac ont reçu le colostrum de leur propre mère. Pour ce faire, la vache a été traite et un prélèvement de colostrum a été réalisé pour être analysé ensuite via un pèse-colostrum (calibré pour le taux de protéines totales) afin de déterminer sa qualité. Ensuite, le colostrum a été distribué à son propre veau au biberon. Les nouveau-nés ont reçu au minimum 3 litres de colostrum dans leurs 24 premières heures de vie (voire dans l'idéal, 10 à 15 % de leur poids vif). L'éleveur a alors été chargé de remplir une feuille de note par animal reprenant : le numéro de boucle de la mère et celui du veau, la date du vêlage, le poids du veau à la naissance et les prises de colostrum durant 24h. Ces informations ont été consignées afin de vérifier la prise colostrale qui est primordiale pour cette étude (annexe 1). De plus, certains facteurs importants y sont rappelés. Dans les jours suivants, les veaux ont continué leur prise lactée au pis à leur demande.

3.7. Mesure du transfert d'immunité colostrale chez les veaux

Une prise de sang a été réalisée sur chaque veau issu de mère Vac entre le 3^{e} et le 5^{e} jour de vie afin de mesurer les protéines sériques totales (PST) dans le but d'évaluer le transfert d'immunité colostrale (TIC) (jugé correct au delà de 56g/L de PST). Les prélèvements ont été analysés grâce à un pèse colostrum.

4. Résultats

4.1. Intradermiques (ID) réalisées sur les vaches non vaccinées

Les 10 premières vaches testées lors de l'expérimentation se sont toutes révélées négatives suite à l'injection ID_1 : aucune réaction cutanée n'a en effet pu être mesurée ou palpée. Il s'agit des 6 vaches Holstein non gestantes, dont le passé vaccinal en matière de teigne est inconnu, ainsi que les 4 vaches Vac gestantes, avant leur vaccination.

Parmi les 10 vaches non gestantes appartenant aux groupes C1 et C2, seuls 2 animaux ont présenté une réaction cutanée suite à l'injection ID réalisée. La vache 7904 qui a présenté une

réaction de + 5mm en épaisseur et de 9 mm en diamètre ainsi que la 6319 qui a présenté une augmentation de pli de peau de 3 mm et un diamètre de 7 mm.

4.2. Intradermiques (ID) réalisées sur les vaches vaccinées

Une réaction ID positive a été constatée sur chacune des 11 vaches Vac, 72h après injection ID. Aucun animal n'a présenté de douleur ou de réaction ganglionnaire ipsi-latérale. Ces résultats sont consignés dans le tableau V repris en annexe. On remarque que le pli de peau normal des vaches oscillait entre 6 et 8 mm. Suite à l'ID_1, le pli de peau a augmenté entre 2 et 9 mm. Quant au diamètre, on remarque que 10 réactions sur 11 étaient circulaires avec une mesure de 3 à 12 mm. Cependant, une vache a présenté une réaction plutôt ovale qui s'étendait sur 20 mm de long et 10 mm de largeur.

4.3. Intradermiques (ID) réalisées sur les veaux issus des vaches vaccinées

4.3.1. Transfert d'immunité colostrale (TIC) des 11 veaux issus de mères Vac

Les quantités de colostrum que le veau a ingéré sur un certain laps de temps sont reprises dans le tableau VI. De plus, dans ce même tableau, sont reprises les dates de prise de sang réalisées sur les veaux et les résultats du dosage des PST et de la pesée du colostrum.

Le colostrum est de qualité correcte (50 – 90 g/L) pour 2 vaches (6335 et 6368), de bonne qualité (91 – 125 g/L) pour le reste des animaux voire même de très bonne qualité (>125 g/L) pour les vaches 6326, 6355 et 7364. De plus, on se rend compte qu'un seul veau n'a pas bu ses 3 litres minimum sur 24h (1680). Cependant, le niveau des PST est acceptable (>56 g/L) pour tous les veaux, sauf 1 (1691) qui néanmoins a reçu un colostrum de qualité excellente en quantité correcte (4,5L).

4.3.2. Intradermiques (ID) des 11 veaux issus des vaches Vac âgés de 2 à 42 jours

Les réactions ID des 11 veaux sont consignées dans le tableau V repris en annexe.

Un seul veau (1668) n'a pas réagi.

Deux résultats d'ID_1 sur 11 sont inconnus étant donné que l'ID a été réalisée mais n'a pas été vérifiée à heure et à temps (1670 et 1671).

Huit veaux sur 11 ont développé un résultat positif suite à l'ID_1. L'épaisseur de leur pli de peau avant l'ID est assez variable, de 3 à 6 mm pour les femelles et de 3 à 8 mm pour les mâles.

Quant à l'augmentation de l'épaisseur du pli de peau suite à l'ID_1, elle est de 1 à 5 mm en fonction du veau. Cette augmentation est inférieure à celle de leur mère pour 6 veaux sur 8. Elle est supérieure à celle de sa mère pour le veau 1694 et égale à celle de sa mère pour le veau 1691. Le diamètre de la réaction cutanée mesure entre 2 et 15 mm. Notons également que les veaux 1686 et 1691 ont présenté de la douleur au niveau du site d'injection.

4.4. Intradermiques (ID) réalisées sur les veaux des groupes C1 et C2

Les veaux du groupe C ont présenté des résultats forts variables. (Tableau V)

Trois veaux C1 sur 6 n'ont présenté aucune réaction. Les 3 autres ont développé une réaction positive allant de 1 à 6 mm d'augmentation de pli de peau, tandis que pour leur diamètre, 2 veaux ont présenté une réaction circulaire de 2 et 5 mm. Le 1695 a avoir présenté une réaction étendue de 25 x 14 mm et est le seul à présenter de la douleur.

Un seul veau C2 sur 4 n'a pas réagi (1700). Les 3 autres ont présenté une réaction allant de + 2 à + 3 mm d'augmentation de pli de peau et un diamètre de 5 à 6 mm.

4.5. Persistance de la réactivité à l'intradermique (ID) chez les veaux issus des vaches Vac.

Parmi les 7 veaux Vac ayant reçu une seconde injection ID (ID_2) de 5 à 63 jours après l'ID_1, 4 ont développé une réaction sans aucune douleur ni réaction ganglionnaire ipsi-latérale.

Le 1670 a obtenu son premier résultat, comme la réponse à l'ID_1 n'avait pas été lue. Sa réaction cutanée est de + 4 mm en augmentation d'épaisseur et de 20x10 mm en diamètre.

Le 1680 a développé lors de l'ID_2 une réaction plus forte que lors de l'ID_1. Il a pris 1 mm supplémentaire d'épaisseur de pli de peau et en diamètre.

Les 1696 et 1693 ont développé la même réaction que celle présentée lors de l'ID_1, soit 1 mm d'augmentation de pli de peau et 2 mm de diamètre.

Quant aux animaux négatifs, le 1694 avait réagi à l'ID_1 mais n'a plus réagi lors de l'ID_2. Le 1668 n'a pas réagi lors de l'ID_2, tout comme suite à l'ID_1.

Le 1671, dont le résultat de l'ID_1 n'avait pas été lu non plus, a eu une réaction douteuse en ce sens qu'elle a encore augmenté après 96h et 120h post-ID_2 et qu'un peu de liquide séro-hémorragique sourdait à la pression.

4.6. Réponse à l'intradermique (ID) chez les veaux atteints de teigne

Les 3 veaux teigneux en provenance des 2 exploitations montoises ont réagi positivement à l'injection ID. Leur pli de peau respectif était le même au départ : 4 mm. Ils ont développé un

pli de peau avec réaction de 5 mm (4035), de 6 mm (4815) et de 14 mm (4838), soit une augmentation allant de + 1 à + 10 mm. Le diamètre mesuré était de 9 mm (4035), 8 mm (4815) et de 21 x 23 mm (4838). Seul l'animal 4838 a présenté de la douleur au site d'injection. Aucun ganglion ipsi-latéral n'était gonflé.

5. Discussion

Suite à cette expérimentation, il est nécessaire d'interpréter les résultats obtenus pour les différents groupes d'animaux réalisés mais aussi de les mettre en relation. Ainsi, nous pourrons tirer quelques conclusions sur le sujet et ouvrir différentes perspectives de recherches ultérieures.

5.1. Test intradermique (ID)

Le test ID est le principal et unique test employé tout au long de cette étude expérimentale. Nous savons déjà qu'il a recours à l'immunité cellulaire via une réaction d'hypersensibilité de type IV (Britton, 2007). En effet, l'hypersensibilité de type I qui développe une phase précoce et une phase tardive ne dure que 10 - 12 heures au maximum (Gillet, 2012). De ce fait, la réaction cutanée notée 72h post injection ID ne peut pas être une réaction de type I de par le temps qu'elle prend pour se mettre en place (48h minimum pour obtenir le début d'un développement cutané), de par sa persistance (48h-72h) et par le fait qu'il n'y a aucune réaction immédiate suite à l'injection ID.
Cette réaction d'hypersensibilité retardée est également décrite par Blanco et Garcia (2008) et est déclenchée via les kératinases (utilisées comme antigènes) appartenant à la paroi des dermatophytes lorsqu'elles sont injectées en ID.

Dans notre étude, il convient de noter qu'il s'agit du vaccin dans son ensemble qui est injecté en ID et non pas uniquement les antigènes vaccinaux. Le résultat des ID aurait-il pu être différent ? Cela semble peu probable étant donné que l'excipient présent est le thiomersal qui agit comme un agent de conservation et d'inactivation. Il n'est en effet pas à proprement parler un adjuvant vaccinal qui améliore la réponse immunitaire de l'animal.

Il faut également remarquer que, grâce à ce test ID, nous nous retrouvons dans l'application du test HIR, du moins dans sa composante cellulaire. Dès lors, celui-ci pourrait

être effectué non pas uniquement avec *Candida albicans* mais également avec *Tricophyton verrucosum*, *T. mentagrophytes* et *T. sarkisovii*.

5.2. Test intradermique (ID) des vaches Vac

Suite à la vaccination, les vaches développent une réaction ID systématiquement positive mais d'amplitude variable. La vaccination a donc permis de restimuler les défenses cellulaires.

Il est également intéressant de discuter le timing des vaccinations par rapport à la date de vêlage prévue. En effet, les vaches ont reçu leur injection vaccinale à une date fixe, indépendamment du stade de leur gestation. On remarque que les vaccinations ont été réalisées entre 6,25 et 8,25 mois de gestation. Cependant, aucun lien n'a pu être établi entre le stade de gestation et la taille de la réaction ID.

Il serait intéressant dans le cas d'une étude future d'avoir plusieurs animaux au même stade de gestation afin de pouvoir discuter les résultats obtenus.

5.3. Test intradermique (ID) des animaux atteints de teigne

Les 3 veaux teigneux de cette étude se sont révélés tous les trois positifs au test ID. Il est important de noter que les animaux avaient tous reçu le colostrum de leur propre mère élevée au sein d'exploitations où la teigne est endémique chez les veaux. Cette réaction était cependant variable. Cette variabilité pourrait être expliquée par le stade clinique des animaux. L'un était en phase active marquée par la présence de lésions suintantes et croûteuses (4838) et les 2 autres étaient en phase de guérison caractérisée par des zones d'alopécie circulaires sans autre lésion cutanée (4035 et 4815).

5.4. Transfert d'immunité par le biais du colostrum chez le veau

5.4.1. Transfert d'immunité colostrale chez le veau issu de vache Vac

Afin de pouvoir interpréter les résultats collectés dans cette étude, il est important que la période critique de la naissance du veau soit gérée correctement. En effet, la prise de colostrum du veau et la gestion de sa santé sont deux aspects importants afin de garantir un système immunitaire capable de réagir face à nos tests ID.

On a noté que les vaches de notre étude ont un colostrum de bonne qualité en quantité correcte afin d'assurer dans la majorité des cas un apport d'Ig suffisant au veau. Les résultats

de sa protection néonatale sont donc également le fruit d'une bonne absorption colostrale. Remarquons que le veau 1691 bénéficie d'une protection colostrale partielle mais presque totale : 54 g/L de PST par rapport aux 56 g/L de seuil.
Dès lors, il est très intéressant de mettre en relation les résultats des ID avec ce transfert d'immunité.

5.4.2. Transfert d'immunité cellulaire et test intradermique (ID) chez le veau Vac

Tout d'abord, il est nécessaire de discuter les résultats des tests ID réalisés sur les veaux 1668, 1670 et 1671. En effet, ces veaux sont nés rapidement suite à la seconde injection vaccinale de leur mère, soit 2, 3 et 4 semaines après cette dernière. Dès lors, il aurait été possible que leur mère n'ait pas eu le temps de produire un colostrum enrichi en cellules immunitaires ayant été stimulées par la vaccination. De ce fait, les tests ID de ces veaux se seraient révélés négatifs.
Or, le veau 1670 a réagi et le veau 1671 laisse planer le doute sur la zone injectée et contrôlée. Le veau 1670 aurait donc pu bénéficier d'un colostrum enrichi en cellules immunitaires ayant répondu à la vaccination. Dès lors, une question se présente : pourquoi les veaux 1668 et 1671 n'ont-ils pas présenté de réaction ID? Leur mère a peut-être eu besoin de plus de temps pour développer sa propre immunité et n'a donc pu enrichir son colostrum… On pourrait aussi supposer que le colostrum était bien enrichi en cellules immunitaires maternelles mais que celles-ci n'ont pu être absorbées.

Dès lors, dans le cas d'études futures, les dates de mise-bas devraient être connues avec nettement plus de précision afin d'éviter des naissances trop proches de la seconde injection vaccinale de la mère. En effet, 3 semaines de délai sont nécessaires, au minimum, afin d'enrichir un colostrum de manière correcte en cellules immunitaires, par extrapolation avec la production d'anticorps.

Ensuite, nous remarquons que les autres veaux issus de mères Vac ont majoritairement réagi lors de l'ID_1. Cependant, cette réponse reste faible pour certains d'entre eux, +1 mm en épaisseur de pli de peau et +2 mm en diamètre. Dès lors, une question importante est soulevée quant à savoir si cette réaction ID doit être considérée comme positive et résulter donc d'un transfert d'immunité cellulaire via le colostrum étant donné qu'ils n'auraient pas eu la possibilité de développer leur propre immunité à cet âge.

On ne pourrait exclure une réaction ID artéfactuelle plutôt liée au traumatisme de l'aiguille utilisée pour les injections ID. Or, les vaches Vac et C, qui n'ont pas réagi lors de l'ID_1, n'ont pas réagi à un traumatisme du à l'aiguille…
Dès lors, afin de pouvoir confirmer que cette réaction à l'ID est bien positive, nous pourrions envisager dans une étude ultérieure l'utilisation d'un placebo ou celle de thiomersal pour réaliser le test sur l'autre côté de l'encolure de l'animal testé. De plus, nous pourrions également disposer d'un système de contention optimal notamment pour les veaux afin de réaliser l'injection ID.

De plus, 2 veaux ont réagi de manière plus importante que les autres, le 1691 et le 1694 avec respectivement +3 mm et +4 mm en épaisseur de pli de peau et 8 et 15 mm de diamètre.
Cependant, n'oublions pas, comme décrit ci-dessus, de mettre cette information en relation avec le transfert d'immunité néonatale mesuré à 54 g/L de PST, pour le veau 1691. Dès lors, comment justifier que cet animal ait réagi à notre ID en présentant en plus de la douleur au site d'injection ?
Il faut noter que les veaux 1694 et 1686 ayant bénéficié des 2 meilleures protections colostrales sur base de leur taux de PST ont réagi de manière fort positive au test ID, comme stipulé précédemment.

En outre, il était important, via ce test ID, de mettre en évidence la persistance de réactivité positive et/ou un éventuel délai d'apparition des réactions ID positives chez les veaux.
Les réactions cutanées à l'ID_1 ont toutes été positives dès le troisième jour et ce, jusque la $8^{ème}$ semaine. On remarque que les veaux répondent toujours à l'ID_2 que celle-ci soit réalisée 5 jours, 11 jours ou 14 jours après l'ID_1. La réaction observée (ID_2) était au moins la même voire plus importante que lors de l'ID_1 sauf pour le veau 1694. Ceci met en doute la théorie, décrite dans le cas de la tuberculination, de la tolérance immunitaire selon laquelle un animal stimulé immunitairement par un test cutané devient réfractaire à toute stimulation ultérieure dans un délai de 6 semaines.
Cependant, ne pourrions-nous pas expliquer ces résultats par le fait que les injections ID réalisées avec 0,1mL de vaccin agissent un peu comme une vaccination, malgré ce faible volume injecté ? Cela expliquerait pourquoi nous visualisons majoritairement une stagnation voire une exacerbation de la réaction ID ?

5.4.3. Test intradermique (ID) chez les veaux C

Afin de s'assurer que les réactions observées sur les animaux soient bien positives, nous les avons mises en relation avec celles obtenues sur les animaux des 2 groupes contrôles, l'un en contact avec les vaches vaccinées (C1), l'autre pas (C2).

Trois veaux sur les 6 du groupe C1 n'ont pas réagi à l'ID_1. Les 3 autres veaux ont réagi positivement en développant une réaction cutanée. Le 1673, le 1695 et le 1698 présentaient donc une réaction que l'on ne peut s'expliquer à première vue. Cependant, il est important de remarquer que le veau 1695, de par son ordre de naissance, est un veau contrôle précédé par 2 veaux tests et suivi par 2 autres veaux tests. Il ne faut dès lors pas exclure que cet animal ait pu téter les mères des 4 autres veaux dès sa naissance et donc dès sa place dans l'étable 3. En effet, l'éleveur a confié avoir laissé les loges des veaux ouvertes dans cette étable. De ce fait, le veau 1695 a pu téter et ingérer le colostrum enrichi des autres mères. Ceci pourrait expliquer la réaction positive observée.

Cet enchainement de fait ne peut pas non plus être totalement exclu à propos du veau 1673.

Concernant le veau 1698, sa mère (7904) avait réagi à l'injection ID réalisée et ce, sans vaccination préalable. Dès lors, si la mère est naturellement réactive vis-à-vis de la teigne, on peut expliquer qu'elle a transmis sa protection à sa descendance via son colostrum. Dès lors, la réaction cutanée du veau est logique et cet animal est un « faux-contrôle ».

Suite à ces résultats et les interprétations possibles qui en découlaient, le groupe C2 a permis d'éclaircir certains points. En effet, depuis leur naissance jusqu'à la lecture du résultat de l'ID_1, ces veaux ont été maintenus seuls dans une loge avec leur mère. Dès lors, aucun d'eux n'a pu téter une autre mère, vaccinée ou non.

Cependant, les résultats observés ont été tout aussi surprenants. En effet, la vache 6319 était positive sans vaccination et pouvait donc éventuellement être naturellement réactive à l'encontre de la teigne. Son veau a présenté une réaction cutanée également positive, qui peut s'expliquer par l'immunité cellulaire transmise par sa mère.

A l'inverse, les trois autres mères n'ont présenté aucune réaction à l'ID. Cependant, 2 de leurs veaux ont présenté une ID positive. Or, nous avons exclu les risques de prise de lait sur d'autres mères. Dès lors, la justification de ces réactions positives reste très difficile…

Dès lors, il convient de réfléchir quant à l'immunité des animaux face à la teigne dans cet élevage. En effet, cliniquement, la teigne ne s'y est plus manifestée depuis plusieurs

années. Ceci permet d'expliquer que l'ensemble des vaches testées avant vaccination n'a pas réagi pas suite à l'ID. Il serait aisé de conclure que ces vaches ne disposent pas d'immunité vis-à-vis des antigènes présents dans l'injection vaccinale. Cependant, deux vaches C (6319 et 7904) ont réagi à l'ID_1.

Dès lors, nous pouvons discuter d'une éventuelle immunité présente au sein de l'élevage qui explique l'absence d'épisodes cliniques de teigne. Comme cela fait plusieurs années qu'aucun cas clinique n'a été constaté, il se peut que le système immunitaire des animaux n'ait pas été réactivé récemment face à ces pathogènes. Ceci permettrait d'expliquer que le test ID soit négatif pour la majorité des animaux.
On peut donc envisager que les animaux soient immunisés face à la teigne mais que les injections vaccinales aient été nécessaires pour la majorité d'entre eux afin qu'ils réagissent positivement au test. Les 2 seules vaches ayant réagi positivement à l'ID en dehors de toute vaccination ont été testées le 2 mars, soit plus tard dans la saison hivernale que pour les autres. De ce fait, ces vaches ont pu avoir la possibilité d'être réexposés à la teigne à cause de la promiscuité que la saison favorise. Il est donc à envisager que le champignon soit dans l'exploitation et évolue à bas bruit, sans symptôme clinique, car la résistance immunitaire du troupeau dans son ensemble est excellente vis-à-vis de ce parasite.

Cette hypothèse permettrait d'expliquer que certains veaux issus de mères négatives à l'ID et non vaccinées par la suite (appartenant donc au groupe C) réagissent au test ID ultérieurement. En effet, on peut envisager que les mères n'ayant pas réagi transmettent des cellules immunitaires contre la teigne à leur progéniture via leur colostrum.

De plus, nous pourrions discuter de la persistance de l'immunité des animaux face à ces pathogènes sans restimulation du système immunitaire régulièrement. Est-il possible que le système immunitaire « se mette en veilleuse » ? Si oui, combien de temps après une infestation naturelle ou une vaccination les vaches ne réagiront-elles plus au test ID ?

6. Conclusion et perspectives

L'étude de terrain réalisée ici ne permet aucunement d'infirmer le transfert d'immunité cellulaire d'origine colostrale chez le veau et laisse même entrevoir un rôle potentiel non négligeable pour ces cellules. Cela laisse présager des développements très intéressants quant aux rôles du colostrum pour la vaccination et la résistance à différentes maladies.

Grâce à ces conclusions intéressantes et prometteuses, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées notamment dans le cadre d'études futures.

Nous pourrions envisager de comparer les résultats que nous avons obtenus avec des veaux n'ayant reçu que du colostrum congelé, où l'immunité cellulaire est détruite par définition.

De plus, il serait envisageable de réaliser les injections ID via le Dermo-jet afin de faciliter la standardisation des injections mais aussi de permettre une moindre réaction comportementale de l'animal à l'injection.

En outre, d'autres tests peuvent être envisagés. Il serait intéressant de prélever, via une côte de melon, le site réactionnel après l'injection ID chez le veau.
Une histopathologie pourrait être réalisée sur une partie du prélèvement afin de mettre en évidence le type de cellules présentes au sein de la réaction. Nous pourrions également sur l'autre partie du prélèvement séparer les cellules afin de réaliser des tests génétiques afin de mettre en évidence si ces cellules appartiennent uniquement au veau ou au veau et à la mère.

Enfin, un suivi clinique des animaux dans le but de détecter la présence de teigne permettrait de mettre en relation ces résultats obtenus avec le résultat de l'ID et le type de colostrum que les animaux ont ingéré : frais de la propre mère ou non voire congelé.

7. Annexes

Tableau I : Facteurs influençant la qualité et la quantité de colostrum produit.

(Ravary *et al.*, 2006)

- Moment de la traite : la teneur en Ig est d'autant plus faible que la 1ère traite intervient tard après le vêlage. - Durée de tarissement : minimum > 30 jours - Perte de lait avant vêlage : provoque une forte diminution de la teneur en Ig à la mise-bas. Rang de lactation : la teneur en Ig plus élevée à partir de la 3° lactation Niveau de production : la teneur en Ig plus faible chez les laitières hautes productrices.	Etat sanitaire de la mère : diminution de la quantité et de la qualité du colostrum si mauvais état sanitaire Race : la teneur en Ig plus élevée chez les races allaitantes Césarienne : quantité de colostrum produite souvent faible. Température extérieure : une baisse de la teneur en Ig si température extérieure élevée.

Tableau II : Différence de composition entre le colostrum et le lait. (Ravary *et al.*, 2006)

Constituant	Colostrum (1ère traite)	Lait
Immunoglobulines (g/L), dont	60-120	
IgG1	50-80*	0,6-0,8
IgG2	2-3	0,02-0,03
IgA	3,5-4,5*	0,05-0,14
IgM	4-5*	0,05
Protéines (g/L)	80-140	30-35
Vitamine A (µg/L)	16	8
Calcium (g/kg)	2,6	1,3
Densité	1.060	1.032

* : données également renseignées par Reber *et al.*, 2005.

Tableau III : Proportion de cellules dans le colostrum en fonction des auteurs.

	Liebler-Tenorio *et al.*, 2002	Reber *et al.*, 2005	Reber *et al.*, 2008a	Hagiwara *et al.*, 2008	Corbesier *et al.*, 2005
Macrophages	23 %	40 – 50 %	50 %	> 30 %	35 – 42 %
Lymphocytes	68 %	22 – 25 %			4 – 28 %
Lymphocytes B	< 5 %	2,5 – 3,5 %			
Lymphocytes T		88 – 89 % des lymphocytes			
PMN					30 – 62 %
Cellules épithéliales					1 – 10 %

Tableau IV : Matériels et méthodes

Voici le tableau illustrant les matériels et méthodes utilisés dans cette expérimentation. Les vaches sont classées par date de vêlage afin de suivre l'ordre des naissances. On explique le groupe d'appartenance des vaches, leur date de naissance, leur numéro de vêlage. Ensuite, on y stipule si une injection ID_1 a été effectuée avant vaccination ou non. De plus, les dates d'injections vaccinales sont détaillées de même que le stade de gestation de l'animal au moment de la seconde injection. Concernant les veaux, on reprend leur date de naissance et leur sexe ainsi que leurs différents âges lors de leur prise de sang éventuelle, leur ID_1 et leur ID_2 possible.

Vaches	Groupes des vaches	Date de naissance	Numéro de vêlage	Date ID_1	Première injection vaccinale	Seconde injection vaccinale	Stade de gestation	Date ID_2	Date de vêlage	Numéro du veau	Sexe	Age du veau à la prise de sang (j)	Age du veau lors de l'ID_1 (j)	Age du veau lors de l'ID_2 (j)
0556	Vac	01/01/09	3	/	06/10/13	20/10/13	8M1S	17/11/13	12/11/13	1668	F	5	7	68
6340	Vac	10/02/10	2	28/09/13	20/10/13	03/11/13	8M2S	01/12/13	14/11/13	1670	M	5	3	66
6338	Vac	10/02/10	2	/	06/10/13	20/10/13	8M	17/11/13	15/11/13	1671	F	4	2	61
6363	C1	26/03/10	2	/	/	/	/	02/03/14	17/11/13	1673	M	/	63	/
6342	Vac	25/02/10	2	28/09/13	06/10/13	20/10/13	7M3S	17/11/13	29/11/13	1680	F	3	42	56
6330	C1	30/12/09	2	/	/	/	/	02/03/14	02/12/13	1682	M	/	48	/
6355	Vac	18/03/10	2	/	06/10/13	20/10/13	7M1S	17/11/13	12/12/13	1686	M	3	29	/
6352	C1	30/12/09	2	/	/	/	/	02/03/14	15/12/13	1687	M	/	35	/
6309	C1	04/11/09	2	/	/	/	/	02/03/14	16/12/13	1688	F	/	34	/
6304	Vac	17/10/09	2	28/09/13	06/10/13	20/10/13	6M3S	17/11/13	25/12/13	1690	M	4	14	/
7364	Vac	29/10/06	5	/	06/10/13	20/10/13	6M3S	17/11/13	25/12/13	1691	M	4	14	/
6335	Vac	08/02/10	2	/	06/10/13	20/10/13	6M2S	17/11/13	01/01/14	1693	F	3	20	31
6368	Vac	01/04/10	2	/	06/10/13	20/10/13	6M2S	17/11/13	03/01/14	1694	M	5	7	21
6400	C1	31/01/11	1	/	/	/	/	02/03/14	05/01/14	1695	F	/	14	/
6369	Vac	02/04/10	2	/	06/10/13	20/10/13	6M1S	17/11/13	08/01/14	1696	M	4	2	7
6326	Vac	20/11/09	2	28/09/13	20/10/13	03/11/13	6M1S	01/12/13	12/01/14	1697	M	3	3	/
7904	C1	15/02/04	8	/	/	/	/	02/03/14	17/01/14	1698	F	/	2	/
0438	C2	01/11/07	4	/	/	/	/	02/03/14	02/02/14	1699	M	/	28	/
0510	C2	10/03/08	4	/	/	/	/	02/03/14	03/02/14	1700	F	/	27	/
6319	C2	05/11/09	2	/	/	/	/	02/03/14	27/02/14	3441	M	/	3	/
7312	C2	27/12/05	6	/	/	/	/	02/03/14	28/02/14	3443	F	/	2	/

Tableau V : Résultats des ID des mères et des veaux

Ce tableau illustre d'une part les résultats des injections intradermiques des mères. Celles en orange sont des ID_2 post-vaccinales. Celles en bleu sont des ID_1 réalisées sur animaux contrôles. Il stipule également si l'intradermique était ante partum (AP) ou post-partum (PP).

Ce tableau permet également de visualiser les résultats des différentes ID réalisées sur les veaux.

Vaches	Groupes des vaches	Moment de l'ID par rapport au vêlage	Pli de peau normal (mm)	Pli de peau avec réaction (mm)	Augmentation due à la réaction (mm)	Diamètre (mm)	Veaux	ID1 : pli de peau normal (mm)	ID1 : pli de peau avec réaction (mm)	ID1 : Augmentation due à la réaction (mm)	ID1 : Diamètre (mm)	ID2 : pli de peau normal (mm)	ID2 : pli de peau avec réaction (mm)	ID2 : augmentation due à la réaction (mm)	ID2 : Diamètre (mm)
0556	Vac	5j PP	8	10	+ 2	3	1668	-	-	-	-	-	-	-	-
6340	Vac	17j PP	6	11	+ 5	8	1670	/	/	/	/	5	9	+ 4	20x10
6338	Vac	2j PP	8	10	+ 2	3	1671	/	/	/	/	/	Douteux	Douteux	Douteux
6363	C1	105j PP	-	-	-	-	1673	5	8	+ 3	5	/	/	/	/
6342	Vac	12j AP	7	10	+ 3	4	1680	6	7	+ 1	2	6	8	+ 2	4
6330	C1	84j PP	-	-	-	-	1682	-	-	-	-	/	/	/	/
6355	Vac	25j AP	8	17	+ 9	20x10	1686	8	10	+ 2	3	/	/	/	/
6352	C1	76j PP	-	-	-	-	1687	-	-	-	-	/	/	/	/
6309	C1	75j PP	-	-	-	-	1688	-	-	-	-	/	/	/	/
6304	Vac	38j AP	7	11	+ 4	6	1690	3	4	+ 1	4,5	/	/	/	/
7364	Vac	38j AP	8	11	+ 3	7	1691	3	6	+ 3	8	/	/	/	/
6335	Vac	45j AP	7	14	+ 7	12	1693	3	4	+ 1	2	4	5	+ 1	2
6368	Vac	47j AP	7	10	+ 3	5	1694	8	13	+ 5	15	8	-	-	-
6400	C1	56j PP	-	-	-	-	1695	6	12	+ 6	25x14	/	/	/	/
6369	Vac	52j AP	7	11	+ 4	4	1696	6	7	+1	2	5	6	+ 1	2
6326	Vac	42j AP	7	9	+ 2	3	1697	3	4	+1	2	/	/	/	/
7904	C1	45j PP	3	8	+ 5	9	1698	5	6	+1	2	/	/	/	/
0438	C2	28j PP	-	-	-	-	1699	3	5	+2	6	/	/	/	/
0510	C2	27j PP	-	-	-	-	1700	-	-	-	-	/	/	/	/
6319	C2	3j PP	3	6	+ 3	7	3441	2	5	+ 3	6	/	/	/	/
7312	C2	2j PP	-	-	-	-	3443	2	4	+ 2	5	/	/	/	/

Légende : / = test non effectué ; - = test négatif

Tableau VI : Résultats de la prise de colostrum et de la prise de sang.

Ce tableau illustre les différents résultats d'analyses récoltés lors de la mesure du poids du colostrum des vaches ainsi que le taux de PTS des différents veaux. De plus, il présente la quantité de colostrum ingérée par veau en unité de temps.

Vaches	Poids du colostrum (g/L)	Veaux	Colostrum ingéré par unité de temps	Résultat de la prise de sang (g/L)
0556	125	1668	3,5 L en 10h	65
6340	112	1670	5,5 L en 20h	56
6338	105	1671	7 L en 20h	65
6342	112	1680	1,75 L en 13h	60
6355	>125	1686	4 L en 10h	70
6304	110	1690	3,5 L en 14h	64
7364	>125	1691	4,5 L en 24h	54
6335	75	1693	Inconnu	62
6368	87	1694	5 L en 20h	69
6369	100	1696	4 L en 10h	60
6326	>125	1697	3 L en 8h	58

Figure 1 : Illustration du passage des lymphocytes du tractus intestinal vers les tissus du nouveau-né. (Corbesier *et al.*, 2005)

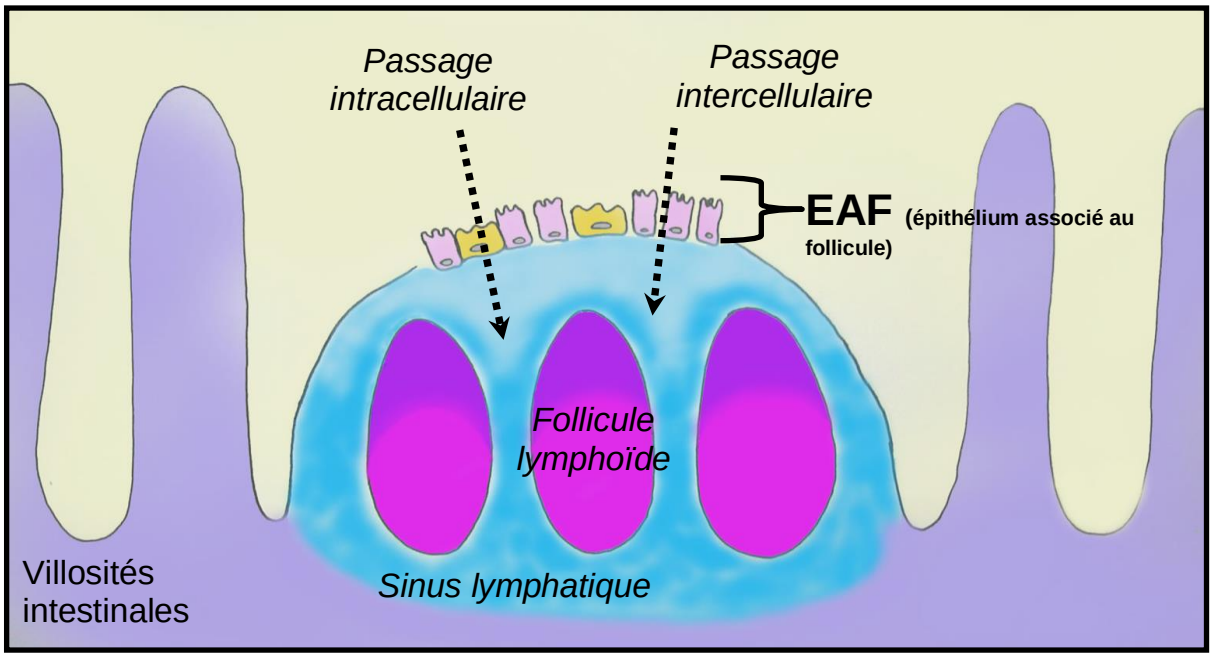
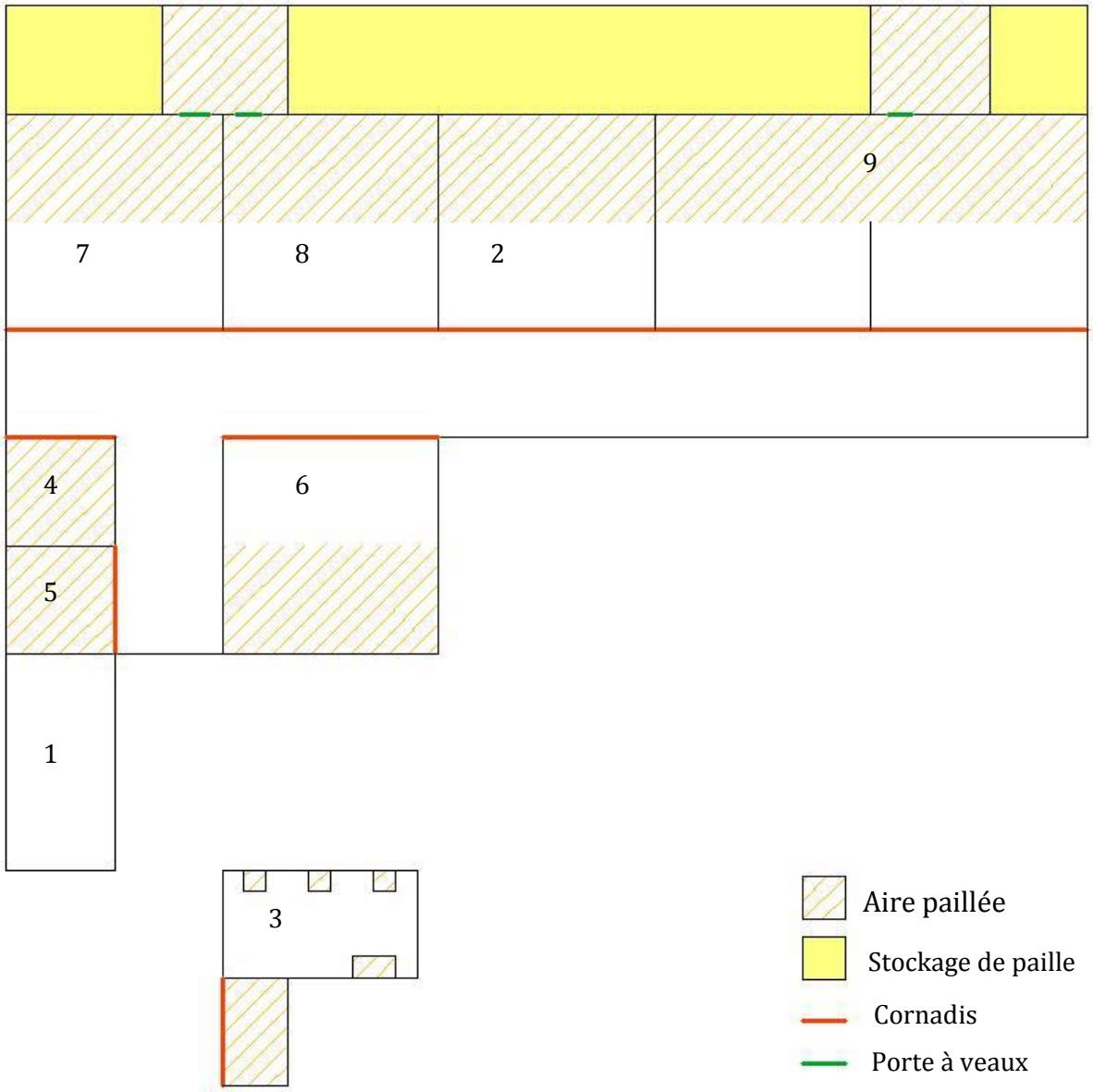


Figure 2 : Plan de l'exploitation



Annexe 1 : Feuille de note à remplir par l'éleveur lors de la naissance d'un veau

Etude sur le terrain.

*Numéro d'identification de la vache :

Date 1° injection :
Date 2° injection :

Date d'injection intradermique:

*Date de vêlage :

*Numéro d'indentification du veau :

*Poids du veau à la naissance :

*Quantité de colostrum bue à telle heure :

L à h
L à h
L à h
L à h

! Minimum 3L au total et dans l'IDEAL : 10 à 15% du poids vif
A donner sur 24h et au biberon !

Poursuivre ensuite l'allaitement au pis.

8. Bibliographie

Arrêté du 11 juillet 1990 fixant les mesures techniques relatives à la recherche de la tuberculose bovine en vue des opérations de rédhibition (en ligne) (version consolidée le 24 août 1990), adresse URL : http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000006076396. Consulté le 8 mai 2013.

BLANCO J.L., GARCIA M.E., Immune response to fungal infections, *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2008, **125**, 47-70.

BRITTON W., L'hypersensibilité de type IV. In : MALE D., BROSTOFF J., ROTH D. B., ROITT I., Immunologie, 7ième édition, Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, 2007, pp 527-542.

CORBESIER C., CORNELLE B., COTE D., COTTIN E., CRETENET S., CRUYPENNINCK V., ROLLIN F., L'immunité cellulaire d'origine colostrale chez le veau : mythe ou réalité ?, Journée d'étude de la Société Belge de Buiatrie, Seneffe, 15 octobre 2005.

DONOVAN D.C., REBER A.J., GABBARD J.D., ACEVES-AVILA M., GALLAND K.L., HOLBERT K.A., ELY L.O., HURLEY D.J., Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves, *Am. J. Vet. Res.*, 2007, **68**, 778-782.

GILLET L., Cours de vaccinologie vétérinaire et immunopathologie destiné aux étudiants de GMV2 de la Faculté de médecine vétérinaire de Liège, 2012-2013.

HAGIWARA K., DOMI M., ANDO J., Bovine colostral CD8-positive cells are potent IFN-γ-producing cells, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2008, **124**, 93-98.

Le diagnostic de la tuberculose bovine (en ligne) (2002), adresse URL : http://www.afsca.be/santeanimale/tuberculose/_documents/2013_04_24_DIAGNOSTIEK_TUBERCULOSE_V2_FR.pdf. Consulté le 8 mai 2013.

LIEBLER-TENORIO E.M., RIEDEL-CASPARI G., POHLENZ J.F., Uptake of colostral leukocytes in the intestinal tract of newborn calves, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2002, **85**, 33-40.

NAYLOR J.M., Colostral immunity in the calf and the foal, *Vet Clin North Am, Large Anim Pract*, 1979, **1**, 331-361.

QUIGLEY J., Calfnote #54 : Insulin in colostrum (en ligne) (2001), adresse URL : http://www.calfnotes.com/pdffiles/CN054.pdf. Consulté le 8 mai 2013.

RAVARY B., SATTLER N., Néonatalogie du veau, Les Editions du Point Vétérinaire, Rueil-Malmaison, 2006, 265p.

REBER A.J., HIPPEN A.R., HURLEY D.J., Effects of the ingestion of whole colostrum or cell-free colostrum on the capacity of leukocytes on newborn calves to stimulate or respond in one-way mixed leukocyte cultures, *Am. J. Vet. Res.*, 2005, **66**, 1854-1860.

REBER A.J., LOCKWOOD A., HIPPEN A.R., HURLEY D.J., Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2006, **109**, 139-150.

REBER A.J., DONOVAN D.C., GABBARD J., GALLAND K., ACEVES-AVILA M., HOLBERT K.A., MARSHALL L., HURLEY D.J., Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system I. Effects on monocyte lineage cells, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2008a, **123**, 186-196.

REBER A.J., DONOVAN D.C., GABBARD J., GALLAND K., ACEVES-AVILA M., HOLBERT K.A., MARSHALL L., HURLEY D.J., Transfer of maternal colostral leukocytes promotes development of the neonatal immune system Part II. Effects on neonatal lymphocytes, *Vet. Immunol. Immunopathol*, 2008b, **123**, 305-313.

RIEDEL-CASPARI G., SCHMIDT F.-W., The influence of colostral leukocytes on the immune system of the neonatal calf I. Effects on lymphocyte responses, *Dtsch. tierärztl. Wschr*, 1991, **98**, 102-107.

ROLLIN F., Echec de transfert de l'immunité colostrale. In : Troubles et management du nouveau-né chez les ruminants, Editions de l'office des cours, 2003-2004, ULg p37.

THOMPSON-CRISPY K.A., MALLARD B., Type 1 and type 2 immune response profiles of commercial dairy cows in 4 regions across Canada, 2012, *Can. J. Vet. Res.*, **76**, 120-128.

WAGTER-LESPERANCE L., THOMPSON-CRISPY K.A., MALLARD B., La technologie haute réponse immunitaire (HIR) : un outil de sélection et de régie de la santé des troupeaux laitiers. In : 36^{e} symposium sur les bovins laitiers : agir pour l'avenir, 1er décembre 2012, Drummondville, Canada.