

RÉSUMÉ

RECHERCHES SUR L'UTILISATION DU PLASMA HYPERIMMUN DANS LE TRAITEMENT DES PATHOLOGIES SPÉCIFIQUES ET DES DÉFICIENCIES IMMUNOLOGIQUES CHEZ LES VEAUX

Doctorant : POPESCU Dragoş Adrian

Directeur scientifique : Prof. Univ. Dr. CODREANU Mario Darius

MOTS-CLÉS : colostrum, plasma hyperimmun, immunodéficiencia, diarrhée néonatale, hyperimmunisation

Le mémoire de doctorat intitulé "**Recherches sur l'utilisation du plasma hyperimmun dans le traitement des pathologies spécifiques et des déficits immunologiques chez les veaux**" est rédigé et structuré, selon les normes en vigueur au moment de sa rédaction, en deux parties principales : la première partie, intitulée "Étude bibliographique", qui comprend 47 pages, et la deuxième partie, intitulée "Recherches personnelles", avec un total de 91 pages. Le mémoire de doctorat comprend un total de 151 pages et est illustré par 14 tableaux et 35 figures. Les informations consultées dans la littérature spécialisée, dans le cadre de la première partie de ce travail, ont été utilisées pour interpréter les résultats obtenus tout au long de l'étude.

La première partie, appelée "**Étude bibliographique**", est composée de 3 chapitres vastes décrivant de manière concise le statut immunologique de la mère et du fœtus, à la fois au début de la gestation et tout au long de celle-ci, l'interaction entre eux du point de vue immunologique et l'impact de la vaccination de la mère sur l'immunité du veau. Également dans la partie de l'étude bibliographique de ce mémoire sont mises en évidence des notions sur le statut immunologique du veau nouveau-né et la nécessité de consommer du colostrum de qualité pour moduler le développement de son système immunitaire. De plus, des informations sont synthétisées sur l'évolution des pathologies néonatales des veaux, avec un tropisme pour le système respiratoire ou digestif, ainsi que sur les moyens de corriger le statut immunitaire des nouveau-nés de cette espèce.

La deuxième partie, représentée par "**Recherches personnelles**", est concentrée en 8 chapitres dans lesquels sont centralisés les résultats des recherches menées tout au long de la période doctorale, le dernier chapitre étant celui des conclusions et recommandations finales des recherches menées. Les chapitres de cette partie sont divisés en sous-chapitres contenant des informations sur les lots expérimentaux, les matériaux et méthodes utilisés, la description et l'interprétation des résultats obtenus, ainsi que les conclusions partielles tirées de chaque étude réalisée.

Le chapitre IV décrit "**L'objectif et les objectifs de la recherche**", qui sont définis autour de la nécessité d'une solution alternative de thérapie pour les pathologies néonatales des veaux, d'une part, et du désir d'obtenir des produits sanguins hyperimmuns, avec des propriétés d'enrichissement du statut immunitaire précaire des veaux nouveau-nés, d'autre part. À la base de la réalisation de cet objectif, il y a eu une série d'objectifs qui ont impliqué l'obtention de plasma hyperimmun, suivie de l'hyperimmunisation des vaches indemnes de maladies infectieuses et son administration thérapeutique aux veaux présentant un syndrome diarrhéique.

Le chapitre V vise "**L'évaluation de la qualité du colostrum chez la vache**" et implique la quantification du titre d'anticorps colostraux pour déterminer la qualité du colostrum dans les fermes étudiées. L'étude a été menée sur un échantillon de 20 vaches laitières, appartenant à deux races différentes, Holstein

(n=10) et Bălțată Românească cu Negru (n=10), comprenant à la fois des primipares et des multipares. Les vaches sont issues d'exploitations agricoles du județ Ilfov, situé dans le sud-est de la Roumanie.

Le colostrum est la sécrétion lactée des femelles dans les premiers jours suivant la mise bas, riche en immunoglobulines et autres constituants avec un rôle immunomodulateur, et sa qualité est dictée par la concentration en immunoglobulines qu'il contient. Dans ce chapitre, la concentration en gammaglobulines a été quantifiée par méthode spectrophotométrique, avec l'obtention de résultats très satisfaisants en termes de qualité du colostrum étudié. Parmi les échantillons testés (n=20), 19 présentaient des concentrations élevées de ces molécules, indiquant un colostrum de bonne qualité, une seule femelle enregistrant des valeurs d'immunoglobulines dans le colostrum inférieures aux limites admises.

Le chapitre VI décrit **"L'évaluation des taureaux pour la détection, par PCR, des affections infectieuses et parasitaires"** et fournit des informations sur le statut épidémiologique des femelles de l'exploitation. L'importance de l'identification des animaux porteurs d'agents pathogènes et de leur élimination du lot expérimental découle de leur influence sur l'étude. Les animaux infectés, qu'ils soient en état de latence ou présentant des signes cliniques, ont des effets négatifs sur le titre d'anticorps post-vaccinaux ou influencent le résultat final de l'étude en raison des réactions post-infection. L'utilisation des tests PCR a été préférée aux méthodes traditionnelles pour obtenir des résultats plus concluants et en raison du temps de réalisation, qui est réduit grâce à la possibilité de travailler sur un échantillon plus large simultanément. Les résultats concentrés dans ce chapitre prévoient l'exclusion d'une seule femelle du lot étudié, qui a été testée positive pour le virus de l'herpès bovin de type 1. Après l'exclusion de la vache porteuse, l'échantillon de ruminants sur lequel l'étude a été menée comprenait 19 femelles.

Le chapitre VII, intitulé **"Hyperimmunisation des vaches dans la dernière partie de la gestation"**, décrit les étapes de sélection des animaux soumis à l'immunisation répétée et le protocole utilisé dans cette étude pour l'hyperimmunisation des animaux gestants. À cet effet, des femelles en bonne santé (n=19) sont sélectionnées après des tests de dépistage et un examen clinique, et sont vaccinées contre les pathologies les plus courantes. Le vaccin utilisé est le Bovilis Rotavec Corona, un vaccin polyvalent contenant une souche de Rotavirus bovin inactivé, la souche UK-Compton, le sérotype G6 P5, le Coronavirus bovin inactivé, la souche Mebus, et une souche d'E. coli F5 (K99) agglutinogène, conformément à la notice du fabricant. Il contient également de l'huile minérale et de l'hydroxyde d'aluminium en tant qu'adjuvants. Le protocole établi dans ce cas prévoit la vaccination des mères avec 3 doses de vaccin, à intervalles de 2 semaines, la première étant réalisée vers 220-235 jours de gestation. L'objectif de la vaccination triple du cheptel bovin soumis à l'immunisation était d'augmenter le titre d'anticorps contre les agents pathogènes les plus fréquents impliqués dans la diarrhée néonatale des veaux. Les résultats de quantification indiquent le succès de l'hyperimmunisation des vaches.

Le chapitre VIII, intitulé **"Évaluation du niveau sérique d'immunoglobulines chez les vaches hyperimmunisées"**, vise à quantifier la quantité d'immunoglobulines sériques chez les vaches soumises au protocole d'hyperimmunisation. Pour cette étape, il a été nécessaire de prélever des échantillons de sang des 19 femelles incluses dans l'étude et de les traiter à l'aide des kits Bovine IgG ELISA utilisés dans cette étude. L'augmentation de 65 % du titre d'anticorps dans le sérum des vaches immunisées dans la dernière partie de la gestation, par rapport à la quantité d'immunoglobulines présente dans le sérum avant la première vaccination, confirme que l'immunisation des femelles pendant la gestation a des effets positifs sur le titre d'anticorps.

Le chapitre IX décrit le cadre et les étapes nécessaires à **"l'obtention de produits sanguins hyperimmuns chez la vache"**. Les produits sanguins obtenus comprennent du plasma hyperimmun et un concentré érythrocytaire, séparés à partir des unités sanguines prélevées sur les vaches soumises à l'hyperimmunisation. Dans la première étape, les unités sanguines prélevées sur les vaches indemnes ont été soumises à un processus de centrifugation, suivi de la séparation des deux produits, facilitée par un expresso plasma semi-automatique, entraînant finalement la ségrégation du concentré de plasma et du concentré érythrocytaire. Chaque unité sanguine avait un poids variable, entre 480 et 650 grammes, et produisait du

plasma hyperimmun à hauteur de 63 à 64 %, le reste étant constitué de concentré érythrocytaire. Deux unités sanguines ont été obtenues auprès de chaque femelle.

La recommandation de plasma hyperimmun pour les pathologies néonatales constitue un soutien dans l'instauration de la thérapie chez les espèces dont le placenta ne permet pas le passage des anticorps de la mère au fœtus, ou lorsque, en l'absence de consommation de colostrum de qualité, une déficience de la défense immunitaire survient. L'applicabilité de cette thérapie en tant qu'alternative aux antibiotiques suscite un intérêt croissant, étant donné le rythme alarmant de l'émergence de la résistance bactérienne aux substances antimicrobiennes. De plus, l'administration de plasma hyperimmun chez les veaux présentant un faible titre d'anticorps post-colostraux favorise la défense de l'organisme contre les agents pathogènes environnementaux.

Le dernier chapitre d'étude était "**Évaluation de l'efficacité des sous-produits sanguins hyperimmuns utilisés chez les veaux souffrant de troubles digestifs**", et il représente la partie la plus volumineuse de cette thèse. Les pathologies digestives néonatales des veaux sont une cause majeure de pertes économiques dans le secteur bovin, en raison du taux élevé de morbidité et de mortalité dans les premières semaines suivant la naissance. La diarrhée néonatale, qui survient dans les 2 à 4 premiers jours de vie du veau, est souvent causée uniquement par *E. coli* (K99), tandis que entre 5 et 21 jours, interviennent le rotavirus, le coronavirus et *Cryptosporidium* spp., qui sont également responsables de son apparition.

La thérapie de première intention pour traiter le syndrome diarrhéique chez les veaux est axée sur l'antibiothérapie et la fluidothérapie. L'augmentation alarmante de la résistance antimicrobienne stimule la recherche de solutions alternatives à ce type de médicaments, et cet objectif est à l'origine de cette étude. Avant l'administration intraveineuse du plasma hyperimmun, des échantillons de selles ont été prélevés sur les veaux pour confirmer le diagnostic de diarrhée d'origine infectieuse ou parasitaire. Le diagnostic étiologique a été réalisé à l'aide de kits ELISA, tous les veaux du lot de recherche étant positifs pour au moins un agent pathogène recherché. Après la sélection des veaux pour le lot d'étude, le plasma a été transfusé par administration intraveineuse dans la veine jugulaire, chaque animal étant surveillé en cas de réaction allergique.

Pour mettre en évidence les effets de l'administration du plasma hyperimmun, deux lots de veaux ont été formés, un témoin traité avec des antibiotiques (n=10) et le lot expérimental (n=20), les veaux de ce dernier étant exposés à la transfusion du plasma hyperimmun. Le sang a été prélevé pour quantifier le titre d'anticorps avant toute forme de thérapie, à 1 heure et à 24 heures après la transfusion du plasma, et à 48 et 72 heures après l'administration des antibiotiques.

Les résultats de l'étude ont démontré l'efficacité de la transfusion de plasma hyperimmun, le titre sérique d'anticorps chez les veaux ayant reçu ce produit hyperimmun étant deux fois plus élevé que chez les veaux du lot témoin ayant reçu des antibiotiques. De plus, l'augmentation de la concentration en anticorps s'est produite instantanément, en seulement une heure après l'administration du produit hyperimmun, la concentration circulante étant 9,5 fois plus élevée qu'avant l'administration. En ce qui concerne l'évolution clinique de la maladie, celle-ci a été plus courte chez les patients ayant reçu du plasma, par rapport à ceux traités avec des antibiotiques. De plus, le taux de survie était plus élevé chez les veaux du lot expérimental, de 98 %, contre seulement 50 % pour ceux du lot témoin, la moitié d'entre eux ne survivant pas à la diarrhée.

Dans le chapitre XI, un ensemble de **conclusions et de recommandations** a été formulé à partir des recherches menées dans le cadre de cette thèse de doctorat. De plus, les résultats de cette thèse de doctorat ont été publiés dans des articles indexés dans des bases de données internationales.

Dans les références bibliographiques, un nombre de 287 titres de la littérature internationale et nationale sont répertoriés, dont 38 publiés avant l'an 2000, 50 entre les années 2000-2010, et le reste des recherches effectuées après l'an 2010 jusqu'au moment de la rédaction de la thèse. Sur le total des titres cités, 20 sont des livres spécialisés et 267 sont des articles de revues prestigieuses.