

## **ECOLE DOCTORALE : BIOLOGIE SANTE NANTES ANGERS**

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur d'Oniris  
Sous le label de l'Université de Nantes Angers Le Mans  
Discipline : Biologie, Médecine et Santé

**Soutenue le 14 décembre 2011**

**Edouard TIMSIT**

***BASES POUR RATIONALISER LE CHOIX D'UNE STRATEGIE  
DE TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE DES BRONCHOPNEUMONIES  
INFECTIEUSES DES BOVINS NOUVELLEMENT MIS EN PLACE  
DANS UN ATELIER D'ENGRAISSEMENT***

Directeur de thèse :

**M. Henri SEEGERS, Professeur, Oniris Nantes**

Rapporteurs :

**M. François SCHELCHER, Professeur, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**  
**M. Allen ROUSSEL, Professeur, College of Veterinary Medicine and Biomedical  
Sciences Texas A&M University**

Membres du jury :

**M. Sébastien ASSIE, Maître de conférences, Oniris Nantes**  
**Mme. Dominique LE GRAND, Maître de conférences, Vet Agro Sup Lyon**  
**Mme. Birgit MAKOSCHEY, Professeur associé, Université de Hanovre**  
**Mme. Mireille MEYLAN, Professeur, Université de Berne**  
**M. Henri SEEGERS, Professeur, Oniris Nantes**



# Remerciements

Cette thèse est l'aboutissement de 5 années d'un programme cumulé Thèse d'Université et Résidanat ECBHM pendant lesquelles j'ai eu la chance de rencontrer, d'être encadré et soutenu par des personnes extraordinaires. Si j'ai réussi, d'une part, à rédiger et à soutenir cette thèse et, d'autre part, à obtenir le titre de diplomate de l'European College of Bovine Health Management en juillet 2011, c'est grâce à eux.

Je souhaite tout d'abord remercier Cécile, la femme qui partage ma vie depuis maintenant 10 ans. Merci pour ton amour, ton soutien infailible, tes encouragements, tes commentaires constructifs, tes traductions français-anglais multiples et ta patience durant ces 5 dernières années et les 40 prochaines à venir (je prends un peu d'avance, la thèse n'est que le commencement dans la vie d'un enseignant-chercheur !)

Merci aussi à mes encadrants : Henri Seegers (directeur de thèse), Nathalie Bareille (co-encadrant de thèse) et Sébastien Assié (co-encadrant de thèse). Merci Henri pour ta confiance, tes conseils, ton soutien, tes fameux « bofs » dans la marge, tes « bonjour docteur », etc. Même si je ne comprenais que 90% de nos échanges (le langage « Seegersien » n'étant pas toujours facile à décrypter !), tu as toujours su m'aiguiller dans la bonne direction et améliorer mon travail. Merci Nathalie, sans toi je n'aurais jamais débuté mon programme Thèse-Résidanat. Ta disponibilité, ta confiance, tes encouragements, ta gentillesse et ton soutien m'ont permis de réussir. Merci Sébastien (dit « Babanou » ou encore le « taurillon furieux du Tarn »), en 5 ans tu es passé du statut d'encadrant à celui d'Ami. Tu m'as appris comment écrire un papier, comment élaborer un protocole expérimental, comment établir un diagnostic, etc. Tu as toujours été là pour moi (soirées et weekends inclus, un grand merci aussi à Sophie et Elisa pour avoir partagé leur mari et père respectif). Babanou, je n'oublierai jamais nos innombrables heures de travail partagées, nos soirées pizzas-articles-thèses, nos déjeuners à la « Brasserie » où je savais pertinemment que j'allais encore me faire rouler (« T'inquiètes pas, j'ai déjà fait des expés sur des veaux à Toulouse. Tu verras, c'est facile ! ») ou encore nos échappées à Liège et à Nantes. J'espère que l'on restera proche et que l'on aura encore de nombreuses occasions de travailler ensemble.

Merci aux membres de mon comité de thèse, Gilles Meyer (ENVT, Toulouse), Sabine Riffault (INRA, Jouy en Josas), Mireille Meylan (Vetsuisse faculté, Berne) et Alain Bousquet Melou (ENVT, Toulouse) pour leurs conseils et suggestions qui ont orienté de manière constructive ma thèse.

Merci aux membres de mon jury de thèse, Allen J. Roussel (Texas A&M, le plus français des américains), François Schelcher (ENVT, Toulouse), Mireille Meylan (Vetsuisse faculté, Berne), Dominique Legrand (VetAgro Sup, Lyon) et Birgit Makoschey (MSD Animal Health, Boxmeer) d'avoir accepté de siéger à ma soutenance de thèse. Cette soutenance fut un moment inoubliable grâce à vous.

Merci aux buiatres de la MAE : Raphaël Guatteo, Nora Cesbron et Alain Douart. Merci Raphaël, tes conseils et ton soutien tout au long de ma formation à ONIRIS ont été décisifs. Tu as été un exemple pour moi quant à l'implication, la capacité de travail et la productivité. Merci Nora, ton sourire, ta bonne humeur et tes conseils ont su me remettre d'aplombs plus d'une fois durant ces 5 dernières années. Raphaël et Nora, vous êtes devenus des amis et j'espère ne jamais vous perdre de vue (même si je m'expatrie en Amérique du Nord !). Merci Alain pour ta sympathie et tes conseils avisés de buiatre expérimenté.

Merci aux techniciennes de la MAE : Françoise Leray, Emmanuelle Blandin et Thérèse Guyot. Vos connaissances et compétences en bactériologie, sérologie, etc. ont été essentielles au bon déroulement de ma thèse. Votre bonne humeur et votre humour ont égayé mes nombreuses heures passées près des paillasse de MAE.

Merci aux secrétaires et techniciens de l'UMR BioEpAR : Evelyne Fâche, Michel Leroux, Jean-Yves Audiart, Cécile Barré, Sylvie Martin et Juliette Bordot. Un grand merci Eve pour ton support logistique. Ton efficacité et ta connaissance des méandres administratifs au sein d'ONIRIS ont plus d'une fois rattrapé ma fâcheuse tendance à tout faire au dernier moment. Un grand merci aussi à Michel (dit « Michou ») pour les nombreux articles scientifiques qu'il a su me dégouter. Enfin, j'aimerais aussi remercier Thomas Bienvenu (ex-membre de l'UMR) pour les nombreux sauvetages *in-extremis* de mon PC et ses aides précieuses dans ce monde particulier qu'est l'informatique.

Merci aussi à tous les autres membres de l'unité BioEpAR pour leurs sympathies et leurs aides. Merci tout particulièrement à Ségolène Calvez pour ses nombreux conseils en biologie moléculaire et à Anne Lehebel pour ses nombreuses analyses statistiques.

Merci aux nombreux ancien-thésards de BioEpAR et, plus particulièrement, Simon Nusinovici, Aurélie Courcoul, Clara Marcé, Anne Relun et Maud Charron pour les nombreuses heures passées dans le même bureau (les « Fanstastic Four » du G4 = SN, AC, CM et ET), en voitures (MC) ou lors de déjeuner ou de diner (SN, AC, CM, AR).

Merci à René Quiniou de l'INRIA de Rennes pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses connaissances/compétences sur l'analyse du signal. Sans René, l'analyse et l'interprétation des données des thermo-bolus intra-ruminaux n'auraient pas été possibles.

Merci à Eric Le Drean (ISAE) et Evelyne Michel (ISAE) pour leurs connaissances et compétences en virologie et bactériologie et leurs disponibilité et gentillesse.

Merci à MSD santé animal pour leur support financier et technique. Merci tout particulièrement à Pierre-Robert Cloet (ancien Directeur Technique, France), Stéphanie Coupel (ancienne Responsable Marketing Nuflor, France), Jean Lecourt (ancien Directeur BU Ruminants, France), Christophe Maisonneuve (Directeur général, France), Francis Adriens (ancien Responsable Marketing Lung Health Global, USA) et Bertrand Ridremont (Directeur Technique, France).

Enfin, je souhaite remercier ma famille : ma mère, Isabelle, qui m'a toujours aimé, soutenu et encouragé, mon père Jacques et sa femme Theresa, qui a relu et corrigé l'ensemble de mes articles scientifiques avant soumission et mes sœurs, Laura, Juliette, Adeline et Jeanne. Je remercie aussi Fanny et Clément Marhuenda pour leur amitié indéfectible pendant ces 5 dernières années et Jean-Marie Nicol et sa femme Françoise qui font désormais partie de ma vie.



# Valorisation des travaux de thèse

## • Publications dans des revues internationales à comité de lecture

1. **Timsit E.**, Assié S., Quiniou R., Seegers H., Bareille N. 2010. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. *The Veterinary Journal* 190: 136-142.
2. **Timsit E.**, Bareille N., Seegers H., Lehebel A., Assié S. 2011. Fever episodes without visually apparent clinical signs in newly-received beef bulls at fattening operation: occurrence, duration and impact on performance. *Journal of Animal Science* 89: 4272-4280.
3. **Timsit E.**, Christensen H., Bareille N., Seegers H., Bisgaard M., Assié S. Transmission dynamics of *Mannheimia haemolytica* in newly-received beef bulls at fattening operations. *Veterinary Microbiology. En revision.*
4. **Timsit E.**, Arcangioli M.A., Bareille N., Seegers H., Assié S. Molecular epidemiology of *Mycoplasma bovis* during bovine respiratory disease outbreaks in newly-received beef bulls at fattening operations. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. En cours de soumission.*

## • Publications dans des revues françaises à comité de lecture

1. Assié S., **Timsit E.**, Bareille N. 2009. Métaphylaxie et antibioprévention lors de maladies respiratoires des jeunes bovins élevés en lots. *Nouveau Praticien Vétérinaire : Elevages et Santé* 11, 29-34.
2. Assié S., **Timsit E.**, Bareille N. 2008. Virus respiratoire syncytial bovin : données épidémiologiques, application au diagnostic et à la vaccination. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires - Hors Série « Hors Série Viroses 2008»*, 93-98.
3. Bareille N., **Timsit E.**, Assié S. 2008. Conséquences économiques des bronchopneumonies infectieuses bovines. *La Dépêche Vétérinaire* 112, 3-5.
4. Gesché E., **Timsit E.**, Schmitt–Van de Leemput E. 2008. Antibiorésistances de souches de *Pasteurella multocida* et *Mannheimia haemolytica* isolées par écouvillonnage nasal profond et aspiration trans-trachéale. *Le Point Vétérinaire* 283, 20-21.
5. Schmitt – Van de Leemput E., Assié S., Gesché H., Roch N., Salat O., Seegers H., **Timsit E.** 2007. Consensus sur l'abord des maladies respiratoires chez les jeunes bovins. *Le Point Vétérinaire* 281, 37-39.
6. **Timsit E.**, Gesché H., Schmitt – Van de Leemput E. 2007. Étude pratique du “profil pasteurelles” dans douze lots de jeunes bovins. *Le Point Vétérinaire* 280, 16-17.

- **Présentations à des congrès internationaux**

1. **Timsit E.**, Christensen H., Bareille N., Assié S. 2011. Is *Mannheimia haemolytica* highly contagious among newly-received bulls at fattening operations? European Buiatric forum, Marseille, Accepted.
2. **Timsit E.**, Assié S., Quiniou R., Seegers H., Fourichon C., Bareille N. 2010. Improved detection of bovine respiratory disease in young bulls using rumen temperature boluses. European Federation for Animal Science, Heraklion, Crete, 69.
3. **Timsit E.**, Assié S., Bareille N. 2009. Rational treatment of respiratory disorders in young bulls at fattening units in France. European Buiatrics Forum, Marseille, Symposium Intervet-Schering plough. Invited speaker.

- **Présentations à des congrès vétérinaires français**

3. **Timsit E.**, Bareille N., Assié S. 2010. Intérêt technico-économique du traitement métaglycétique des maladies respiratoires chez les jeunes bovins. Journée Bovine Nantaise, Nantes.
3. **Timsit E.**, Bareille N., Assié S. 2010. Traitement métaglycétique des maladies respiratoires chez les jeunes bovins : états des connaissances. Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Lille, 803-807.
3. **Timsit E.**, Bareille N., Assié S. 2009. Intérêt en conditions d'élevage du Resflor pour le traitement des troubles respiratoires. Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Nantes, 569-572.
3. **Timsit E.**, Assié S., Chanteranne F., Bareille N. 2009. Détection des troubles respiratoires des jeunes bovins en atelier d'engraissement par le monitoring de la température ruminale. Journées nationales des Groupements Techniques Vétérinaires, Nantes, 537-544.
3. **Timsit E.**, Assié S., Chanteranne F., Bareille N. 2008. Monitoring de la température ruminale pour la détection des troubles respiratoires des jeunes bovins en atelier d'engraissement. Journée Bovine Nantaise, Nantes, 25-31.



# Sommaire

<b>ABREVIATIONS</b>	I
<b>LISTE DES FIGURES</b>	II
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	IV
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	1
1. Contexte et enjeux du travail de recherche	1
2. Problématique et positionnement du travail de recherche	5
3. Etat des connaissances dans le positionnement envisagé et ses limites	8
3.1. Evaluation de la sous-détection, par examen visuel, des bovins atteints de bronchopneumonie infectieuse et évaluation de l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance	8
3.2. Systèmes alternatifs à l'examen visuel des bovins pour une détection performante des animaux atteints de bronchopneumonie infectieuse	10
3.3. Transmissibilité des bactéries impliquées dans les bronchopneumonies infectieuses des bovins à l'engrais	12
4. Objectifs, approche méthodologique et contenu de la thèse	15
4.1. Objectifs	15
4.2. Approche méthodologique et contenu de la thèse	16
5. Références bibliographiques	17
<b>CHAPITRE 1 : EVALUATION D'UN SYSTEME D'ALERTE PERMETTANT UNE DETECTION PRECOCE ET SENSIBLE DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE</b>	23
1. Résumé français	24
2. Abstract	25
3. Introduction	26
4. Materials and methods	27
4.1. Animals and housing	27
4.2. Reticulo-rumen temperature bolus	28
4.3. Assessment of measurement accuracy of the boluses	29
4.4. Processing of reticulo-rumen temperature and on-line detection of reticulo-rumen hyperthermia episodes	30
4.5. Monitoring, clinical assessments, treatments and blood samples	31
4.6. Measurement of serum haptoglobin concentrations	31
4.7. Data analysis	32
5. Results	32
5.1. Measurement accuracy of the boluses	32
5.2. Repartition and duration of reticulo-rumen hyperthermia episodes	33
5.3. Relation between reticulo-rumen and rectal temperatures during reticulo-rumen hyperthermia episodes	34
5.4. Serum haptoglobin concentrations during reticulo-rumen hyperthermia episodes	34
5.5. Clinical findings during reticulo-rumen hyperthermia episodes	34

5.6. Positive predictive value of reticulo-rumen hyperthermia episodes for the detection of bovine respiratory disease	34
5.7. Duration between the onset of the reticulo-rumen hyperthermia episode and the onset of clinical signs of bovine respiratory disease	35
6. Discussion	35
7. Conclusions	39
8. References	40
<b>CHAPITRE 2 : EVALUATION DE LA SOUS-DETECTION DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE ET ESTIMATION DE L'IMPACT DE CETTE SOUS-DETECTION SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE</b>	<b>45</b>
<hr/>	
1. Résumé français	46
2. Abstract	48
3. Introduction	49
4. Materials and methods	49
4.1. Location and timing	50
4.2. Animals	50
4.3. Reticulo-rumen temperature bolus	51
4.4. Clinical assessment, treatment and sampling procedure	52
4.5. Virology and bacteriology	52
4.6. Identification of fever episodes	53
4.7. Data analysis	54
5. Results	55
5.1. Detection of fever episodes	55
5.2. Health data	57
5.3. Bacteriological and virological results	57
5.4. Fever episodes and visually apparent clinical signs	58
5.5. Effect of FENO on early ADG	58
6. Discussion	60
7. References	63
8. Résultats additionnels obtenus avec le dispositif d'étude présenté dans l'article	66
<b>CHAPITRE 3 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE <i>MANNHEIMIA HAEMOLYTICA</i> LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS</b>	<b>67</b>
<hr/>	
1. Résumé français	68
2. Abstract	69
3. Introduction	70
4. Materials and methods	71
4.1. Animals	71
4.2. Study design	72
4.3. Sampling procedures and bacteriology	73
4.4. Pulsed field gel electrophoresis	73
4.5. Data analysis	74
5. Results	75
5.1. Health data, clinical samples and <i>M. haemolytica</i> isolation	75
5.2. PFGE typeability and reproducibility	78
5.3. PFGE types recovered from the lower respiratory tract of bulls during BRD episodes	79

5.4. Comparison of PFGE types recovered from the lower and upper respiratory tracts during BRD episodes	80
6. Discussion	81
7. Conclusion	84
8. References	85
<b>CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE <i>MYCOPLASMA BOVIS</i> LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS</b>	91
<hr/>	
1. Résumé français	92
2. Abstract	93
3. Introduction	94
4. Materials and methods	94
5. Results	96
6. Discussion	99
7. References	101
<b>DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION</b>	103
<hr/>	
1. Résultats principaux : forces et limites	104
2. Implications	109
3. Perspectives	112
4. Conclusion	115
5. Références bibliographiques	116
<b>ANNEXES</b>	119



# Abréviations

- ADG** : Average Daily Gain
- ATT** : Aspiration Trans-Trachéale
- BPI** : Bronchopneumonie infectieuse
- BRD** : Bovine Respiratory Disease
- BRSV** : Bovine Respiratory Syncytial Virus
- BVDV** : Bovine Viral Diarrhea Virus
- BW** : Body Weight
- CUSUM (test)** : Cumulative Sum (test)
- DM** : Dry Matter
- DNA** : DeoxyriboNucleic Acid
- EN** : Ecouvillonnage Nasal
- FECS** : Fever Episode during which apparent Clinical Signs of bovine respiratory disease were detected by feedlot personnel
- FENO** : Fever Episode NOT associated with clinical signs visually detected by feedlot personnel
- GMQ** : Gain Moyen Quotidien
- Hap** : serum Haptoglobin
- HR** : Hyperthermie Ruminale
- LBA** : Lavage broncho Alvéolaire
- Mo** : Month
- M. bovis*** : *Mycoplasma bovis*
- M. haemolytica*** : *Mannheimia haemolytica*
- NS** : Nasal Swabs
- P. multocida*** : *Pasteurella multocida*
- PFGE** : Pulse-Field Gel Electrophoresis
- Pi3** : Parainfluenza 3 virus
- PPV** : Positive Predictive Value
- RH** : Reticulo-rumen Hyperthermia
- SARA** : Subacute Ruminal Acidosis
- SD** : Standard Deviation
- Se** : Sensibilité
- TMR** : Total Mixed Ration
- TTA** : Trans-Tracheal Aspiration
- VPP** : Valeur Prédictive Positive

# Liste des figures

## INTRODUCTION GENERALE

---

- Figure 1.** Intérêts relatifs de la métaphylaxie, dans différentes situations épidémiologiques théoriques lors de la détection des premiers bovins atteints de bronchopneumonie infectieuse (BPI) dans un lot.
- Figure 2.** Exemple d'évolution de la température péri-orbitale durant un épisode de bronchopneumonie infectieuse (BPI) chez un bovin à l'engrais mesurée par caméra infrarouge. Ce bovin a été diagnostiqué atteint de BPI et traité au jour 10 (Schaefer et al. 2007).
- Figure 3.** Schéma d'un système permettant le suivi en continu et à distance de la température ruminale des bovins *via* l'utilisation d'un thermobolus intraruminal.
- Figure 4.** Objectifs de la thèse, chapitres de thèse correspondants et état des articles.

## CHAPITRE 1 : EVALUATION D'UN SYSTEME D'ALERTE PERMETTANT UNE DETECTION PRECOCE ET SENSIBLE DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE

---

- Figure 1.** Example of a measurement of reticulo-rumen temperature of a young bull (number 14) over 14 days. A reticulo-rumen hyperthermia episode (reticulo-rumen temperature above the reference temperature) was detected between March 17 (11:00) and March 31 (5:00) using the programme provided by the manufacturer (Medria Measurement Manager, Medria SAS). The abrupt decreases in reticulo-rumen temperatures are due to drinking water.
- Figure 2.** Repartition and duration (h) of 52 reticulo-rumen hyperthermia episodes (represented by black lines) observed in 22 young bulls during 40 days following arrival at the fattening unit.
- Figure 3.** Correlation of reticulo-rumen and rectal temperatures recorded at the same time during reticulo-rumen hyperthermia episodes (n = 135).
- Figure 4.** Box-and-whisker plots show the duration between the onset of reticulo-rumen hyperthermia episodes and the detection of clinical signs of respiratory diseases by clinical examination in the first occurrence of bovine respiratory disease in 17 young bulls (h:min). Each box stretches from the 25th percentile at the lower edge to the 75<sup>th</sup> percentile at the upper edge; the median is shown as a line across the box. There are two adjacent values below and above the box (the 'whiskers'): the largest value below the upper inner limit (+1.5 times the box) and the smallest value above the lower inner limit (-1.5 times the box). The minimum and maximum values are represented by black dots.

## **CHAPITRE 2 : EVALUATION DE LA SOUS-DETECTION DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE ET ESTIMATION DE L'IMPACT DE CETTE SOUS-DETECTION SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE**

---

**Figure 1.** Example of reticulo-rumen temperatures (curve) for which water intake effects were eliminated (*i.e.* pre-processed reticulo-rumen temperature), measured in a beef bull during the first 40 d post-arrival at a fattening operation. The reference reticulo-rumen temperature (dotted line), computed as the mean of pre-processed temperatures recorded during the previous 4 d is also shown. Four significant differences (horizontal arrow) between pre-processed temperatures and reference temperatures, *i.e.* reticulo-rumen hyperthermia episode, were identified using a method based on the cumulative sum test. Bovine respiratory disease treatments (vertical arrow) were implemented on d 4 and 32 after arrival.

**Figure 2.** Daily prevalence (%) of bovine respiratory disease (BRD) treatment (histogram) (number of BRD treatments per d / 112 \* 100) and daily prevalence (%) of bulls with fever episode (curve) (number of bulls which had fever episode on indicated d / 112 \* 100) in 112 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

## **CHAPITRE 3 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

---

**Figure 1.** Dendrogram and schematic representation of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) fragments of 178 *M. haemolytica* isolates with Sall digestion. The dendrogram was constructed from UPGMA clustering of Dice coefficient values with optimization and tolerance settings of 1.0% and 3.0%, respectively. Isolates with PFGE patterns differing by one to four bands were assigned to subtypes of the same main types (van Belkum et al., 2007). Each main type was arbitrarily identified by a letter (A-M).

## **CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MYCOPLASMA BOVIS* LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

---

**Figure 1.** Dendrogram and schematic representation of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) fragments of 44 *Mycoplasma bovis* isolates with SmaI digestion. The dendrogram was constructed from UPGMA clustering of Dice coefficient values with optimization and tolerance settings of 1.0% and 2.0%, respectively. Each type was arbitrarily identified by a letter (A-E).

# Liste des tableaux

## INTRODUCTION GENERALE

**Tableau 1.** Prévalence des lésions pulmonaires observées à l'abattoir chez les bovins traités et non traités pour bronchopneumonie infectieuse (BPI) durant la période d'engraissement.

**Tableau 2.** Résultats d'un modèle de régression linéaire quantifiant les effets des bronchopneumonies infectieuses cliniques ou « subcliniques » sur le gain moyen quotidien (g) des bovins durant le début, la fin ou l'ensemble de la période d'engraissement d'après Thompson et al. (2006).

**Tableau 3.** Principales bactéries impliquées dans les bronchopneumonies infectieuses des bovins à l'engrais et leurs facteurs de virulence d'après Panciera et al. (2010).

## CHAPITRE 1 : EVALUATION D'UN SYSTEME D'ALERTE PERMETTANT UNE DETECTION PRECOCE ET SENSIBLE DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE

**Table 1.** Mean maximum serum haptoglobin (Hap) concentrations measured during reticulo-rumen hyperthermia (RH) episodes stratified by duration of episode and number (%) of episodes for which maximum Hap value exceeded the threshold of 0.13 g/L (Ganheim et al., 2003).

## CHAPITRE 2 : EVALUATION DE LA SOUS-DETECTION DES BOVINS A L'ENGRAIS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE ET ESTIMATION DE L'IMPACT DE CETTE SOUS-DETECTION SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE

**Table 1.** Characteristics of 12 groups of bulls on their arrival in 3 fattening operations.

**Table 2.** Descriptive statistics of fever episodes detected in 110 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

**Table 3.** Descriptive statistics of health data and pathogens isolated from trans-tracheal aspiration (TTA) aspirates before the implementation of bovine respiratory disease (BRD) treatment, in 88 bulls during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

**Table 4.** Characteristics of fever episodes for which apparent signs of bovine respiratory disease were visually detected by feedlot personnel (FECS) and for which no visually apparent clinical signs of disease were detected by feedlot personnel (FENO) in 110 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

**Table 5.** Occurrence and total duration of fever episodes for which apparent signs of bovine respiratory disease were detected by feedlot personnel (FECS) and for which no visually apparent clinical signs of disease were detected by feedlot personnel (FENO) in 112 bulls



equipped with reticulo-rumen temperature boluses during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

**Table 6.** Time-lags between onset of fever episodes and bovine respiratory disease (BRD) treatments, and between BRD treatments and fever episode ends in 88 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses which were treated for BRD during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

**Table 7.** Final regression model for effects on early ADG (calculated from d 1 to 40) of fever episodes not associated with visually apparent clinical signs (FENO), number of bovine respiratory disease (BRD) treatment during the study period and breed in 112 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

**Tableau 8.** Modèle de régression final pour les effets sur le GMQ précoce (calculé de J1 à J40) de la durée des épisodes de fièvre non-associés à des signes cliniques détectés par examen visuel (FENO), des épisodes de fièvre associés à des signes cliniques de BPI détectés (FECS) et de la race pour 112 bovins à l'engrais équipés de bolus intraruminaux.

### **CHAPITRE 3 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

---

**Table 1.** Characteristics of 12 pens of newly-received bulls at three fattening operations.

**Table 2.** Descriptive statistics of 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes observed in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

**Table 3.** Agreement between nasal swab (NS) and trans-tracheal aspiration (TTA) samples for the isolation of *M. haemolytica*.

**Table 4.** Number of bulls culture-positive for *M. haemolytica* on trans-tracheal aspirations (TTA) and number of isolates (n) assigned to specified types by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) observed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

**Table 5.** Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) types of *M. haemolytica* isolates obtained from nasal swab (NS) and trans-tracheal aspiration (TTA) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

**Supplementary table S1:** Pulsed-field gel electrophoresis types of *M. haemolytica* isolates recovered from trans-tracheal aspiration and nasal swab (brackets) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations. The bulls' farms of origin (n=43) and the day of BRD treatment (underscored) are also indicated.

**CHAPITRE 4 : ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MYCOPLASMA BOVIS* LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

---

**Table 1.** Prevalence (%) of bulls culture positive (+) for *Mycoplasma bovis* on transtracheal aspiration (TTA) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes observed in 12 pens of bulls.

**Table 2.** Pulsed-field gel electrophoresis types of *M. bovis* isolates recovered from trans-tracheal aspiration (TTA) samples performed during bovine respiratory disease (BRD) episodes. The bulls' farms of origin (n=15) and the day of BRD treatment (\*) are also indicated

# Introduction générale

## 1. Contexte et enjeux du travail de recherche

Plus de 50 % de la viande bovine européenne et nord-américaine provient de bovins élevés à partir du sevrage en ateliers d'engraissement (USDA, 2011, FranceAgriMer, 2010). Dans ces ateliers, les animaux âgés de 6 à 12 mois sont engraisés pendant plusieurs mois à partir de rations permettant une croissance musculaire rapide (Scientific committee on animal health and animal welfare, 2001). Ces bovins sont conduits en lots, de plus ou moins grande taille (de 10 bovins à plus de 1000), constitués d'animaux provenant de multiples exploitations d'origine. Selon les pays et les systèmes d'exploitation, les animaux engraisés peuvent être des mâles entiers (appelés « jeunes bovins » en France), des mâles castrés (bœufs) et/ou des femelles (génisses) (Scientific committee on animal health and animal welfare, 2001).

Les bronchopneumonies infectieuses (BPI) sont les principales maladies rencontrées dans les ateliers d'engraissement (Assié et al., 2009, Cusack et al., 2003, Smith, 2009). Elles représentent ainsi de 75 à 80% de l'ensemble des maladies observées durant la période d'engraissement et, en moyenne, 20% des bovins à l'engrais reçoivent un traitement curatif vis-à-vis de ces maladies (Assié et al., 2009, Edwards, 1996, Kelly et al., 1986). Outre le coût de leur prévention, les BPI entraînent des pertes directes (mortalité, non valeur économique de certains animaux, baisse des performances de croissance, déclassement de carcasse) et indirectes (coûts des traitements) qui diminuent fortement la rentabilité de ces ateliers (Griffin, 1997, Smith, 1998). Selon la gravité de la situation, elles ont, par exemple, diminué de 11 à 26 % le revenu tiré des ateliers d'engraissement de jeunes bovins en Pays de la Loire (Bareille et al., 2009). Récemment, Miles et al. (2009) ont estimé à plus de 500 millions \$ par an les pertes liées aux BPI en Amérique du Nord.

Les BPI des bovins à l'engrais sont des maladies infectieuses dites polyfactorielles (Cusack et al., 2003, Duff et al., 2007, Radostits et al., 2007, Taylor et al., 2010a). En effet, elles résultent d'interactions complexes entre des bactéries (notamment les *Pasteurellaceae* et *Mycoplasma spp.*), des virus (virus respiratoire syncytial bovin [VRSB], virus parainfluenza 3 [Pi3], virus de la diarrhée virale bovine [BVDV], etc.) et des facteurs non-infectieux (transport, ambiance des bâtiments, etc.) (Cusack et al., 2003, Duff et al., 2007, Radostits et al., 2007, Taylor et al., 2010a). Il est généralement admis que les virus et les facteurs non-infectieux diminuent les défenses immunitaires de l'hôte et altèrent les mécanismes de clearance des voies respiratoires ce qui favorise l'infection du poumon par les bactéries qui induisent alors des lésions pulmonaires (Aich et al., 2009, Hodgson et al., 2005, Taylor et al., 2010a). La présence de multiples facteurs non-infectieux avant et à la mise en lot (le sevrage, le transport, la transition alimentaire etc.) et la mise en contact de bovins d'origine différentes aux statuts infectieux et vaccinaux divers expliquent que les BPI surviennent essentiellement durant les premières semaines suivant l'entrée des bovins dans les ateliers d'engraissement (Alexander et al., 1989, Cusack et al., 2003, Duff et al., 2007, Sanderson et al., 2008, Taylor et al., 2010a).

Plusieurs mesures préventives d'ordre zootechnique telles que la création de lots de bovins originaires de la même exploitation, l'absence de passage des bovins par des marchés ou la réduction du temps de transport des animaux peuvent diminuer fortement l'incidence des BPI chez les bovins à l'engrais (Duff et al., 2007, Taylor et al., 2010b). Cependant, ces mesures sont trop contraignantes pour les filières d'engraissement qui préfèrent, à l'heure actuelle, mettre en place des mesures préventives d'ordre essentiellement médical basées sur l'utilisation de vaccins et/ou d'antibiotiques (Taylor et al., 2010a). Les vaccins (antiviraux et antibactériens) sont, en effet, largement utilisés chez les bovins à l'engrais (Schelcher et al., 1999, Taylor et al., 2010b). Toutefois, en raison de l'aspect souvent multi-infectieux des BPI (association fréquente de virus et de bactéries dans la pathogénie) et du caractère spécifique de l'immunité induite par les vaccins, ils ne permettent qu'une prévention partielle (Schelcher et al., 1999, Taylor et al., 2010b). De plus, l'administration des vaccins étant généralement réalisée lors de la mise en lot, le délai d'installation de l'immunité est souvent supérieur au délai d'apparition des BPI (Schelcher et al., 1999, Taylor et al., 2010b). Pour prévenir la survenue des BPI, la vaccination des bovins à l'engrais est donc fréquemment associée, sur le terrain, à une couverture antibiotique durant les premières semaines suivant la mise en lot

encore appelé antibioprévention ou antibio-prophylaxie (Schwarz et al., 2001, Taylor et al., 2010b).

L'aptitude de l'antibioprévention à limiter la morbidité et la mortalité associées aux BPI dans les semaines qui suivent la mise en lot a été démontrée dans de nombreuses études (une revue à visée appliquée de ces études est présentée en Annexe 1). Cependant, en fonction des lots de bovins, le nombre de malades évités par cette mesure ne compense pas toujours le surcoût lié au traitement de l'ensemble du lot (Nickell et al., 2010). De plus, cette administration prophylactique d'antibiotique c'est-à-dire avant toute expression clinique de la maladie est vivement critiquée en raison du risque d'accroissement de l'antibiorésistance qui accompagne les usages massifs d'antibiotiques (McEwen et al., 2002, Phillips et al., 2004, Schwarz et al., 2001). L'antibioprévention ne représente donc pas une mesure envisageable dans un cadre de gestion durable (European Parliament, 2011) pour la maîtrise des BPI des bovins à l'engrais qui devra reposer alors principalement sur des mesures préventives médicales à base de vaccinations et des mesures curatives.

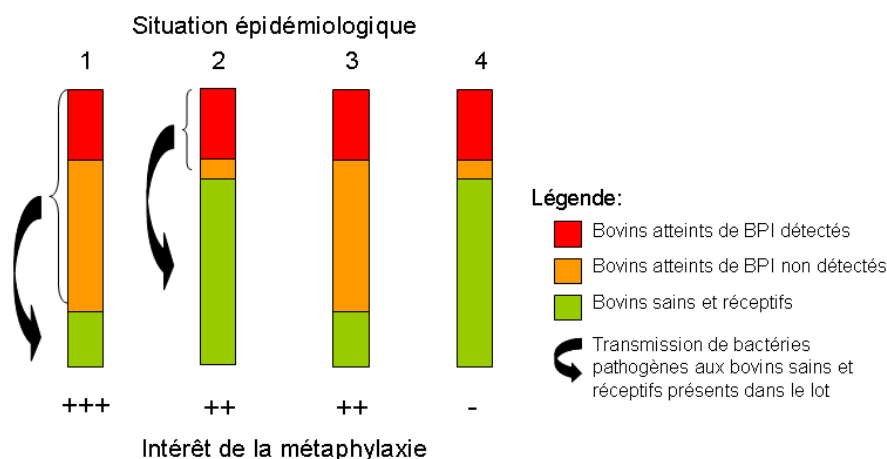
Les mesures curatives des BPI sont basées principalement sur l'utilisation d'antibiotiques associés ou non à des anti-inflammatoires (Radostits et al., 2007). L'objectif majeur de ces traitements curatifs est d'obtenir la guérison rapide des animaux traités et d'éviter la mortalité (Schwarz et al., 2001). Ces traitements ont aussi pour objectifs d'améliorer le bien-être des animaux (absence de souffrance) et de restaurer les performances de croissance (gain moyen quotidien, efficacité alimentaire) (Schwarz et al., 2001). De plus, ils agissent directement contre les bactéries, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique (Schwarz et al., 2001). Cependant, dans les ateliers d'engraissement, la détection des bovins pouvant bénéficier d'un traitement manque de sensibilité et de précocité (Duff et al., 2007, Schaefer et al., 2007, Taylor et al., 2010b, White et al., 2009). En effet, cette détection est principalement basée sur l'observation à distance de signes cliniques généraux (abattement, dysorexie voire anorexie) et locaux de bronchopneumonie (écoulement nasal et oculaire, toux, tachypnée voire dyspnée) (Duff et al., 2007). Or, l'expression clinique des BPI est très variable en termes de nature et d'intensité des signes cliniques exprimés par les bovins, allant d'une hyperthermie sans autre signe clinique présent à un niveau détectable à une dyspnée sévère entraînant la mort de l'animal (Radostits et al., 2007, Taylor et al., 2010b). De plus, le tableau clinique d'un bovin atteint de BPI évolue dans le temps (Fostier et al., 1987). Les signes cliniques d'apparition précoce étant difficiles (écoulement nasal séreux,

dysorexie etc.) voire impossibles (hyperthermie) à détecter par examen visuel. Ainsi, certains bovins qui pourraient bénéficier d'un traitement soit (i) ne le reçoivent pas car ils ne sont pas détectés par examen visuel réalisée par les personnes en charge de la surveillance des animaux (*i.e.* non-détection), soit (ii) le reçoivent tardivement par rapport à l'évolution du processus infectieux (*i.e.* retard à la détection).

Pour contourner la difficulté de la détection des bovins qui pourraient bénéficier d'un traitement, une stratégie alternative au traitement curatif des seuls bovins détectés par l'examen visuel est mise en place dans les ateliers d'engraissement : la métaphylaxie (Nickell et al., 2010). La métaphylaxie consiste à traiter l'ensemble des animaux d'un lot après la détection des premiers animaux pouvant nécessiter un traitement (McEwen et al., 2002, Schwarz et al., 2001). Son objectif est de restaurer la production en obtenant la guérison des animaux atteints de BPI détectés par examen visuel mais aussi des bovins malades non-détectés qui pourraient néanmoins bénéficier d'un traitement c'est-à-dire les bovins en incubation, en phases précoces de maladie et les bovins malades dont la phase de maladie ne sera jamais détectée (Schwarz et al., 2001). De plus, *via* la diminution de la pression d'infection bactérienne au sein du lot et la protection des bovins sains qu'elle peut conférer (si une couverture antibiotique de longue durée est réalisée), la métaphylaxie pourrait prévenir la survenue de nouveaux malades secondaires à la transmission de bactéries pathogènes, d'où son nom : méta (du grec *meta*) = après, et phylaxie (du grec *phulaxis*) = protection (Nickell et al., 2010, Schwarz et al., 2001). Cependant, comme tout traitement antibiotique non ciblé, la métaphylaxie entraîne le traitement d'animaux sains qui n'en nécessiteraient pas (Schwarz et al., 2001). En effet, parmi les bovins sains présents dans le lot, certains seront probablement non réceptifs (*i.e.* ne permettront pas à l'agent infectieux de se multiplier en eux) ou surmonteront rapidement l'infection. Cette dimension prophylactique de la métaphylaxie est, comme pour l'antibioprévention, vivement critiquée et peut, elle aussi, entraîner des surcoûts liés au traitement de l'ensemble des bovins du lot qui ne sont pas toujours compensés par les bénéfices attendus (*i.e.* diminution de la morbidité et amélioration des performances de croissance des bovins « apparemment sains » au contact des bovins détectés comme atteints de BPI) (Nickell et al., 2010).

## 2. Problématique et positionnement du travail de recherche

Dès la détection par examen visuel des premiers bovins atteints de BPI dans un lot, il est nécessaire de répondre à deux questions afin de choisir la stratégie de traitement antibiotique la plus adaptée à la situation épidémiologique du lot (Fig.1) : (i) Y a-t-il au contact des bovins détectés par examen visuel, des bovins non-détectés qui pourraient aussi bénéficier d'un traitement antibiotique ? Et, (ii) un traitement antibiotique de l'ensemble du lot peut-il protéger, contre la transmission horizontale de bactéries pathogènes, les bovins sains et réceptifs présents dans le lot ? L'intérêt médical voire économique du traitement métaphylactique va en effet reposer notamment sur les réponses à ces deux questions. Si de nombreux bovins atteints de BPI non-détectés mais qui pourraient néanmoins bénéficier d'un traitement antibiotique (*i.e.* bovins en incubation, en phases précoces de la maladie et bovins malades dont la phase de maladie ne sera jamais détectée) sont au contact des bovins détectés, alors le traitement métaphylactique qui permet de traiter l'ensemble des bovins du lot y compris les bovins atteints de BPI non-détectés présentera *a priori* un avantage par rapport au traitement curatif individuel des seuls bovins détectés. De même, si les bactéries impliquées dans les BPI sont transmissibles alors la mise en place d'un traitement antibiotique de l'ensemble des bovins du lot permettant de protéger les bovins sains et réceptifs présents dans le lot *via* (i) la diminution de la pression d'infection bactérienne et (ii) la protection que peut conférer une couverture antibiotique de longue durée présentera aussi, *a priori*, un avantage par rapport au traitement curatif individuel des seuls bovins détectés.



**Figure 1.** Intérêts relatifs de la métaphylaxie, dans différentes situations épidémiologiques théoriques lors de la détection des premiers bovins atteints de bronchopneumonie infectieuse (BPI) dans un lot.

Dans la situation 1, très favorable à la métaphylaxie, de nombreux bovins atteints de BPI non-détectés mais qui pourraient bénéficier d'un traitement (*i.e.* bovins en incubation, en phases précoces de la maladie et bovins malades dont la phase de maladie ne sera jamais détectée) sont au contact des bovins détectés et les bactéries impliquées dans l'épisode de BPI sont transmises aux bovins sains et réceptifs présents dans le lot. Dans la situation 4, à l'inverse très défavorable à la métaphylaxie, peu de bovins atteints de BPI non-détectés sont au contact des bovins détectés et les bactéries impliquées dans l'épisode de BPI ne sont pas transmises. Les situations 2 et 3 sont moyennement favorables à la métaphylaxie avec, soit peu de bovins atteints de BPI non-détectés mais la présence d'une transmission de bactéries pathogènes aux bovins sains et réceptifs présents dans le lot (situation 2), soit beaucoup de bovins atteints de BPI non-détectés sans présence d'une transmission de bactéries pathogènes (situation 3).

Pour estimer le nombre de bovins qui pourraient bénéficier d'un traitement lors d'un épisode de BPI, il faut avoir des informations sur l'importance quantitative de la sous-détection des bovins atteints de BPI (*i.e.* à la fois le retard à la détection et la non-détection) liée au manque de sensibilité de l'examen visuel. Il faut, en effet, connaître le délai entre le début de la BPI et l'apparition de signes cliniques généraux ou locaux détectables par examen visuel (*i.e.* retard à la détection) et aussi connaître le nombre de bovins atteints de BPI qui ne seront jamais détectés par examen visuel (*i.e.* non-détection). De plus, pour juger de l'intérêt médical voire économique du traitement de ces animaux atteints de BPI mais sous-détectés par examen visuel, il faut connaître (*i*) les impacts en terme de performances de croissance et de bien-être animal que pourraient entraîner un traitement tardif ou l'absence de traitement de ces bovins sous-détectés et (*ii*) l'efficacité d'un traitement antibiotique à réduire ces impacts. Or, faute de système permettant une détection performante (*i.e.* sensible et précoce) des bovins à l'engrais atteints de BPI, peu de données sur la sous-détection associée au manque de



sensibilité de l'examen visuel (*i.e.* retard à la détection et non-détection) et son impact sur les performances de croissance et le bien-être des bovins sont disponibles dans la littérature.

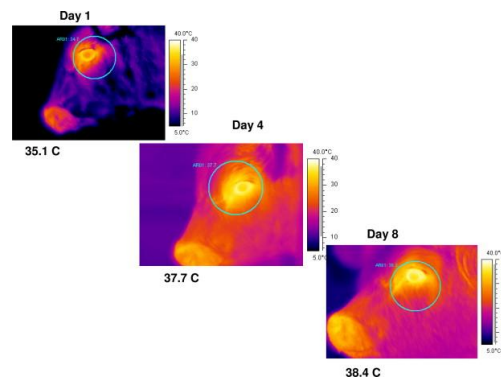
Pour déterminer si un traitement antibiotique de l'ensemble du lot peut protéger, contre la transmission horizontale de bactéries pathogènes, les bovins sains et réceptifs présents dans le lot, il faut connaître les bactéries qui sont impliquées dans l'épisode de BPI et il faut savoir si ces bactéries sont transmissibles. Or, à l'heure actuelle, la transmission horizontale des bactéries impliquées dans les BPI notamment lors de ou juste après la mise en lot reste à démontrer (Rice et al., 2007, Taylor et al., 2010b). De plus, pour juger de l'intérêt médical et économique d'un traitement antibiotique de l'ensemble des bovins du lot dans l'objectif de protéger les bovins sains et réceptifs présents dans le lot, il faut aussi avoir des informations sur l'efficacité d'un traitement antibiotique à (*i*) limiter l'excrétion, par les bovins du lot, de bactéries pathogènes potentiellement transmissibles et à (*ii*) protéger les bovins sains et réceptifs présents dans le lot.

De nombreuses informations sur les BPI des bovins à l'engrais manquent donc pour rationaliser le choix de la stratégie de traitement antibiotique à mettre en place lors d'un épisode de BPI survenant dans un lot. Parmi les besoins d'informations à combler, nous avons choisi de positionner notre travail de recherche autour (*i*) de l'évaluation de la sous-détection des bovins atteints de BPI par examen visuel (*i.e.* retard à la détection et non-détection) et de l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance et (*ii*) de la transmissibilité des bactéries impliquées dans les BPI des bovins à l'engrais. En effet, ces informations sont des bases nécessaires à une évaluation plus en aval de l'intérêt médical et économique de la métaphylaxie par rapport au traitement curatif individuel des seuls bovins détectés par examen visuel tels que : (*i*) l'évaluation de l'efficacité de la métaphylaxie à réduire les impacts d'un traitement retardé ou absent due à une sous-détection des bovins qui pourraient bénéficier d'un traitement ou encore, (*ii*) l'aptitude de la métaphylaxie à protéger les bovins sains et réceptifs présents dans le lot contre une éventuelle transmission horizontale de bactéries pathogènes.

### 3. Etat des connaissances dans le positionnement envisagé et ses limites

#### 3.1. Evaluation de la sous-détection, par examen visuel, des bovins atteints de bronchopneumonie infectieuse et évaluation de l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance

La détection tardive, dans les ateliers d'engraissement, des bovins atteints de BPI a déjà été mise en évidence par le suivi régulier de la température corporelle. En effet, la mesure régulière de la température orbitale par caméra infrarouge a montré la présence d'une élévation de la température corporelle 4 à 6 jours avant l'apparition de signes cliniques de BPI détectables par examen visuel (Fig. 2) (Schaefer et al. 2007). Par ailleurs, le suivi en continu du comportement alimentaire de chaque bovin par le système GrowSafe (Airdrie, Canada) a permis de détecter, à l'aide d'un « cumulative sum » test, les bovins atteints de BPI par la réduction du temps passé à l'auge, en moyenne, 4,1 jours plus tôt que par l'examen visuel (Quimby et al. 2001).



**Figure 2.** Exemple d'évolution de la température péri-orbitale durant un épisode de bronchopneumonie infectieuse (BPI) chez un bovin à l'engrais mesurée par caméra infrarouge. Ce bovin a été diagnostiqué atteint de BPI et traité au jour 10 (Schaefer et al. 2007).

Tout retard thérapeutique s'accompagne d'une extension du processus infectieux. Le processus infectieux devient alors plus difficile à contrôler et est à l'origine de lésions plus importantes qui peuvent porter un préjudice à la croissance ultérieure de l'animal voire entraîner sa mort (Apley et al., 1998). Janzen et al. (1984) ont d'ailleurs montré que décaler le traitement antibiotique de 48 heures ou plus après l'exposition expérimentale de bovins à *M. haemolytica* augmentait considérablement la durée d'évolution de la maladie et conduisait même à la mort des animaux dans les conditions particulières de leur étude. Cependant,

aucune donnée quantifiée de l'effet d'un traitement retardé sur les performances de croissance, dans le contexte particulier des bovins à l'engrais, n'est disponible dans la littérature. Ces données permettraient de juger de l'intérêt médical et économique potentiel d'un traitement antibiotique plus précoce des bovins en incubation ou en phase précoce de la maladie.

L'absence complète de détection des bovins atteints de BPI (*i.e.* non-détection) par examen visuel est principalement argumentée à partir de la mise en évidence, chez les bovins non-détectés comme atteints de BPI durant la période d'engraissement, de lésions pulmonaires à l'abattoir. En effet, en fonction des études, de 37 à 83 % de ces bovins non-détectés avaient des lésions pulmonaires à l'abattoir (Cf. Tableau 1). Cependant, cette mesure de la non-détection des bovins atteints de BPI par examen visuel est imparfaite. En effet, l'inspection macroscopique des poumons à l'abattoir ne permet pas de dater précisément les lésions (Daoust, 1989). Elles peuvent donc avoir été générées en début, milieu ou fin de la période d'engraissement mais aussi avant cette période, dans les exploitations d'origine (Schneider et al., 2009), ce qui peut conduire à une surestimation de la non-détection des animaux atteints de BPI durant la période d'engraissement. De plus, comme les BPI affectent les bovins surtout en début d'engraissement (Assié et al., 2009, Babcock et al., 2009, Sanderson et al., 2008), il est probable qu'une partie des lésions pulmonaires consécutives à des BPI non-détectées se soient résorbées avant l'abattage des bovins conduisant, à l'inverse, à une sous-estimation de la non-détection des animaux atteints de BPI. Cette mesure imparfaite de la non-détection des animaux atteints de BPI a néanmoins permis à Thompson et al. (2006) de réaliser une première estimation de l'effet sur les performances de croissance de cette non-détection chez les bovins à l'engrais (Cf. Tableau 2). Néanmoins, pour juger de l'intérêt médical et économique potentiels d'un traitement antibiotique de ces bovins atteints de BPI non-détectés voire non détectables (*i.e.* absence complète de signe clinique détectable) par examen visuel, une quantification plus précise de la non-détection et de son impact sur les performances de croissance est nécessaire.

**Tableau 1.** Prévalence des lésions pulmonaires observées à l'abattoir chez les bovins traités et non traités pour bronchopneumonie infectieuse (BPI) durant la période d'engraissement.

Références	Pays	No. de bovins	Poids à l'entrée (kg)	Prévalence des traitements pour BPI (%)	Prévalence des lésions pulmonaires à l'abattoir (%)		
					Tous bovins	Bovins traités	Bovins non traités
Wittum et al. (1996)	USA	469	193	29	72	78	68
Bryant et al. (1999)	USA	439	-	17	42	40	42
Gardner et al. (1999)	USA	204	291	50	43	48	37
Buhman et al. (2000)	USA	170	249	25	87	97	83
Dejonghe et al. (2002)	France	401	290	15	61	72	59
Thompson et al. (2006)	Afrique du sud	2036	233	23	43	55	39
Schneider et al. (2009)	USA	1665	288	8	62	74	61

**Tableau 2.** Résultats d'un modèle de régression linéaire quantifiant les effets des bronchopneumonies infectieuses (BPI) cliniques<sup>2</sup> ou « subcliniques »<sup>3</sup> sur le gain moyen quotidien (g) des bovins durant le début, la fin ou l'ensemble de la période d'engraissement d'après Thompson et al. (2006).

Période d'engraissement	Variable indépendante et niveau	Estimée	Intervalle de confiance (95%)	P-value
Début (J0 à J35)	Catégorie clinique des bovins :			
	-Sain <sup>1</sup>	Référence	-	-
	-Subclinique <sup>2</sup>	-0,091	[-0,142;-0,040]	<0,001
	-Clinique <sup>3</sup>	-0,216	[-0,272;-0,159]	<0,001
Fin (J35 à l'abattage <sup>4</sup> )	Catégorie clinique des bovins :			
	-Sain <sup>1</sup>	Référence	-	-
	-Subclinique <sup>2</sup>	-0,012	[-0,039;-0,016]	0,41
	-Clinique <sup>3</sup>	0,015	[-0,016;-0,046]	0,34
Totale (J0 à l'abattage)	Catégorie cliniques des bovins :			
	-Sain <sup>1</sup>	Référence	-	-
	-Subclinique <sup>2</sup>	-0,020	[-0,043;-0,002]	0,08
	-Clinique <sup>3</sup>	-0,029	[-0,055;-0,004]	0,02

<sup>1</sup>Sain : pas de traitement pour BPI durant la période d'engraissement et pas de lésion pulmonaire à l'abattoir. <sup>2</sup>Subclinique : pas de traitement pour BPI durant la période d'engraissement avec lésions pulmonaires à l'abattoir. <sup>3</sup>Malade : traitement pour BPI durant la période d'engraissement avec ou sans lésion pulmonaire à l'abattoir. <sup>4</sup> L'abattage des bovins a eu lieu, en moyenne, 137 jours après leur mise en lot.

Pour évaluer de manière précise la sous-détection des bovins atteints de BPI (*i.e.* retard à la détection et non-détection) et estimer l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance, il faut disposer d'un système alternatif à l'examen visuel qui permette une détection performante (*i.e.* sensible et précoce) des animaux atteints de BPI.

### 3.2. Systèmes alternatifs à l'examen visuel des bovins pour une détection performante des animaux atteints de bronchopneumonie infectieuse

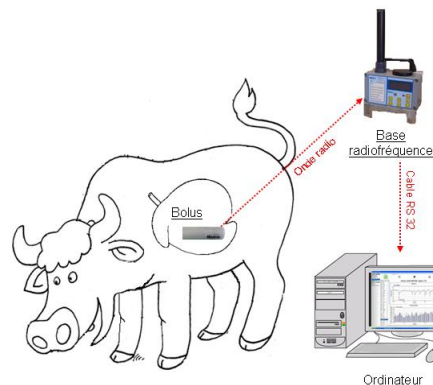
Plusieurs systèmes alternatifs à l'examen visuel comme le suivi du comportement alimentaire (Quimby et al., 2001) et le suivi régulier de la température corporelle (Fostier et

al. 1988, Schaefer et al., 2007) pourraient permettre d'améliorer la sensibilité et la précocité de détection des bovins atteints de BPI dans les ateliers d'engraissement. Néanmoins, ces systèmes, non-spécifiques, ne permettent pas d'affirmer que le bovin détecté a une BPI. Il est donc *a priori* nécessaire d'investiguer la valeur prédictive positive de ses systèmes pour la détection des animaux atteints de BPI (*i.e.* probabilité qu'un bovin détecté par le système soit réellement atteint de BPI) chez les bovins à l'engrais avant leur utilisation.

La dysorexie voire l'anorexie est un signe clinique d'appel fréquemment utilisé dans les ateliers d'engraissement pour la détection des bovins atteints de BPI (Radostits et al., 2007). Quimby et al. (2001) ont d'ailleurs montré que le suivi en continu du comportement alimentaire de chaque bovin par le système GrowSafe (Airdrie, Canada) permettait de détecter, *via* l'utilisation d'un « cumulative sum » test, les bovins atteints de BPI environ 4,1 jours plus tôt que par examen visuel (Quimby et al., 2001). Néanmoins, il semblerait que la sensibilité de ce système pour la détection des bovins atteints de BPI soit inférieure à l'examen visuel (Quimby et al., 2001). Des recherches complémentaires sont donc nécessaires pour confirmer ou infirmer l'aptitude de la dysorexie pour la détection sensible des bovins atteints de BPI.

Le suivi régulier de l'évolution de la température corporelle pourrait aussi permettre une détection plus précoce et plus sensible des animaux atteints de BPI que l'examen visuel. En effet, de nombreux bovins atteints de BPI ont des températures rectales supérieures à 39,5°C voire 40°C ainsi que des modifications des bruits pulmonaires à l'auscultation sans signe clinique visuellement détectable par examen visuel (Radostits et al., 2007). De plus, l'hyperthermie est d'apparition très précoce au cours du processus infectieux (Fajt et al., 2004). Cependant, le suivi régulier de la température corporelle par les méthodes traditionnelles (*i.e.* prise de température rectale) est trop chronophage pour être réalisé à intervalles de temps rapprochés ou dans des lots de grandes tailles. Récemment, un système permettant le suivi en continu et à distance de la température ruminale des bovins par l'utilisation d'un thermobolus intraruminal (Thermobolus, Medria SAS, Chateaugiron, France) a été développé (Fig. 3). La température ruminale étant corrélée à la température corporelle (Bewley et al., 2008, Sievers et al., 2004), ce système pourrait permettre le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle, la détection d'hyperthermie et ainsi améliorer la détection des bovins à l'engrais atteints de BPI. Cependant, l'aptitude de ce système pour la détection d'hyperthermie corporelle n'a jamais été évaluée. De plus, aucune

donnée sur la valeur prédictive positive des alertes produites par ce système pour la détection des bovins atteints de BPI n'est disponible dans la littérature.



**Figure 3.** Schéma d'un système permettant le suivi en continu et à distance de la température ruminale des bovins *via* l'utilisation d'un thermobolus intraruminal. Le bolus, après avoir été ingéré par le bovin, réside dans le réticulo-rumen de l'animal et mesure la température ruminale toutes les 15 minutes. Il transmet ensuite les données de température toutes les 2 heures par onde radio à une base réceptrice qui doit être placée à moins de 50 mètres des bovins. La base transmet alors les données à un ordinateur situé dans l'exploitation où les températures ruminales peuvent alors être visionnées en temps réel et enregistrées.

### 3.3. Transmissibilité des bactéries impliquées dans les bronchopneumonies infectieuses des bovins à l'engrais

Les bactéries les plus fréquemment isolées dans les voies respiratoires basses des bovins à l'engrais lors de BPI ou dans les lésions pulmonaires observées chez les bovins morts de BPI dans les semaines qui suivent la mise en lot sont les *Pasteurellaceae* avec principalement *Mannheimia haemolytica* et les mollicutes du genre *Mycoplasma* avec *Mycoplasma bovis* (Gagea et al., 2006, Griffin et al., 2010, Radostits et al., 2007). Les *Pasteurellaceae* et *M. bovis* possèdent en effet de nombreux facteurs de virulence qui leurs permettent de coloniser les poumons, d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte, et d'entraîner des lésions pulmonaires (Panciera et al., 2010) (Cf. Tableau 3).

**Tableau 3.** Principales bactéries impliquées dans les bronchopneumonies infectieuses des bovins à l’engrais et leurs facteurs de virulence d’après Panciera et al. (2010).

Bactérie	Présence de capsule	Endotoxine	Exotoxine	Protéine d'adhésion	Enzyme sécrétée	Autre facteur
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Oui	LPS <sup>1</sup>	LKT <sup>2</sup>	OmpA <sup>3</sup> , lipoprotéine I, N-acetyl-D-glucosamine, protéines d'adhésion au fibrinogène	Neuraminidase, sialoglycoprotease	Biofilm
<i>Pasteurella multocida</i>	Oui	LPS	-	OmpA, fimbriae de type 4, FHA <sup>4</sup>	-	Biofilm
<i>Histophilus somni</i>	Non	LOS <sup>5</sup>	-	-	-	Biofilm, histamine, IgBPs <sup>6</sup>
<i>Mycoplasma bovis</i>	Non	-	Toxines polysaccharidiques (?)	VSPs <sup>7</sup>	-	Biofilm, peroxyde d'hydrogène

<sup>1</sup>Lipopolysaccharide. <sup>2</sup>Leucotoxine. <sup>3</sup>Protéines de la membrane extérieure. <sup>4</sup>Hémagglutinine filamenteuse. <sup>5</sup>Lipooligosaccharide. <sup>6</sup>Protéines d'adhésions aux immunoglobulines. <sup>7</sup> Protéines variables de surface.

*Mannheimia haemolytica* est fréquemment isolée dans les cavités nasales et les tonsilles des bovins sains où elle maintient une relation commensale avec l’hôte (Rice et al., 2007). Rice et al. (2007) suggèrent que c’est à la faveur de conditions favorables à *M. haemolytica*, permises par des infections virales et des facteurs non-infectieux (transport des animaux, etc.), que cette bactérie rompt l’équilibre avec l’hôte pour entraîner la maladie. En effet, lors d’infections virales et/ou d’état de stress, les défenses de l’animal sont réduites ce qui permet la multiplication de *M. haemolytica* dans les voies respiratoires hautes et la sélection de souches virulentes (Frank et al., 1986, 1987). Ces souches virulentes peuvent alors coloniser le poumon et entraîner des lésions de type fibrino-suppuratives (Griffin et al., 2010). Larsen et al. (2009) ont d’ailleurs récemment montré que les souches de *M. haemolytica* isolées dans les poumons de bovins malades avaient un plus grand nombre de promoteurs du gène de la leucotoxine, principal facteur de virulence de *M. haemolytica*, que les souches de *M. haemolytica* isolées au niveau du nasopharynx de bovins sains.

Des questions demeurent concernant la source des souches de *M. haemolytica* qui colonisent les poumons des bovins malades lors de BPI (Rice et al., 2007, Taylor et al., 2010b). Pour un bovin donné, cette souche peut soit provenir de la flore commensale du nasopharynx, sélectionnée à la faveur d’infection virale ou d’état de stress (émergence individuelle), soit provenir d’un ou de plusieurs bovins atteints de BPI qui transmettent cette souche horizontalement aux autres animaux du lot (Rice et al., 2007, Taylor et al., 2010b). Or,

à l'heure actuelle, seules 2 études se sont intéressées à la transmission horizontale de *M. haemolytica* au sein de lots de bovins à l'engrais (Briggs et al., 1998, Purdy et al., 1993). Purdy et al. (1993) ont montré que les souches de *M. haemolytica* isolées au niveau du nasopharynx lors d'un épisode de BPI dans un atelier d'engraissement étaient significativement associées à l'exploitation d'origine des bovins. A partir de ces résultats, ils concluent que les souches virulentes de *M. haemolytica* ne sont pas transmises entre bovins mais sont sélectionnées à partir de la flore commensale de nasopharynx de chaque animal. A l'inverse, Briggs et al. (1998), à partir d'une infection expérimentale à l'aide d'une souche spécifique de *M. haemolytica*, ont montré que cette bactérie peut rapidement être transmise horizontalement entre bovins du même lot dans les jours qui suivent l'allotement. Sur la base de ces 2 études, il est difficile de déterminer entre l'émergence individuelle et la transmission horizontale quelle est la principale source d'acquisition de souches de *M. haemolytica* par les bovins lors de BPI.

*Mycoplasma bovis* peut, comme *M. haemolytica*, être isolée dans les voies respiratoires hautes de bovins apparemment sains et coloniser le poumon à la faveur d'un état de stress (Caswell et al., 2007, Maunsell et al., 2011, Nicholas et al., 2003). Cependant, *M. bovis* par sa capacité de dissémination systémique cause aussi des arthrites et des ténosynovites chez les bovins à l'engrais à la différence de *M. haemolytica* (Caswell et al., 2010, Maunsell et al., 2011, Nicholas et al., 2003). De plus, *M. bovis*, grâce à ses facteurs de virulence (biofilm, hypervariabilité des protéines de surface, etc.), entraîne souvent des infections chroniques du poumon même lors de traitement antibiotique (Caswell et al., 2010, Maunsell et al., 2011). En effet, Arcangioli et al. (2011) ont montré que des veaux infectés par *M. bovis* restaient porteurs d'un même clone bactérien pendant plusieurs semaines dans les poumons et cela même en présence d'un traitement antibiotique et d'anticorps circulants anti-*M. bovis*. Ces bovins infectés chroniques représentent une source de contamination non négligeable pour les bovins au contact.

La prévalence des animaux infectés par *M. bovis* est généralement faible avant l'entrée dans les ateliers d'engraissement mais peut augmenter très fortement lors d'épisode de BPI, ce qui suggère une transmission horizontale de cette bactérie (Allen et al., 1992). Cependant, cette augmentation de la prévalence des animaux infectés par *M. bovis* peut aussi résulter d'émergences individuelles secondaires à un état de stress (Boothby et al., 1983, Caswell et al., 2007) et non d'une transmission. Or, à l'heure actuelle, aucune étude n'a étudié la



dynamique de transmission de *M. bovis* lors de BPI survenant dans les ateliers d'engraissement durant les premières semaines post-mise en lot. La part relative de la transmission intra-lot ou des émergences individuelles dans l'augmentation de la prévalence des animaux infectés est donc inconnue.

Déterminer si les isolats de *M. haemolytica* et *M. bovis* qui sont retrouvés dans les poumons des bovins lors d'épisode de BPI proviennent d'émergences individuelles (c'est-à-dire d'une sélection intra-hôte d'un clone de la flore commensale du nasopharynx) ou d'une transmission horizontale de ces bactéries entre bovins est crucial pour définir la stratégie de traitement antibiotique à mettre en place. En effet, en l'absence de transmission de ces bactéries, la protection des bovins sains et réceptifs au contact des bovins malades par une couverture antibiotique de longue durée d'action n'a plus d'intérêt.

#### **4. Objectifs, approche méthodologique et contenu de la thèse**

##### 4.1. Objectifs

L'objectif général de la thèse est de produire des connaissances sur les BPI affectant les bovins à l'engrais qui constituent des bases pour rationaliser le choix de la stratégie de traitement antibiotique à mettre en place lors d'un épisode de BPI survenant dans un lot (Fig. 4). Plus précisément, il s'agit :

- d'évaluer la sous-détection (*i.e.* retard à la détection et non-détection) des bovins à l'engrais atteints de BPI et d'estimer son impact sur les performances de croissance,
- d'étudier la transmission horizontale de *M. haemolytica* et de *M. bovis* lors d'épisodes de BPI.

Afin d'investiguer la sous-détection, nous avons, dans un premier temps évalué un système d'alerte qui pourrait permettre une détection performante (*i.e.* précoce et sensible) des BPI basée sur la détection d'hyperthermie corporelle : le thermobolus intraruminal. Ce système étant non-spécifique, nous avons aussi étudié la valeur prédictive positive des alertes produites par ce système pour détecter les bovins à l'engrais atteints de BPI dans les semaines qui suivent la mise en lot.

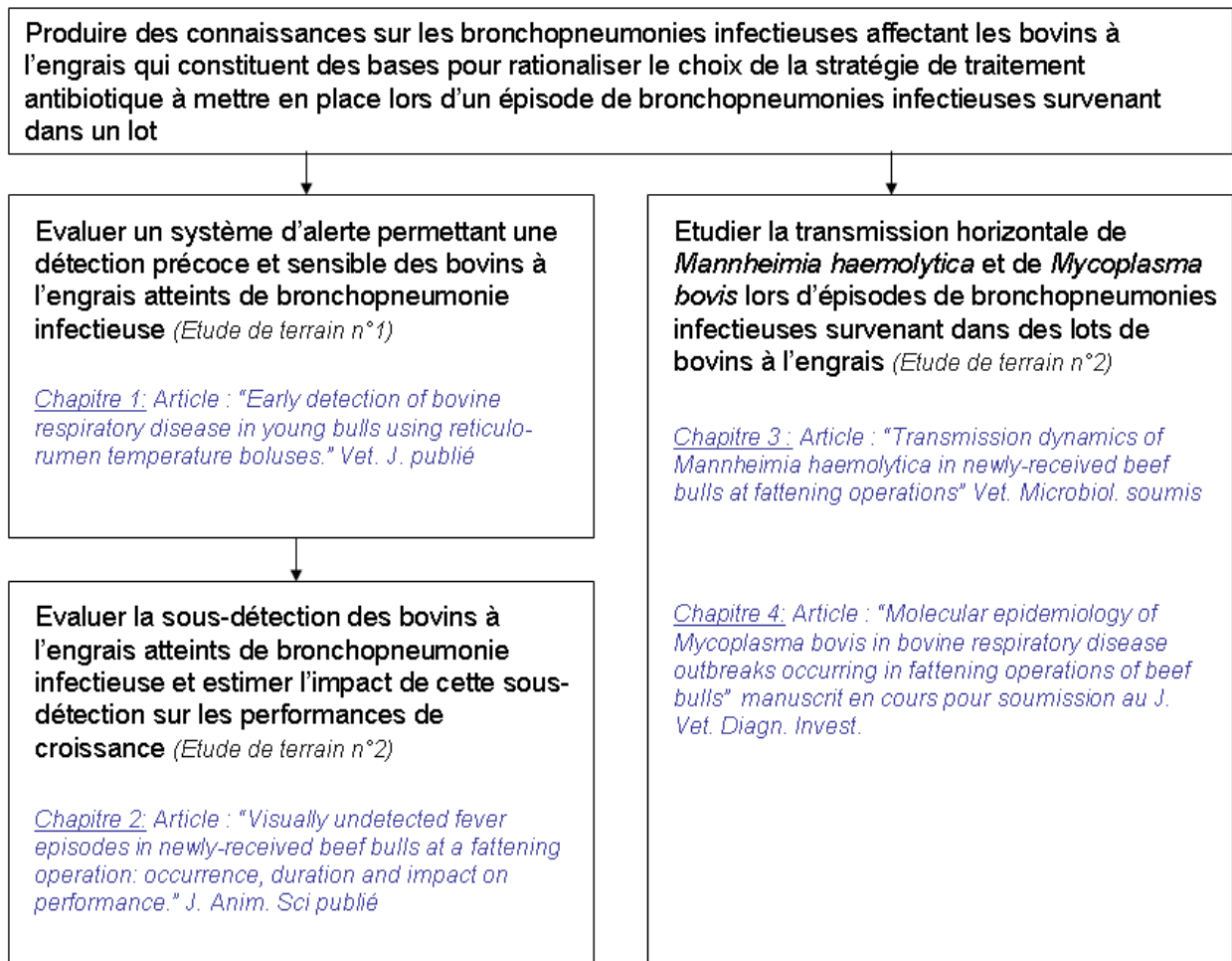
## 4.2. Approche méthodologique et contenu de la thèse

Pour répondre à ces objectifs, nous avons mis en place 2 études observationnelles en conditions courantes d'élevage des jeunes bovins dans l'ouest de la France. L'articulation générale des travaux est présentée dans la figure 4.

Dans la première étude (étude n°1), nous avons équipé de thermobolus intraruminaux 25 bovins à l'engrais dès leurs entrées dans un atelier d'engraissement. Durant les 40 jours suivant leurs arrivées, ces animaux ont ensuite été suivis cliniquement toutes les 6 à 12 heures lors d'hyperthermie ruminale afin *i)* de confirmer la présence d'hyperthermies corporelles lors d'hyperthermies ruminales détectées à l'aide des thermobolus et *ii)* d'évaluer la valeur prédictive positive de l'hyperthermie corporelle pour détecter les bovins atteints de BPI. Cette étude est présentée dans le chapitre 1.

Dans la deuxième étude (étude n°2), nous avons équipé de thermobolus intraruminaux 112 bovins à l'engrais répartis dans 12 lots dans 3 ateliers d'engraissement. A la différence de l'étude n°1, les données de températures ruminales n'ont pas été analysées en temps réel mais analysées de manière rétrospective à la fin de la période d'étude (40 jours après l'introduction) afin *i)* d'évaluer le délai entre le début de l'hyperthermie et la détection clinique des BPI (*i.e.* estimation du retard à la détection) et *ii)* de mettre en évidence et de quantifier la présence de phases d'hyperthermies non-détectées (*i.e.* estimation de la non-détection de animaux atteints de BPI). Ces données ont ensuite été mises en relation avec le gain moyen quotidien de chaque bovin calculé entre l'introduction et la fin de la période d'étude (J40) afin d'estimer l'impact du retard à la détection et de la non-détection sur les performances de croissance des bovins. De plus, les bovins de cette étude ont été prélevés par écouvillonnage nasal (EN) et aspiration trans-trachéale (ATT) tous les 3 jours pendant les épisodes de BPI afin d'obtenir des isolats de *M. haemolytica* (EN + ATT) et *M. bovis* (ATT). Ces isolats ont ensuite été typés par électrophorèse sur champs pulsés pour étudier leur relation clonale et formuler des hypothèses de transmission. En effet, si une transmission horizontale de *M. haemolytica* ou *M. bovis* a eu lieu dans un lot avant ou pendant un épisode de BPI, alors les isolats obtenus chez plusieurs bovins de ce lot doivent être issus d'un ancêtre commun, autrement dit, ces isolats doivent avoir une relation dite clonale (Zadoks et al., 2006). A l'inverse, en l'absence de relation clonale entre les isolats, la transmission horizontale de *M. haemolytica* et *M. bovis* entre bovins d'un lot pendant un épisode de BPI

semble peu probable. L'étude de la sous-détection et de son impact sur les performances de croissance est présentée dans le chapitre 2 tandis que l'étude de la transmission horizontale de *M. haemolytica* et *M. bovis* sont présentés dans les chapitres 3 et 4, respectivement.



**Figure 4.** Objectifs de la thèse, chapitres de thèse et études de terrain correspondants (et état des articles correspondants).

## 5. Références bibliographiques

- Aich, P., A. Potter, et P. Griebel. 2009. Modern approaches to understanding stress and disease susceptibility: a review with special emphasis on respiratory disease. *International Journal of General Medicine* 2: 19-32.
- Alexander, B., D. MacVean, et M. Salman. 1989. Risk factors for lower respiratory tract disease in a cohort of feedlot cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 195: 207-211.

- Allen, J., L. Viel, K. Bateman, et S. Rosendal. 1992. Changes in the bacterial flora of the upper and lower respiratory tracts and bronchoalveolar lavage differential cell counts in feedlot calves treated for respiratory diseases. *Canadian Journal of Veterinary Research* 56: 177-183.
- Apley, M. et V. Fajt. 1998. Feedlot therapeutics. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 14: 291-313.
- Arcangioli, M. A., H. Aslan, F. Tardy, F. Poumarat, et D. Le Grand. 2011 The use of pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Mycoplasma bovis* in French calf feedlots. *Veterinary Journal. In press.* doi:10.1016/j.tvjl.2011.05.004
- Assié, S., H. Seegers, B. Makoschey, L. Desire-Bousquie, et N. Bareille. 2009. Exposure to pathogens and incidence of respiratory disease in young bulls on their arrival at fattening operations in France. *Veterinary Record* 165: 195-199.
- Babcock, A., B. White, S. Dritz, D. Thomson, et D. Renter. 2009. Feedlot health and performance effects associated with the timing of respiratory disease treatment. *Journal of Animal Science* 87: 314-327.
- Bareille, N., H. Seegers, J. M. Quillet, E. Timsit, et S. Assié. 2009. Impact of respiratory disorders in young bulls during their fattening period on performance and profitability. 12th Conference of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics. Durban.RSA.
- Bewley, J., M. Einstein, M. Grott, et M. Schutz. 2008. Comparison of reticular and rectal core body temperatures in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 4661-4672.
- Boothby, J., D. Jasper, J. Zinkl, C. Thomas, et J. Dellinger. 1983. Prevalence of mycoplasmas and immune responses to *Mycoplasma bovis* in feedlot calves. *American Journal of Veterinary Research* 44: 831-838.
- Briggs, R., G. Frank, C. Purdy, E. Zehr, et R. Loan. 1998. Rapid spread of a unique strain of *Pasteurella haemolytica* serotype 1 among transported calves. *American Journal of Veterinary Research* 59: 401-405.
- Bryant, L., L. Perino, D. griffin, et T. E. Wittum. 1999. A method for recording pulmonary lesions of beef calves at slaughter, and the association of lesions with average daily gain. *Bovine Practice* 33: 163-173.
- Buhman, M., L. Perino, M. Galyean, T. Wittum, T. Montgomery, et R. Swingle. 2000. Association between changes in eating and drinking behaviors and respiratory tract disease in newly arrived calves at a feedlot. *American Journal of Veterinary Research* 61: 1163-1168.
- Caswell, J., et M. Archambault. 2007. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Reviews* 8: 161-186.
- Caswell, J., K. Bateman, H. Cai, et F. Castillo-Alcala. 2010. *Mycoplasma bovis* in respiratory disease of feedlot cattle. *The Veterinary clinics of North America* 26: 365-379.

- Cusack, P., N. McMeniman, et I. Lean. 2003. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. *Australian Veterinary Journal* 81: 480-487.
- Daoust, P. Y. 1989. Morphological study of bacterial pneumonia of feedlot cattle: Determination of age of lesions. *The Canadian Veterinary Journal* 30: 155-160.
- Dejonghe, L. 2002. Lésions pulmonaires observées à l'abattoir chez des taurillons de race à viande : description et facteurs associés à leur étendue. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire N°52. Université de Nantes. 82 pages.
- Duff, G., et M. Galyean. 2007. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 85: 823-840.
- Edwards, J. 1996. Respiratory diseases of feedlot cattle in the central USA. *Bovine Practice* 30: 5-7.
- European Parliament, 2011. European Parliament resolution on the public health threat of antimicrobial resistance. P7\_TA (2011) 0473, Texts adopted 27 October 2011, Strasbourg.
- Fajt, V., M. Apley, K. Brogden, T. Skogerboe, V. Shostrom, et Y. Chin. 2004. Effect of danofloxacin and tilmicosin on body temperatures of beef calves with pneumonia experimentally induced by inoculation with *Mannheimia haemolytica*. *American Journal of Veterinary Research* 65: 610-615.
- Fostier, B., M. Viso, C. Lopez, J. Espinasse, A. Silmi, et M. Bibal. 1987. Indicateurs cliniques des maladies respiratoires chez les jeunes bovins en lots. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 163: 277-282.
- FranceAgriMer. 2010. Filière bovine. [http://www.franceagrimer.fr/Projet-02/08publications/elevage/bovins\\_20103.pdf](http://www.franceagrimer.fr/Projet-02/08publications/elevage/bovins_20103.pdf)
- Frank, G., R. Briggs, et K. Gillette. 1986. Colonization of the nasal passages of calves with *Pasteurella haemolytica* serotype 1 and regeneration of colonization after experimentally induced viral infection of the respiratory tract. *American Journal of Veterinary Research* 47: 1704-1707.
- Frank, G., R. Briggs, et K. Gillette. 1987. *Pasteurella haemolytica* serotype 1 colonization of the nasal passages of virus-infected calves. *American Journal of Veterinary Research* 48: 1674-1677.
- Gagea, M., K. Bateman, T. van Dreumel, B. McEwen, S. Carman, M. Archambault, R. Shanahan, et J. Caswell. 2006. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 18: 18-28.
- Gardner, B., H. Dolezal, L. Bryant, F. Owens, et R. Smith. 1999. Health of finishing steers: effects on performance, carcass traits, and meat tenderness. *Journal of Animal Science* 77: 3168-3175.
- Griffin, D. 1997. Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *The Veterinary clinics of North America* 13: 367-377.
- Griffin, D., M. Chengappa, J. Kuszak, et D. McVey. 2010. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. *The Veterinary clinics of North America* 26: 381-394.

- Hodgson, P., P. Aich, A. Manuja, K. Hokamp, F. Roche, F. Brinkman, A. Potter, L. Babiuk, et P. Griebel. 2005. Effect of stress on viral-bacterial synergy in bovine respiratory disease: novel mechanisms to regulate inflammation. *Comparative and Functional Genomics* 6: 244-250.
- Janzen, E., P. Stockdale, S. Acres, et L. Babiuk. 1984. Therapeutic and prophylactic effects of some antibiotics on experimental pneumonic pasteurellosis. *The Canadian Veterinary Journal* 25: 78-81.
- Kelly, A., et E. Janzen. 1986. A review of morbidity and mortality rates and disease occurrence in North American feedlot cattle. *The Canadian Veterinary Journal* 27: 496-500.
- Larsen, J., A. Pedersen, R. Davies, P. Kuhnert, J. Frey, H. Christensen, M. Bisgaard, et J. Olsen. 2009. Evolution of the leukotoxin promoter in genus *Mannheimia*. *BioMed Central Evolutionary Biology* 9: 121-133.
- Maunsell, F., A. Woolums, D. Francoz, R. Rosenbusch, D. Step, D. Wilson, et E. Janzen. 2011. *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal medicine* 25: 772-783.
- McEwen, S., et P. Fedorka-Cray. 2002. Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Disease* 34 Suppl 3:S93-S106.
- Miles, D. 2009. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). *Animal Health Research Reviews* 10: 101-103.
- Murata, H., N. Shimada, et M. Yoshioka. 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal* 168: 28-40.
- Nicholas, R., et R. Ayling. 2003. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science* 74: 105-112.
- Nickell, J., et B. White. 2010. Metaphylactic antimicrobial therapy for bovine respiratory disease in stocker and feedlot cattle. *The Veterinary Clinics of North America* 26: 285-301.
- Panciera, R., et A. Confer. 2010a. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. *The Veterinary Clinics of North America* 26: 191-214.
- Phillips, I., M. Casewell, T. Cox, B. De Groot, C. Friis, R. Jones, C. Nightingale, R. Preston, et J. Waddell. 2004. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53: 28-52.
- Purdy, C. W., C. Scanlan, R. Loan, et G. Foster. 1993. Identification of *Pasteurella haemolytica* A1 isolates from market-stressed feeder calves by use of enzyme and antimicrobial susceptibility profiles. *American Journal of Veterinary Research* 54: 92-98.
- Quimby, W., B. Sowell, J. Bowman, M. Branine, M. Hubbert, et H. Sherwood. 2001. Application of feeding behaviour to predict morbidity of newly received calves in a commercial feedlot. *Canadian Journal of Animal Science* 81: 315-320.
- Radostits, O., C. Gay, K. Hinchcliff, et P. Constable. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs, and goats*. 10th ed. W.B. Saunders Ltd, London.

- Rice, J., L. Carrasco-Medina, D. Hodgins, et P. Shewen. 2007. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews* 8: 117-128.
- Sanderson, M., D. Dargatz, et B. Wagner. 2008. Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. *The Canadian Veterinary Journal* 49: 373-378.
- Schaefer, A., N. Cook, J. Church, J. Basarab, B. Perry, C. Miller, et A. Tong. 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Research in Veterinary Science* 83: 376-384.
- Schelcher, F., et J. F. Valarcher. 1999. Bronchopneumonies infectieuses des bovins. *Rencontre Recherches Ruminants*. pp 177-182.
- Schneider, M., R. Tait, W. Busby, et J. Reecy. 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: Impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *Journal of Animal Science* 87: 1821-1827.
- Schwarz, S., et E. Chaslus-Dancla. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research* 32: 201-225.
- Scientific committee on animal health and animal welfare. 2001. The welfare of cattle kept for beef production. European Commission. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scah/out54\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scah/out54_en.pdf)
- Sievers, A., N. Kristensen, H. Laue, et S. Wolfram. 2004. Development of an intraruminal device for data sampling and transmission. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13: 207-210.
- Smith, R. 1998. Impact of disease on feedlot performance: a review. *Journal of Animal Science* 76: 272-274.
- Smith, R. 2009. North American cattle marketing and bovine respiratory disease (BRD). *Animal Health Research Reviews* 10(2): 105-108.
- Taylor, J., R. Fulton, T. Lehenbauer, D. Step, et A. Confer. 2010a. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *The Canadian Veterinary Journal* 51: 1095-1102.
- Taylor, J., R. Fulton, T. Lehenbauer, D. Step, et A. Confer. 2010b. The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures? *The Canadian Veterinary Journal* 51: 1351-1359.
- Thompson, P., A. Stone, et W. Schultheiss. 2006. Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 84: 488-498.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2011. U.S. Beef and Cattle Industry: Background Statistics and Information. <http://www.ers.usda.gov/news/BSECoverage.htm>

- White, B., et D. Renter. 2009. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21: 446-453.
- Wittum, T., N. Woollen, L. Perino, et E. Littledike. 1996. Relationships among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter, and rate of weight gain in feedlot cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209: 814-818.
- Zadoks, R., et Y. Schukken. 2006. Use of molecular epidemiology in veterinary practice. *The Veterinary Clinics of North America* 22: 229-261.



# **Chapitre 1**

**Evaluation d'un système d'alerte permettant une détection précoce et sensible des bovins à l'engrais atteints de bronchopneumonie infectieuse**

**Publication n°1 :**

**Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses**

E. Timsit, S. Assié, R. Quiniou, H. Seegers, and N. Bareille

The Veterinary Journal (2010), 190 : 136-142

## 1. Résumé français

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'utilisation du système thermobolus pour la détection des bronchopneumonies infectieuses (BPI) survenant chez les bovins à l'engrais durant les premières semaines qui suivaient leurs entrées dans un atelier d'engraissement. Vingt-quatre bovins à l'engrais ont été équipés à la mise en lot d'un thermobolus permettant le suivi en continu et en temps réel de l'évolution de la température réticulo-ruminale. Ces bovins à l'engrais ont ensuite été suivis durant les 40 jours post-mise en lot. Dès qu'un épisode d'hyperthermie ruminale (HR) était détecté *via* le système thermobolus, un examen clinique à distance puis rapproché était effectué par un vétérinaire. Cet examen clinique était ensuite répété toutes les 12 à 24 heures jusqu'à la fin de l'épisode d'HR. Cinquante-deux épisodes d'HR ont été détectés chez 22 des 24 bovins suivis. Durant ces épisodes d'HR, des températures rectales élevées ( $40,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ ) ont été mesurées. Des BPI ont été diagnostiquées par l'examen clinique rapproché (bruits pulmonaires anormaux à l'auscultation + température rectale  $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ ) chez 21 jeunes bovins durant 38 des 52 épisodes d'HR détectés (valeur prédictive positive du système thermobolus pour la détection de bovins atteints de BPI = 73%). Les signes cliniques de BPI ont toujours été détectés après le début de l'HR avec un délai variant de 12 heures à 136 heures en fonction des signes cliniques. Le suivi en continu de l'évolution de la température réticulo-ruminale permet donc une détection précoce des bovins à l'engrais atteints de BPI durant les premières semaines suivant la mise en lot ; cependant, l'examen clinique des bovins à l'engrais détectés par ce système est nécessaire pour confirmer la présence de BPI.

## 2. Abstract

The use of reticulo-rumen temperature boluses to detect bovine respiratory disease (BRD) was investigated in young bulls following their entry into a fattening unit. Twenty-four bulls received a bolus at entry and were observed for 40 days. As soon as a reticulo-rumen hyperthermia (RH) episode was detected using the bolus, clinical examination was performed by a veterinarian and then repeated every 12–24 h until the end of RH episode. Fifty-two RH episodes were detected in 22 animals. High rectal temperatures ( $40.1 \pm 0.6$  °C) were observed during these episodes. BRD was diagnosed on the basis of clinical examination during 38/52 RH episodes in 21 animals (positive predictive value 73%). The onset of BRD signs always occurred after the onset of RH episodes, with a time-lag from 12 to 136 h, depending on BRD signs. Monitoring reticulo-rumen temperature permits early detection of BRD; however, clinical examination is required to confirm BRD.

**Keywords.** Bovine respiratory disease, Reticulo-rumen bolus, Temperature monitoring, Haptoglobin

### 3. Introduction

Bovine respiratory disease (BRD) is the most significant health problem in the beef industry (Duff and Galvayan, 2007). It is commonly observed throughout the first weeks after arrival at fattening units (Assié et al., 2009; Schneider et al., 2009) and accounts for 75–80% of cases of disease during this period (Edwards, 1996). Accurate detection of BRD is crucial for the implementation of effective treatment (Apley, 1997).

Current methods for identifying cattle with BRD, mainly based on visual appraisal performed by owners or feedlot staff, are not accurate and do not allow early detection of BRD (Wittum et al., 1996; Gardner et al., 1999; Thompson et al., 2006; Schneider et al., 2009). White and Renter (2009) highlighted the low sensitivity of BRD detection based on visual appraisal (61.8%) when compared to detection of BRD based on pulmonary lesions at slaughter. Furthermore, clinical signs of BRD detectable by visual appraisal often occur late in the course of the disease (Schaefer et al., 2007).

Approaches to improve detection of cattle with BRD include laboratory tests and measurement of body temperature (Duff and Galvayan, 2007). Serum haptoglobin (Hap) is one of the major positive acute phase proteins of inflammation in cattle (Murata et al., 2004). Determining Hap concentrations appears to be promising for the assessment of morbidity due to BRD (Carter et al., 2002; Berry et al., 2004) and for the early detection of calves suffering from bronchopneumonia and requiring treatment with anti-inflammatory drugs (Humblet et al., 2004). However, as for any laboratory procedure, this test requires time to complete, which limits its value for on-farm detection of BRD.

Infrared thermography scans (FLIR S60 camera, FLIR) and reticulo-rumen temperature boluses (Cow temp, Innotek; Cattle Temperature Monitoring System, MaGiix; Thermobolus, Medria SAS) have been developed for non-invasive real-time measurement of body temperature (Prendiville et al., 2002; Schaefer et al., 2007; Bewley et al., 2008a). Infrared thermography scanning of the orbital area allows early detection of BRD (Schaefer et al., 2007). The objective of the present study was to investigate the use of a reticulo-rumen temperature bolus for the detection of spontaneously occurring BRD in young bulls following their arrival at a fattening unit.

## 4. Materials and methods

### 4.1. Animals and housing

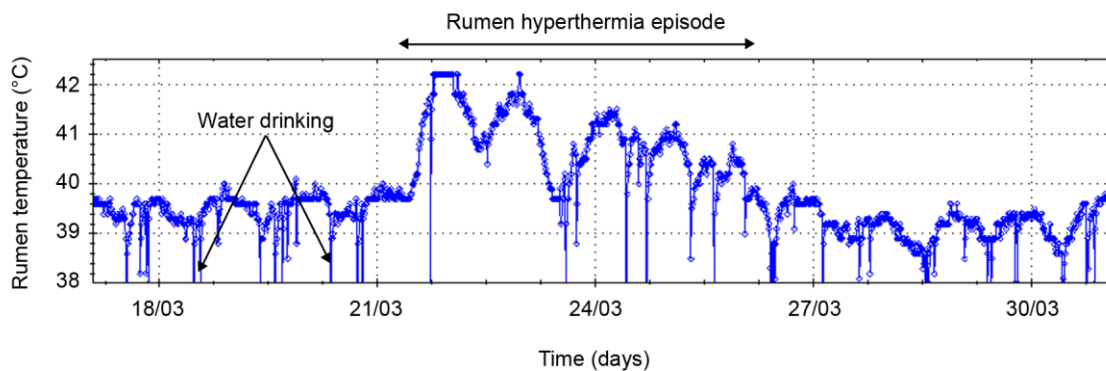
Twenty-five young bulls were studied during the first 40 days after arrival at a commercial fattening unit. The animals were purchased at an auction market and came from multiple farms (14 different origins). All bulls arrived on the same day in February 2009 at the fattening unit, with a mean  $\pm$  standard deviation (SD) body weight of  $268.8 \pm 26.8$  kg. On arrival, they were treated with an anthelmintic (Dora-mectin) and were vaccinated once with a vaccine containing modified-live bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and bovine respiratory syncytial virus (BRSV) (Risposal RS-BVD, Pfizer). On arrival, each young bull was administered a reticulo-rumen temperature bolus PO using a plastic balling gun.

During the study period, animals were housed together in a covered pen, open only on one side. After arrival, young bulls were initially fed grass–legume hay *ad libitum* for 7 days. Their diet was then gradually changed during weeks 2–5 after arrival; the amounts of corn silage, grass silage, concentrate (30% crude protein, 10% crude fibre, 11% starch, 4.5% crude fat; dry matter basis) and straw were slowly increased to reach 52%, 12%, 31% and 5% of the diet, respectively. During this transition period, the amount of hay was slowly decreased until none was given. The final total mixed ration (TMR) was formulated to meet Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) recommendations (Garcia et al., 2007). During the study period, the bulls were fed *ad libitum* and the quantity of feed provided each day was adjusted so that refusal corresponded to 10% of the amount distributed. Feed was mixed and delivered once daily at 9 h using a 15 cubic metre paddle mixer (Qualimix + PRO 150, Lucas G. SAS). Throughout the study period, young bulls had unlimited access to fresh water.

All procedures were performed in accordance with the European directive (86/609) and French Regulations and conformed to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No. 85-23, revised 1996).

#### 4.2. Reticulo-rumen temperature bolus

Reticulo-rumen temperatures were monitored using a commercial setup (Thermobolus, Medria SAS) consisting of 25 reticulo-rumen temperature boluses, a base station with an incorporated antenna and a personal computer. Each bolus had an internal battery (Lithium-Ion) for power and electronic circuitry, including a temperature sensor, low power ISM band transceiver and microprocessor for the control of all circuit functions and timing. Each bolus weighed 130 g (specific gravity 2.27) and had a length of 93 mm and an outside diameter of 28 mm. The boluses recorded the reticulo-rumen temperatures every 15 min and transmitted the data via radio link every 2 h to the base station. The base station was placed inside the barn 2 m above the ground and approximately 15 m away from the pen containing the experimental animals. It communicated the data received from the boluses via an RS232 port to the computer (Fig. 1).



**Figure 1.** Example of a measurement of reticulo-rumen temperature of a young bull (number 14) over 14 days. A reticulo-rumen hyperthermia episode (reticulo-rumen temperature above the reference temperature) was detected between March 17 (11:00) and March 31 (5:00) using the programme provided by the manufacturer (Medria Measurement Manager, Medria SAS). The abrupt decreases in reticulo-rumen temperatures are due to drinking water.

#### 4.3. Assessment of measurement accuracy of the boluses

To ensure the accuracy of the temperatures measured by the boluses, an *in vitro* test was performed before the ingestion of the boluses by the young bulls. Each bolus was immersed in a water bath and the temperatures measured by the boluses were compared to the reference measurement by a precision temperature measuring instrument (Pt100 and P600, Dostmann) over the range of 20–45 °C.

#### 4.4. Processing of reticulo-rumen temperature and on-line detection of reticulo-rumen hyperthermia episodes

Reticulo-rumen temperatures measured by the boluses were analysed in realtime using the manufacturer's programme (Medria Measurement Manager, Medria SAS). Since intake of cold or warm water leads to a large decrease in reticulo-rumen temperature, lasting for more than 3 h (Cunningham et al., 1964; Bewley et al., 2008b), the raw reticulo-rumen temperature data recorded by the boluses were firstly pre-processed to eliminate the effect of water drinking using an autoregressive process of order 4 and adaptive filtering (Blanchet and Charbit, 2006).

Secondly, a reference reticulo-rumen temperature was calculated for each animal as the mean of all the pre-processed temperatures obtained during the 4 x 24 previous hours (4 days sliding window). This corresponded to the best trade-off between minimal duration and best global F-measure ( $2 \times \text{sensitivity} \times \text{precision}$ ) / ( $\text{sensitivity} + \text{precision}$ ) (data not shown). To avoid the inclusion of abnormal data in the computation of reference temperatures, *i.e.* corresponding to RH, mean values outside the interval 38.7–39.6 °C were replaced by the closest interval bound. This interval was chosen because it corresponded to the day-to-day mean temperatures observed in young bulls outside RH episodes (data not shown). The computation of the reference began as soon as the boluses were ingested by the young bulls. During the first 4 days, it was computed with the available temperature data from an incomplete window.

Thirdly, the programme detected reticulo-rumen hyperthermia (RH) episodes by comparing pre-processed temperatures and reference temperatures for each animal using a method based on the cumulative sum (CUSUM) test (Page, 1954; Hinkley, 1971). The CUSUM test accumulates the difference (error) between the pre-processed temperature and the reference temperature and triggers an alarm whenever the cumulated sum becomes too important. The CUSUM test uses two parameters,  $\nu$  and  $\lambda$ , which determine the detector sensitivity and its responsiveness, respectively. The values used in this study were  $\nu = 0.65$  and  $\lambda = 1.3$ , based on the results of a previous multi-parametric study performed on 30 time series containing 248 RH events labelled by experts where a global F-measure equal to 0.85 was obtained (data not shown). Finally, in order to limit RH episode splits, often due to bad

pre-processing of close water drinking events, RH episodes separated by less than 6 h were merged into a single episode.

#### 4.5. Monitoring, clinical assessments, treatments and blood samples

Throughout the study period, the bulls were monitored by visual appraisal performed twice daily by the owner for the detection of clinical signs of BRD (nasal and/or ocular discharges, cough and depression) and also monitored by their reticulo-rumen temperatures, which were checked for RH episodes on the on-farm computer by a veterinarian on average every 6 h.

As soon as a RH episode lasting longer than 6 h was detected, a veterinarian performed a visual examination for detection of BRD clinical signs and then restrained the animal in a conventional cattle handling device to perform a close physical examination, including measuring rectal temperature and lung auscultation for detection of abnormal pulmonary sounds, such as increased bronchial sounds, crackles, wheezes or pleural friction rub (Curtis et al., 1986). A jugular blood sample was collected to determine the Hap concentration. Clinical examination and blood sampling were then repeated every 12–24 h until the end of the RH episode.

A diagnosis of BRD was established when the animal displayed concomitantly rectal temperature  $\geq 39.7$  °C and abnormal pulmonary sounds on lung auscultation. Animals having a rectal temperature  $\geq 39.7$  °C, depression and at least one other BRD clinical sign were treated with flunixin meglumine and florfenicol (Resflor, Intervet).

Fourteen days after the end of the last RH episode, a clinical examination was performed on each bull and a blood sample was collected. If no clinical signs of illness were detected, Hap concentrations measured on that day were used as reference values. A delay of 14 days was chosen because it corresponds to the maximum delay required for Hap to return to basal levels after infection with viruses and/or bacteria (Ganheim et al., 2003).



#### 4.6. Measurement of serum haptoglobin concentration

Blood was centrifuged at 1600 g for 20 min and the serum was stored at -20 °C until tested. Serum Hap concentrations were determined in duplicate using a commercial kit (Tridelta Phase Range Haptoglobin assay, Tridelta Development). The working range was 0.0–2.5 g/L. Intra- and inter-coefficients of variation within this range were <4% (Ganheim et al., 2003).

#### 4.7. Data analysis

The correlation between rectal temperatures recorded by a veterinarian during RH episodes and reticulo-rumen temperatures recorded by the boluses at the same time was estimated using a best fit linear regression line.

Maximum Hap concentrations obtained during RH episodes were stratified by duration of RH episodes. Episodes for which the onset could not be precisely identified were removed from the analysis (*i.e.* animals already having rectal hyperthermia and BRD signs at entry in the fattening unit). The means of maximum Hap values obtained from each duration group were compared to the mean of Hap reference values using non-parametric tests (Mann–Whitney U and Kruskal–Wallis tests) in SAS. The *P* value was corrected according to Bonferroni (Bland and Altman, 1995) and the difference was considered to be significant at  $P < 0.005$ . The percentage of RH episodes during which maximum Hap value had exceeded the threshold of 0.13 g/L was calculated, allowing differentiation between sick and healthy animals (Ganheim et al., 2003).

The positive predictive value (PPV) of RH episodes lasting longer than 6 h was calculated for the detection of BRD cases. A ‘true positive’ BRD case was defined as a case where both abnormal pulmonary sounds and rectal temperature  $\geq 39.7$  °C were found during the clinical examination performed by a veterinarian. The PPV corresponds to the proportion of predicted BRD cases by RH episodes that actually are BRD cases.

Exploratory data analysis with a box-and-whisker plots graph was applied to describe the duration between the onset of RH episodes and detection of BRD signs by clinical examination (nasal and ocular discharge, abnormal pulmonary sounds, cough and depression)

during the occurrence of the first BRD cases. The first BRD cases for which the onset of the RH episode could not be identified were removed from the analysis.

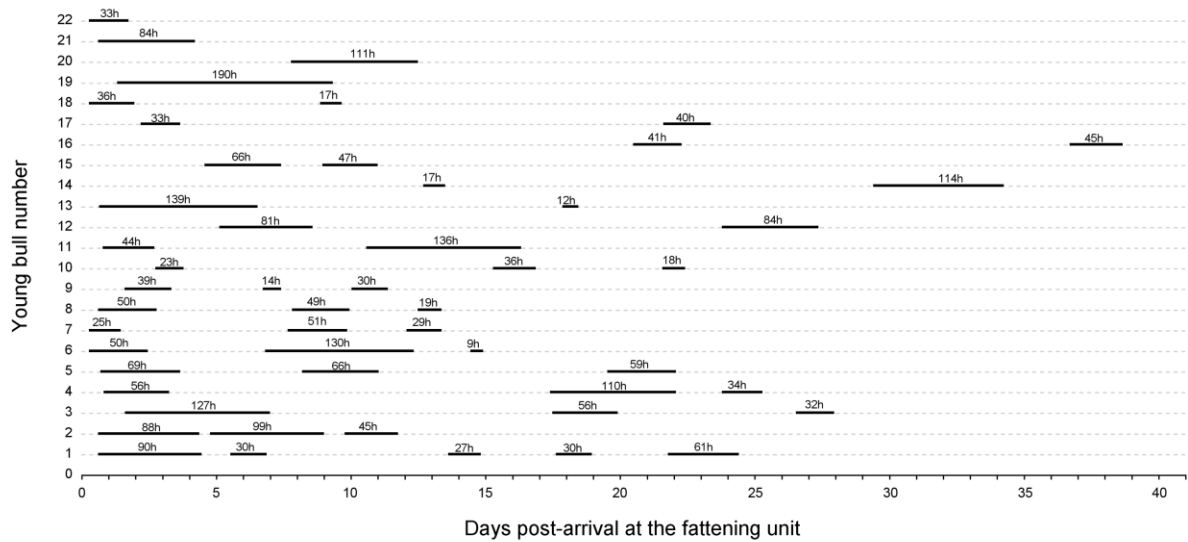
## 5. Results

### 5.1. Measurement accuracy of the boluses

In vitro, the reticulo-rumen boluses measured temperatures which varied within  $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$  from reference temperatures over the range of 20–45  $^{\circ}\text{C}$ .

### 5.2. Repartition and duration of reticulo-rumen hyperthermia episodes

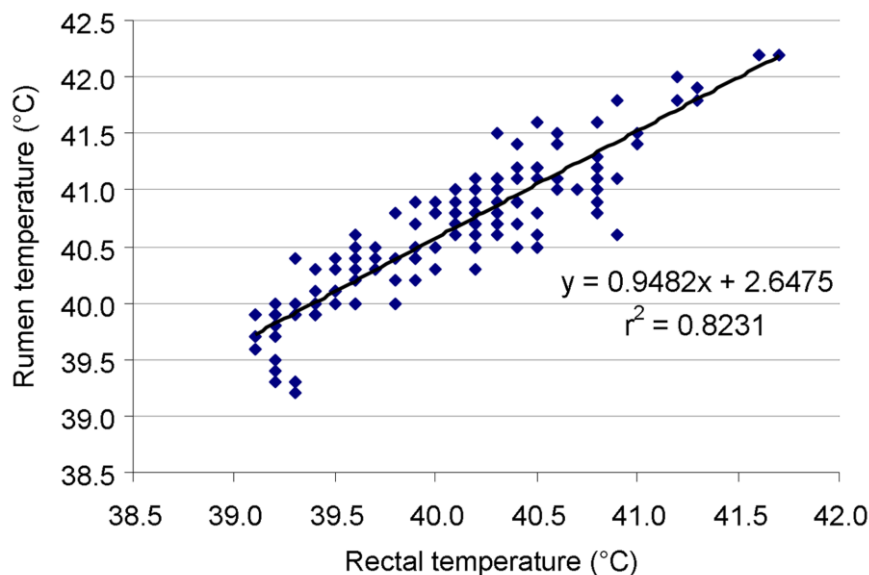
All boluses were easily administered at arrival and remained in the forestomachs of the bulls throughout the study period. Out of the 25 bulls entering the study, one bull was removed because of arthritis. The remaining 24 bulls were monitored throughout the 40 days after arrival at the fattening unit. In total, 52 RH episodes were observed; 22/24 had 1–5 RH episodes and multiple episodes were separated by intervals of 3–19 days (mean  $\pm$  SD,  $9 \pm 5$  days) (Fig. 2). Out of these RH episodes, the onset could be precisely determined in 48. Four bulls (numbers 6, 7, 18 and 22) already had rectal hyperthermia and BRD signs at the time of entry to the fattening unit. The mean duration of RH episodes was 60 h ( $\pm$  SD 43 h, range 9–190 h), with reticulo-rumen temperatures ranging from 39.4 to 42.4  $^{\circ}\text{C}$  (mean  $\pm$  SD,  $40.6 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ ).



**Figure 2.** Repartition and duration (h) of 52 reticulo-rumen hyperthermia episodes (represented by black lines) observed in 22 young bulls during 40 days following arrival at the fattening unit.

### 5.3. Relation between reticulo-rumen and rectal temperatures during reticulo-rumen hyperthermia episodes

Comparison of reticulo-rumen and rectal temperatures recorded at the same time during RH episodes (n = 135) revealed a correlation of  $r = 0.91$  ( $r^2 = 0.82$ ) (Fig. 3). Reticulo-rumen temperatures averaged  $0.57\text{ }^\circ\text{C} \pm 0.27$  (mean  $\pm$  SD) higher than rectal temperatures.



**Figure 3.** Correlation of reticulo-rumen and rectal temperatures recorded at the same time during reticulo-rumen hyperthermia episodes (n = 135).

#### 5.4. Serum haptoglobin concentrations during reticulo-rumen hyperthermia episodes

Increased Hap concentrations were observed during RH episodes (Table 1). The mean maximum Hap value obtained during the RH episodes lasting more than 24 h was higher than the mean of reference Hap values. Hap concentrations >0.13 g/L were reached in 35/48 (73%) RH episodes.

**Table 1.** Mean maximum serum haptoglobin (Hap) concentrations measured during reticulo-rumen hyperthermia (RH) episodes stratified by duration of episode and number (%) of episodes for which maximum Hap value exceeded the threshold of 0.13 g/L (Ganheim et al., 2003).

	Duration of reticulo-rumen hyperthermia episodes			
	(9h, 24h) <i>n</i> = 7	(24h, 48h) <i>n</i> = 15	(48h, 72h) <i>n</i> = 10	(72h, 190h) <i>n</i> = 16
Mean (SD) of maximal Hap concentrations	0.34 <sup>b</sup> (0.40)	0.47 <sup>a,b</sup> (0.46)	0.70 <sup>a,b,c</sup> (0.62)	1.38 <sup>a,c</sup> (0.65)
Number (%) of RH episodes with maximum Hap concentration >0.13 g/L	4 (57%)	9 (60%)	6 (60%)	16 (100%)

The mean maximum Hap values measured for each duration group were compared to the mean Hap reference values obtained during the study (mean ± SD: 0.04 ± 0.03) using non-parametric tests. Comparisons between each duration group were also performed.

<sup>a</sup> Significant difference ( $P < 0.005$ ) from the mean of reference Hap values obtained during the study.

<sup>b,c</sup> Values in the same row with different letters differ at  $P < 0.005$ .

#### 5.5. Clinical findings during reticulo-rumen hyperthermia episodes

One-hundred and thirty-five clinical examinations were performed during the 52 RH episodes. During these episodes, rectal temperatures were high (mean ± SD, 40.1 ± 0.6°C, range 39.1–41.8°C). Abnormal pulmonary sounds were detected in 42/52 (81%) RH episodes, nasal discharge in 34/52 (65%), depression in 20/52 (38%), cough in 17/52 (33%) and ocular discharge in 5/52 (10%). No obvious clinical sign of diseases other than BRD were observed during RH episodes.

#### 5.6. Positive predictive value of reticulo-rumen hyperthermia episodes for the detection of bovine respiratory disease

The PPV of RH episodes (>6 h) for the detection of BRD cases was 73%. Out of the 52 RH episodes, ‘true positive’ BRD cases (*i.e.* abnormal pulmonary sounds and rectal temperature ≥ 39.7 °C) were only diagnosed during 38 RH episodes in 21 young bulls. During

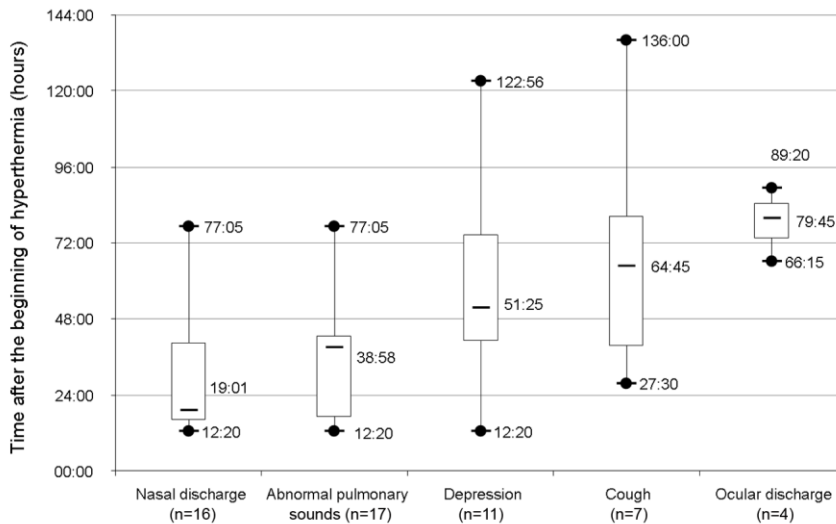
the 14 remaining RH episodes, abnormal pulmonary sounds with rectal temperatures ranging from 39.1 to 39.6 °C (median 39.4 °C) were found during clinical examinations in four RH episodes that lasted 12–130 h (median 44 h) from days 1 to 18 after arrival. In the 10 other RH episodes, which lasted 14–66 h (median 30 h) from days 4 to 26 after arrival, no abnormal pulmonary sounds or other obvious clinical signs of disease different from BRD were found during clinical examinations; rectal temperatures, however, ranged from 39.1 to 40.3 °C (median 39.4 °C).

#### 5.7. Duration between the onset of the reticulo-rumen hyperthermia episode and the onset of clinical signs of bovine respiratory disease

Animals suffering from BRD always had RH episodes prior to the onset of BRD clinical signs. The time between the onset of the RH episode and the detection of the first BRD clinical sign varied according to the BRD clinical signs (Fig. 4). The first BRD clinical sign observed after the onset of RH episodes in the 17 young bulls for which the onset of the first BRD occurrence could be determined was nasal discharge, which was observed on average 24 h after the beginning of RH episodes (median 19 h, range 12–77 h). Other BRD clinical signs were abnormal pulmonary sounds (median 39 h, range 12–77 h), depression (median 51 h, range 12–123 h), cough (median 65 h, range 27–136 h) and eventually ocular discharge (median 80 h, range 66–89 h).

## 6. Discussion

In this study, continuous monitoring of reticulo-rumen temperature using reticulo-rumen temperature boluses enabled early detection of spontaneously occurring BRD in young bulls in a fattening unit. Changes in temperature consistent with BRD were detected several hours before the onset of clinical signs. Continuous monitoring of rumen temperature has been investigated previously (Prendiville et al., 2002; Bewley et al., 2008a), but the present study is the first time that reticulo-rumen temperature boluses have been evaluated for the detection of BRD.



**Figure 4.** Box-and-whisker plots show the duration between the onset of reticulo-rumen hyperthermia episodes and the detection of clinical signs of respiratory diseases by clinical examination in the first occurrence of bovine respiratory disease in 17 young bulls (h:min). Each box stretches from the 25th percentile at the lower edge to the 75th percentile at the upper edge; the median is shown as a line across the box. There are two adjacent values below and above the box (the ‘whiskers’): the largest value below the upper inner limit (+1.5 times the box) and the smallest value above the lower inner limit (-1.5 times the box). The minimum and maximum values are represented by black dots.

Although reticulo-rumen temperature may be influenced by water and food intake (Dale et al., 1954), the strong correlation between reticulo-rumen and rectal temperatures measured during RH episodes ( $r = 0.91$ ,  $n = 135$ ) in the present study is in agreement with the results of previous studies (Sievers et al., 2004; Bewley et al., 2008a) and confirms reticulo-rumen temperature as an effective measurement of core body temperature. Sievers et al. (2004) showed a similar correlation ( $r = 0.92$ ,  $n = 36$ ), whereas Bewley et al. (2008a) observed a lower correlation ( $r = 0.64$ ,  $n = 2042$ ). These differences in correlation estimates may be explained by the number of observations from which the correlation was estimated. Bewley et al. (2008a) performed 2042 observations vs. 135 in our study and 36 for the study of Sievers et al. (2004). Another explanation for the higher correlation found in our study could be a possible stronger correlation between reticulo-rumen and rectal temperatures during RH episodes. Bewley et al. (2008a) suggested that correlations between reticulo-rumen and rectal temperature were greater when reticulo-rumen temperatures were higher.

Since reticulo-rumen temperature is influenced by diet (Dale et al., 1954), subacute ruminal acidosis (SARA), which is frequent in fattening units, may lead to an increase of the rumen temperature in the absence of an elevation in core body temperature. In a study conducted in six rumen-fistulated lactating cows, AlZahal et al. (2008) showed that cows

receiving a SARA diet had higher mean rumen temperatures (39.2 °C vs. 38.5 °C) and spent longer at greater than 39.0 °C (884 vs. 418 min/d) and at greater than 39.2 °C (723 vs. 263 min/d) than control cows. However, in our study, the RH episodes detected were more likely to be due to episodes of fever, *i.e.* hyperthermia and inflammation (McMillan, 1985), than to elevations of reticulo-rumen temperature due to SARA. During RH episodes, rectal temperatures averaged 40.1 °C, which is above the normally maintained core body temperature in cattle (Lefcourt and Adams, 1996). Furthermore, in our study, an increase in Hap concentration was almost always present during RH episodes, which is not a constant finding during SARA (Plaizier et al., 2008). Moreover, the TMR offered to the young bulls did not present excessive amounts of non-structural carbohydrates, highly fermentable forages or insufficient dietary coarse fibre, which are the main causes of SARA (Kleen et al., 2003) and a transition period of 21 days was provided to allow for the adaptation of the rumen to the TMR.

An increase in core body temperature is not specific for BRD. However, an increase in core body temperature following commingling of young bulls in fattening units is essentially due to BRD (Smith, 1998). This explains the high PPV (0.73) of RH episodes for the detection of BRD in the present study. This high PPV is in accordance with the study performed by Schaefer et al. (2007), where a PPV of 0.80 was obtained for detection of BRD by an increase in core body temperature measured by infrared thermography. These high PPVs confirm the value of monitoring core body temperature for the detection of BRD in young bulls following commingling.

In the present study, the remaining RH episodes, which were not predictive for BRD (14/52), may be explained by agonistic interactions, which are frequent following mixing of young bulls (Mounier et al., 2005), fever episodes following vaccination performed at entry, or diseases other than BRD. Social behaviour of young bulls, particularly agonistic interactions (e.g. fighting, butting and threatening) and mounting could lead to an increase in core body temperature for several hours. Such putative increases in core body temperature could explain some RH episodes having lasted <24 h where no clinical signs of disease were found during repeated clinical examinations. However, these interactions between bulls are unlikely to explain RH having lasted more than 24 h. Furthermore, the implications of grouping on behaviour seem to be restricted to a short period, 1 or 2 weeks after arrival in the fattening unit (Mounier et al., 2005).

Episodes of fever due to vaccination performed at entry in the fattening unit or due to diseases other than BRD (e.g. internal abscesses) could also explain some ‘false positive’ RH episodes for the detection of BRD. Fever episodes lasting <48 h had been reported by the manufacturer following immunisation with a vaccine containing the same modified live vaccine virus together with modified live Parainfluenza 3 virus (Risposal 3, Pfizer). Because of these different sources of ‘false positive’ alerts for BRD, it seems to be necessary to further confirm the presence of this disease during RH episodes by clinical examination.

The continuous monitoring of reticulo-rumen temperatures enabled early detection of BRD in young bulls. Based on our results, clinical signs of BRD had a more or less late appearance in the course of the disease. Nasal discharge and abnormal pulmonary sounds appeared first, followed by depression, coughing and eventually ocular discharge. Therefore, taking into account depression only for the detection of respiratory illnesses, morbid animals would have been detected, on average, 51 h after the onset of RH episodes. These observations match those of previous studies, where infrared thermography (Schaefer et al., 2007) and radiotelemetric monitoring of feeding behaviour (Quimby et al., 2001) made possible the detection of BRD in affected animals 3–5 days prior to clinical outcome.

The early detection of young bulls suffering from BRD could allow early selection of cattle requiring treatment. This early selection could reduce the numbers of ‘pulled too late’ animals, which spend a long time as subclinical BRD cases prior to being selected for treatment and, therefore, could improve the first-treatment response and decrease the case fatality rate and rate of development of chronic BRD (Apley, 1997). However, it is important to further confirm the clinical and economic benefits of such an early selection for treatment.

In this study, a high proportion of young bulls (87.5%) were diagnosed with BRD. This high prevalence of BRD could be explained, firstly, by the selection of ‘high risk’ young bulls and, secondly, by improved detection of BRD. The young bulls entering our study were chosen in order to provide a study group displaying a high incidence of BRD; the bulls were purchased at an auction market from multiple sources, transported by truck and weighed <300 kg at entry. All these three factors are recognised as major risk factors for BRD (Sanderson et al., 2008). Detection of BRD was probably improved by the continuous monitoring of reticulo-rumen temperatures and the numerous clinical examinations performed by a



veterinarian. As the PPV of a test is directly and positively related to the prevalence of the disease, the PPV of RH episodes (>6 h) for the detection of BRD calculated in this study is probably high in comparison to a population displaying an incidence of BRD of 30–60%. Therefore, a question would remain regarding the RH episode as an early indicator of BRD in groups of animals with a lower prevalence of BRD.

Unlike PPV, sensitivity and specificity are absolute properties of a test and do not vary with the prevalence of disease (Nielsen et al., 2004). However, as the young bulls without RH episodes were not examined clinically, ‘true negative’ and ‘false negative’ results and, therefore, the sensitivity and specificity of RH episodes for the detection of BRD, could not be determined in this study. Nevertheless, it should be noticed that the young bulls were monitored daily by the owner to ensure that all BRD affected animals detectable by visual appraisal were detected by the monitoring of reticulo-rumen temperatures.

Further research is needed before reticulo-rumen temperature boluses are used for the detection of BRD in the field. Firstly, the retention rate of the boluses used in this study has to be studied on a larger scale and during a period >40 days. However, an acceptable retention rate could be expected, since the specific gravity of the boluses was 2.27, which is greater than the 2.0 recommended by Riner et al. (1982). Secondly, according to Antonini et al. (2006), rumen electronic devices may alter, via mechanical action, the reticulo-rumen mucosa and rumination patterns. Therefore, it seems to be necessary to further study the potential *in vivo* side effects of the boluses used in this study. However, the use of these boluses in clinical trials or epidemiological studies could overcome the subjectivity of BRD detection by visual appraisal previously pointed out by Duff and Galyean (2007).

## **7. Conclusions**

Reticulo-rumen temperature boluses allowed early detection of young bulls suffering from BRD following entry into fattening units. This improvement in BRD detection could be of interest for the early selection of cattle requiring treatment. However, as an increase in core body temperature is not specific of BRD, it is necessary to confirm the presence of BRD during RH episodes by clinical examination.

### *Conflict of interest statement*

*None of the authors of this paper has a financial or personal relationship with other people or organisations that could inappropriately influence or bias the content of this paper. This study was part of a larger project partly supported by Intervet Schering-plough Animal Health dealing with BRD treatment and none of the authors has a financial or personal relationship with the company commercialising the reticulo-rumen boluses used.*

### *Acknowledgements*

*The authors thank Anne Lehebel, Vincent Lavergne and Tristan Moreau for their technical assistance. The financial support from Intervet Schering-plough Animal Health is gratefully acknowledged.*

## **8. References**

- AlZahal, O., Kebreab, E., France, J., Froetschel, M., McBride, B.W., 2008. Ruminant temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis. *Journal of Dairy Science* 91, 202-207.
- Antonini, C., Tralbalza-Marinucci, M., Franceschini, R., Mughetti, L., Acuti, G., Faba, A., Asdrubali, G., Boiti, C., 2006. In vivo mechanical and in vitro electromagnetic side-effects of a ruminal transponder in cattle. *Journal of Animal Science* 84, 3133-3142.
- Apley, M., 1997. Antimicrobial therapy of bovine respiratory disease. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 13, 549-574.
- Assié, S., Seegers, H., Makoschey, B., Desire-Bousquie, L., Bareille, N., 2009. Exposure to pathogens and incidence of respiratory disease in young bulls on their arrival at fattening operations in France. *Veterinary Record* 165, 195-199.
- Babiuk, L.A., Lawman, M.J., Ohmann, H.B., 1988. Viral-bacterial synergistic interaction in respiratory disease. *Advances in Virus Research* 35, 219-249.
- Berry, B.A., Confer, A.W., Krehbiel, C.R., Gill, D.R., Smith, R.A., Montelongo, M., 2004. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response. *Journal of Animal Science* 82, 845-850.
- Bewley, J.M., Einstein, M.E., Grott, M.W., Schutz, M.M., 2008a. Comparison of reticular and rectal core body temperatures in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91, 4661-4672.
- Bewley, J.M., Grott, M.W., Einstein, M.E., Schutz, M.M., 2008b. Impact of intake water temperatures on reticular temperatures of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91, 3880-3887.
- Blanchet, G., Charbit M., 2006. P order AR (Autoregressive) Process. In: Blanchet, G., Charbit M. (Eds.), *Digital Signal And Image Processing Using Matlab*. Iste Publishing Company, London, pp. 305-312.
- Bland, J.M., Altman, D.G., 1995. Multiple significance tests: The Bonferroni method. *British Medical Journal* 310, 170.

- Carter, J.N., Meredith, G.L., Montelongo, M., Gill, D.R., Krehbiel, C.R., Payton, M.E., Confer, A.W., 2002. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. *American Journal of Veterinary Research* 63, 1111-1117.
- Curtis, R.A., Viel, L., McGuirk, S.M., Radostits, O.M., Harris, F.W., 1986. Lung sounds in cattle, horses, sheep and goats. *Canadian Veterinary Journal* 27, 170-172.
- Cunningham, M.D., Martz, F.A., Merilan, C.P., 1964. Effect of drinking water temperature on ruminant digestion, intraruminal temperature and water consumption of non-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 47, 382-387.
- Dale, H.E., Stewart, R.E., Brody, S., 1954. Rumen temperature. I. Temperature gradients during feeding and fasting. *Cornell veterinarian* 44, 368-374.
- Duff, G.C., Galyean, M.L., 2007. Board-invited review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 85, 823-840.
- Edwards, J.E., 1996. Respiratory diseases of feedlot cattle in the central USA. *Bovine Practice* 30, 5-7.
- Ganheim, C., Hulten, C., Carlsson, U., Kindahl, H., Niskanen, R., Waller, K.P., 2003. The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or *Mannheimia haemolytica*. *Journal of Veterinary Medicine B. Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50, 183-190.
- Garcia, F., Agabriel, J., Micol, D., 2007. [Alimentation des bovins en croissance et à l'engrais]. In: INRA (Eds.). *Feeding of Cattle, Sheep and Goats: Animals' Requirements and Feed Value*. Quae Editions, Versailles, pp. 89-120.
- Gardner, B.A., Dolezal, H.G., Bryant, L.K., Owens, F.N., Smith, R.A., 1999. Health of finishing steers: Effects on performance, carcass traits, and meat tenderness. *Journal of Animal Science* 77, 3168-3175.
- Hinkley, D.V., 1971. Inference about the change-point from cumulative sum test. *Biometrika* 58, 509-523.
- Humblet, M.F., Coghe, J., Lekeux, P., Godeau, J.M., 2004. Acute phase proteins assessment for an early selection of treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions. *Research in Veterinary Science* 77, 41-47.
- Kleen, J.L., Hooijer, G.A., Rehage, J., Noordhuizen, J.P., 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *Journal of Veterinary Medicine Series A. Physiology, Pathology and Clinical Medicine* 50, 406-414.
- Lefcourt, A.M., Adams, W.R., 1996. Radiotelemetry measurement of body temperatures of feedlot steers during summer. *Journal of Animal Science* 74, 2633-2640.
- McMillan, F.D., 1985. Fever: Pathophysiology and rational therapy. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 7, 845-855.

- Mounier, L., Veissier, I., Boissy, A., 2005. Behavior, physiology, and performance of bulls mixed at the onset of finishing to form uniform body weight groups. *Journal of Animal Science* 83, 1696-1704.
- Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M., 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *The Veterinary Journal* 168, 28-40.
- Nielsen, S.S., Houe, H., Ersbøll, A.K., Toft, N., 2004. Evaluating diagnostic tests. In: Houe, H., Ersbøll, A.K., Toft, N. (Eds.), *Introduction to Veterinary Epidemiology*. Biofolia, Frederiksberg, pp. 133-151.
- Page, E.S., 1954. Continuous inspection schemes. *Biometrika* 41, 100-115.
- Plaizier, J.C., Krause, D.O., Gozho, G.N., McBride, B.W., 2008. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal* 176, 21-31.
- Prendiville, D.J., Lowe, J., Earley, B., Sparhr, C., Kettlewell, P., 2002. Radiotelemetry systems for measuring body temperature. In: Teagasc (Eds.) *Beef Production Series No. 57, Project 4806*. Teagasc, Grange Research Center, Dunsany, Co., Meath, pp. 1-14.
- Quimby, W., Sowell, B.F., Bowman, J.G., Branine, M.E., Hubbert, M.E., Sherwood, H.E., 2001. Application of feeding behaviour to predict morbidity of newly received calves in a commercial feedlot. *Canadian Journal of Animal Science* 81, 315-320.
- Riner, J.L., Byford, R.L., Stratton, L.G., Hair, J.A., 1982. Influence of density and location on degradation of sustained-release boluses given to cattle. *American Journal of Veterinary Research* 43, 2028-2030.
- Sanderson, M.W., Dargatz, D.A., Wagner, B.A., 2008. Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. *Canadian Veterinary Journal* 49, 373-378.
- Schaefer, A.L., Cook, N.J., Church, J.S., Basarab, J., Perry, B., Miller, C., Tong, A.K., 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Research in Veterinary Science* 83, 376-384.
- Schneider, M.J., Tait, R.G., Jr., Busby, W.D., Reecy, J.M., 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: Impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *Journal of Animal Science* 87, 1821-1827.
- Sievers, A.K., Kristensen, N.B., Laue, H.J., Wolfram, S., 2004. Development of an intraruminal device for data sampling and transmission. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13, 207-210.
- Smith, R.A., 1998. Impact of disease on feedlot performance: a review. *Journal of Animal Science* 76, 272-274.
- Thompson, P.N., Stone, A., Schultheiss, W.A., 2006. Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 84, 488-498.

- White, B.J., Renter, D.G., 2009. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21, 446-453.
- Wittum, T.E., Woollen, N.E., Perino, L.J., Littledike, E.T., 1996. Relationships among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter and rate of weight gain in feedlot cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209, 814-818.



## **Chapitre 2**

**EVALUATION DE LA SOUS-DETECTION DES BOVINS A  
L'ENGRAS ATTEINTS DE BRONCHOPNEUMONIE INFECTIEUSE  
ET ESTIMATION DE L'IMPACT DE CETTE SOUS-DETECTION  
SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE**

### **Publication n°2 :**

**Visually undetected fever episodes in newly-received beef bulls at a fattening operation: Occurrence, duration and impact on performance**

**E. Timsit, N. Bareille, H. Seegers, A. Lehebel, and S. Assié**

Journal of Animal Science (2011), 89 : 4272-4280.

## 1. Résumé français

Le suivi de la température corporelle des bovins à l'engrais durant les premières semaines suivant leurs arrivées dans un atelier d'engraissement permet la détection d'épisode de fièvre non-associées à des signes cliniques détectés par examen visuel (FENO) réalisée par les personnes en charge de la surveillance des animaux. Aucune information concernant l'occurrence, la durée et l'impact sur les performances de croissance de ces FENO n'est disponible dans la littérature. Ces informations sont néanmoins cruciales pour évaluer l'intérêt potentiel de la détection et du traitement de ces FENO. Les objectifs de cette étude étaient donc de décrire (i) l'occurrence et la durée des FENO et (ii) d'évaluer leurs impacts sur le gain moyen quotidien (GMQ) des bovins à l'engrais. Cent douze bovins à l'engrais (poids vif moyen à l'entrée =  $346 \pm 36$  kg) ont été suivis durant les 40 jours après leurs arrivées dans 3 ateliers d'engraissement des Pays de la Loire (France). Au jour 1 (J1), chaque bovin a reçu par voie orale un thermobolus intraruminal qui a permis la mesure en continu et l'enregistrement des températures réticulo-ruminales. Les animaux ont aussi été pesés à J1 et au jour 40 (J40). Dès leurs arrivées dans les ateliers d'engraissement, les bovins ont été suivis deux fois par jour par examen visuel afin de détecter des signes cliniques apparents de maladie. Les bovins détectés malades par examen visuel qui avaient une température rectale  $\geq 39,7$  °C et des signes cliniques de bronchopneumonie infectieuse (BPI) ont été traités à l'aide d'antibiotique. Après J40, les données de températures réticulo-ruminales mesurées par les thermobolus ont été analysées rétrospectivement *via* un « cumulative sum » test afin de détecter des augmentations importantes de la température réticulo-ruminale considérée comme des épisodes de fièvre dans cette étude. De nombreux épisodes de fièvre ( $n = 449$ ) ont été détectés rétrospectivement chez 110 bovins. Parmi ces 449 épisodes de fièvre, 74% n'étaient pas associés à des signes cliniques détectés visuellement, et ont donc été identifiés comme FENO. Ces FENO étaient souvent transitoires (75% ont duré moins de 47 heures). Cependant, 25% ont duré de 47 à 263 heures. Parmi les 112 bovins de l'étude, 88 ont été traités pour BPI avec 20 et 7 animaux traités, respectivement, 2 et 3 fois. Chez les bovins traités, les épisodes de fièvre ont commencé 4 à 177 heures (moyenne = 50 heures) avant le traitement pour BPI. La durée des FENO était associée ( $P = 0,002$ ) à une réduction du GMQ précoce calculé entre J1 et J40: -33 g / j pour chaque jour de FENO. Nos résultats ont démontré que les FENO survenaient fréquemment chez les bovins à l'engrais durant les premières semaines suivant la mise en lot et pouvaient durer jusqu'à 11 jours. L'impact des FENO sur le GMQ observé dans notre étude indique un intérêt potentiel à la détection et au traitement de ces FENO, en



particulier ceux de longue durée. Toutefois, des travaux de recherche complémentaires sont nécessaires afin de déterminer la pertinence médicale et économique d'un tel traitement.

## 2. Abstract

Monitoring body temperature of newly-received cattle allows for identification of fever episodes not visually detected by feedlot personnel (FENO). Information concerning the occurrence, duration and impact on performance of these FENO are not available in the literature. Such information is crucial to assess the potential benefit of the identification and treatment of FENO. Therefore, the objectives of this study were to describe the occurrence and duration of FENO and to evaluate their impact on ADG. One hundred twelve beef bulls (initial BW =  $346 \pm 36$  kg) were studied throughout 40 d after arrival at 3 French fattening operations. At d 1, each animal was administered orally a reticulo-rumen bolus, which allowed continuous measurement and recording of reticulo-rumen temperature. Animals were weighed on d 1 and 40. Bulls were observed twice daily by personnel for visual signs of apparent disease. Bulls that appeared ill, had a rectal temperature  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$ , and demonstrated symptoms consistent with bovine respiratory disease (BRD) were treated with antibiotics. After d 40, data obtained from the boluses were retrospectively analyzed using a cumulative sum test to detect significant increases in reticulo-rumen temperature considered as fever episodes. Numerous fever episodes ( $n = 449$ ) were retrospectively detected in 110 bulls. Of these 449 fever episodes, 74% were not associated with any visually detected clinical signs of disease, and thus were identified as FENO. These FENO were often transitory (75% lasted less than 47 h). However, 25% lasted from 47 to 263 h. Of the 112 bulls, 88 were treated for BRD with 20 and 7 animals treated, respectively, 2 and 3 times. In treated animals, fever episodes began 4 to 177 h (mean = 50 h) before BRD treatment. The duration of FENO was associated ( $P = 0.002$ ) with a lesser ADG (d 1 to 40): -33 g/d for daily FENO duration. Our results demonstrated that FENO occurred frequently in bulls during the first weeks after entrance into a fattening operation and can last up to 11 d. The impact of FENO observed on ADG in this study indicated a potential benefit of treating affected animals, specifically those with FENO of long duration. However, further research is needed to determine the medical and economic relevance of such treatment.

**Keywords.** Average daily gain, bovine respiratory disease, fever, reticulo-rumen temperature bolus

### **3. Introduction**

Bovine respiratory disease (BRD), also referred to as shipping fever, continues to be one of the most economically significant health problems in cattle entering fattening operations (Duff and Galyean, 2007). Bovine respiratory disease is commonly observed throughout the first weeks after arrival and accounts for 75 to 80% of overall illness cases during this period (Assié, 2009; Babcock, 2009).

Detection of BRD in fattening operations is not always accurate (Duff and Galyean, 2007). Indeed, current methods for identifying cattle with BRD often rely on observation of clinical illness performed by owners or feedlot staff, which have shown both low sensitivity (62%) and low specificity (63%) to identify BRD (White and Renter, 2009).

To improve BRD detection, new tools such as reticulo-rumen temperature boluses and infrared thermography scans were developed, which allow identification of changes in core body temperature associated with adverse health events (Schaefer et al., 2007; Rose-Dye et al., *in press*; Timsit et al., *in press*). In previous studies (Schaefer et al., 2007; Timsit et al., *in press*), these tools enabled the early detection of fever episodes associated with apparent symptoms of BRD, such as labored breathing, coughing, decreased appetite, depression, nasal or ocular discharge. Furthermore, they also facilitated identification of fever episodes that were not visually detected by feedlot personnel (FENO). Limited information is available that describes the occurrence and duration of FENO and associated production consequences. Such information is nevertheless crucial to assess the potential benefit of the identification and treatment of FENO. Therefore, the objectives of this study were, firstly, to describe the occurrence and duration of FENO and, secondly, to evaluate their impact on bulls' ADG. To facilitate identification of FENO, the bulls in this study were equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

### **4. Materials and methods**

All procedures in the present experiment were performed in accordance with the European directive (86/609) and the French regulation and conform to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No.85-23, revised 1996).

#### 4.1. Location and timing

This study was conducted on 3 commercial fattening operations in North-Western France between November 2007 and March 2008. The operations were part of a cooperative. On these operations, weaned beef bulls entered the fattening operation at 7 to 10 mo of age and were slaughtered at 18 to 22 mo at a BW of about 700 to 750 kg.

#### 4.2. Animals

One hundred twelve Charolais ( $n = 102$ ) and Charolais x Limousin ( $n = 10$ ) bulls (initial BW  $\pm$  SD =  $346 \pm 36$  kg; initial age  $\pm$  SD =  $273 \pm 41$  d) were studied throughout the first 40 d after arrival at fattening operations (Table 1). Bulls which came from multiple origins were purchased at auction markets. After purchase, bulls were transported by truck over a mean distance of  $329 \pm 104$  km (range = 70 to 515 km) to a central facility where they were sorted into groups based on BW. Bulls were allowed free access to hay and water at the central facility for 36 to 48 h. Then, bulls were transported by truck for travel distances less than 50 km to the 3 fattening operations. In total, 12 groups of 8 to 12 bulls were studied (Table 1).

**Table 1.** Characteristics of 12 groups of bulls on their arrival in 3 fattening operations.

Fattening operation	Group	No. of bulls per group	Date of arrival	No. of different origins per group	Mean BW at arrival $\pm$ SD, kg	Mean age at arrival $\pm$ SD, d	Mean travel distance $\pm$ SD, km
1	1	9	11/16/2007	1	$314 \pm 28$	$244 \pm 16$	$400 \pm 00$
	2	9	11/16/2007	2	$326 \pm 26$	$246 \pm 30$	$407 \pm 17$
	3	9	01/17/2008	7	$378 \pm 14$	$284 \pm 32$	$119 \pm 55$
	4	9	01/17/2008	6	$355 \pm 43$	$265 \pm 38$	$139 \pm 48$
2	5	8	11/21/2007	6	$330 \pm 19$	$263 \pm 22$	$371 \pm 54$
	6	8	11/21/2007	5	$334 \pm 20$	$261 \pm 21$	$367 \pm 48$
	7	8	11/21/2007	5	$350 \pm 25$	$276 \pm 34$	$361 \pm 51$
	8	8	12/06/2007	5	$359 \pm 22$	$286 \pm 15$	$375 \pm 68$
	9	8	12/06/2007	2	$364 \pm 27$	$288 \pm 19$	$322 \pm 41$
3	10	12	11/27/2007	3	$379 \pm 34$	$291 \pm 61$	$370 \pm 18$
	11	12	11/27/2007	4	$350 \pm 31$	$284 \pm 36$	$385 \pm 36$
	12	12	01/11/2008	9	$303 \pm 19$	$280 \pm 51$	$333 \pm 11$

After arrival at fattening operations, bulls were allowed to rest for at least 24 h with free access to hay and water before processing. This processing was done at 1500 h and consisted of individually weighing, deworming with 0.5 mg.kg<sup>-1</sup> of BW of eprinomectine pour-on (Eprinex, Merial, Villeurbanne, France) and oral administration of a reticulo-rumen temperature bolus (Thermobolus, Medria SAS, Chateaugiron, France) using a typical plastic balling gun. None of the bulls received any vaccine or antibiotic during processing. Individual

weighing was repeated at 1500 h at the end of the study period (d 40). Because BW varies depending on gut fill, the time of weighing was standardized in regards to time of feeding (6 h after the ration was provided).

During the fattening period, groups of bulls were kept in covered pens. Pens varied from 30 to 48 m<sup>2</sup> including a lying area with straw bedding and an exercise area with a concrete floor, a water bowl, and a trough with 8 to 12 eating places. After arrival, bulls were initially fed grass-legume hay for *ad libitum* intake for 7 d. Their ration was then gradually changed during wk 2 to 5 after arrival; the amounts of corn silage, concentrate (30% CP, 10% crude fiber, 11% starch, 4.5% crude fat; DM basis) and straw were slowly increased to reach, respectively, 62%, 30% and 8% of the ration, whereas the amount of hay was slowly decreased until none was given. This final ration was formulated to meet the French National Institute for Agriculture Research recommendations (Garcia et al., 2007). During the study period, the bulls were fed for *ad libitum* intake, and the quantity of feed provided each day was adjusted so that refusal corresponded to 10% of the amount distributed. Feed was mixed and delivered once daily at 0900 h. Throughout the study period, animals had unlimited access to water. During the study period, the temperature inside the barns ranged from 2 to 19°C.

#### 4.3. Reticulo-rumen temperature bolus

Reticulo-rumen temperatures were continuously recorded during the 40 d after entry of bulls at fattening operations by the use of commercial setups (Thermobolus, Medria SAS, Chateaugiron, France) as previously described (Timsit et al., *in press*). Briefly, each setup consisted of (a) a set of reticulo-rumen temperature boluses to be administered using a typical plastic balling gun (40 per fattening operation), (b) a base station with an incorporated antenna placed 2 m high above the ground and, approximately, 15 m away from the bulls' pen, and (c) a personal computer link to the base station by a RS32 cable.

To ensure the accuracy of the temperatures measured by the reticulo-rumen boluses, an *in vitro* test was performed before the ingestion of the boluses by the bulls as previously described (Timsit et al., *in press*). Briefly, each bolus was immersed in a water bath and the temperatures measured by the boluses were compared to the reference measurement by a

precision temperature measuring instrument (Pt100 & P600, Dostmann Electronic GmbH, Wertheim-Reicholzheim, Germany) over the range of 20 to 45 °C.

#### 4.4. Clinical assessment, treatment and sampling procedure

Bulls were observed twice daily by feedlot personnel for the detection of signs of apparent disease. Animals showing one or more of the following signs were removed from the pen: depression, decreased rumen fill compared with pen-mates, nasal or ocular discharge, cough and increased respiratory rate. Identified animals were walked to and restrained in a chute, a distance of less than 25 m from their pens. Then, they were physically examined by a veterinary practitioner to detect respiratory tract diseases or other diseases such as lameness, digestive disorder, nervous disorder, etc. All examined animals returned within 2 h to their pen.

Bulls with rectal temperature  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$  and exhibiting symptoms consistent with BRD (e.g. abnormal pulmonary sounds, coughing, polypnea/dyspnea, or nasal or ocular discharge) were treated (Galyean et al., 1999). They received, via subcutaneous injection, 2 ml per 15 kg of BW of a product containing of 16.5 mg.ml<sup>-1</sup> of flunixin meglumin and 300 mg.ml<sup>-1</sup> of florfenicol (Resflor, Intervet, Angers, France). If a clinical improvement was not observed by the fourth day, the same treatment was repeated.

Before BRD treatment, samples were taken from the lower respiratory tract using trans-tracheal aspiration (TTA) as previously described (Espinasse et al., 1991). Trans-tracheal aspirations were performed before the first and second BRD treatment if the latter was separated from the first by more than 7 d. On average, 5 to 10 ml of fluid was recovered. Tracheal aspirates were cooled transported to the laboratory and processed within 6 h.

#### 4.5. Virology and bacteriology

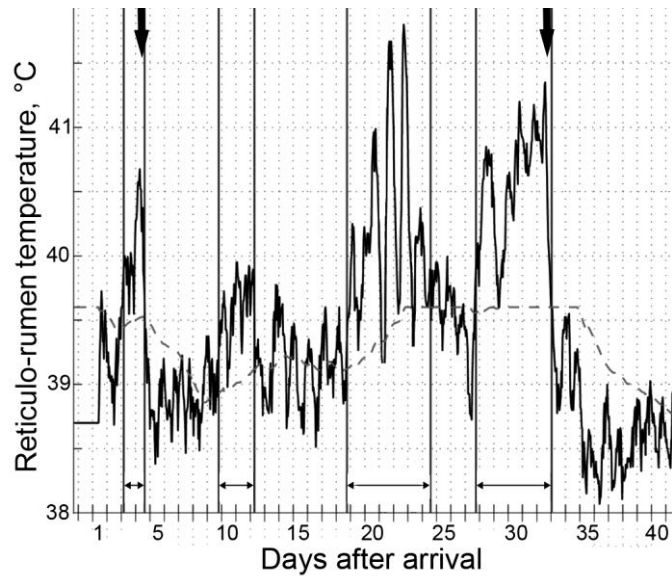
Virus isolation from TTA aspirates was performed as previously described (Michel et al., 2010) using 2 passages in primary bovine foetal kidney cells. At the end of the second passage, cell cultures were stained by an immunoperoxidase procedure for the identification of *bovine respiratory syncytial virus* (BRSV), *Parainflenza 3 virus* (Pi3), *bovine viral diarrhea virus* (BVDV).

For *Pasteurellaceae* isolation, TTA aspirates were inoculated onto 5% sheep blood agar (Columbia, Oxoid, Hampshire, United Kingdom) and chocolate agar supplemented with PolyVitex (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France). Sheep blood and chocolate agar plates were then incubated for 24 h at 37°C in, respectively, aerobic atmosphere and atmosphere of 5 % CO<sub>2</sub>. Afterward, colonies resembling *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* or *Histophilus somni* were subcultured for another 24 h and identified by standard biochemical procedures (Quinn et al., 1994) and API (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France).

*Mycoplasma* spp. was isolated as previously described (Arcangioli et al., 2008). *Mycoplasma bovis* were then identified by dot immunobinding on membrane filtration, using polyclonal hyperimmune rabbit antisera prepared against *M. bovis*, as described by Poumarat et al. (1991).

#### 4.6. Identification of fever episodes

During the study period, neither the feedlot personnel nor the investigators had access to the reticulorumen temperatures measured by the boluses. Data obtained by the boluses were extracted from each on-farm computer at the end of the study period and retrospectively analyzed using a program provided by the manufacturer (Medria Measurement Manager, Medria SAS, Chateaugiron, France) as previously described (Timsit et al., *in press*). Briefly, this program performed, firstly, the pre-processing of raw reticulo-rumen temperatures to eliminate water intake effects, secondly, the definition of a reference reticulo-rumen temperature for each bull (computed as the mean of all the pre-processed temperatures obtained during the previous 4 d), and thirdly, the detection of significant differences between pre-processed temperatures and reference temperatures, *i.e.* reticulo-rumen hyperthermia episodes using a method based on the cumulative sum (CUSUM) test (Hinkley, 1971; Page, 1954) (Figure 1). The CUSUM parameters used in this study were  $v$  (detector sensitivity) = 0.65 and  $\lambda$  (responsiveness) = 1.3 (Timsit et al., *in press*). Finally, in order to limit reticulo-rumen hyperthermia episode splits, often due to bad pre-processing of close water drinking events, reticulo-rumen hyperthermia episodes separated by less than 6 h were merged into a single episode.



**Figure 1.** Example of reticulo-rumen temperatures (curve) for which water intake effects were eliminated (*i.e.* pre-processed reticulo-rumen temperature), measured in a beef bull during the first 40 d post-arrival at a fattening operation. The reference reticulo-rumen temperature (dotted line), computed as the mean of pre-processed temperatures recorded during the previous 4 d is also shown. Four significant differences (horizontal arrow) between pre-processed temperatures and reference temperatures, *i.e.* reticulo-rumen hyperthermia episode, were identified using a method based on the cumulative sum test. Bovine respiratory disease treatments (vertical arrow) were implemented on d 4 and 32 after arrival.

Reticulo-rumen hyperthermia episodes identified by the CUSUM test were considered as fever episodes in the present study. Indeed, elevated rectal temperatures (mean  $\pm$  SD =  $40.1 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ ) were systematically observed during reticulo-rumen hyperthermia episodes identified by the same CUSUM test in a previous study (Timsit et al., *in press*). Furthermore, reticulo-rumen temperature is correlated to rectal temperature as previously described by Rose-Dye et al. (*in press*) ( $r = 0.89$ ;  $n = 264$ ), Timsit et al. (*in press*) ( $r = 0.91$ ;  $n = 135$ ), Bewley et al. (2008) ( $r = 0.64$ ;  $n = 2042$ ) and Sievers et al. (2004) ( $r = 0.92$ ;  $n = 36$ ).

#### 4.7. Data analysis

***Fever episodes and visually-apparent clinical signs of disease.*** The results of fever episode identification were correlated with health data obtained during the study period. Fever episodes during which apparent signs of BRD or other diseases that were detected by feedlot personnel were defined as FECS, whereas fever episodes not visually detected by feedlot personnel were defined as FENO. The characteristics of FECS and FENO, including duration and mean reticulo-rumen temperatures recorded during fever episodes, were described and then compared using a Student test in SAS (SAS version 9.1 Inst. Inc., Cary, NC). The total



number and duration of FECS and FENO per bull during the study period were calculated as well as time-lags between onsets of FECS and BRD treatments and time-lags between BRD treatments and ends of FECS.

**Effect of FENO on ADG.** Early ADG was calculated from BW measured on d 1 during the processing and BW measured at the end of the study period (d 40). The effect on early ADG of FENO was assessed using a mixed linear regression model (PROC MIXED, SAS version 9.1 Inst. Inc., Cary, NC). Individual bull was the experimental unit. Variables including number of BRD treatments, breed, BW at entry, age at entry, total duration of FECS during the study period and total duration of FENO during the study period were tested for their association with early ADG in univariate analysis. Only variables that were associated with early ADG at  $P < 0.20$  in the univariate analysis were included to a multivariate model. Because of the collinearity between total duration of FECS and number of BRD treatments, only number of BRD treatments was included in the model. After checking for the linearity of the effect, total duration of FENO was considered as a continuous variable. Model selection was based on backward elimination of candidate variables. For each evaluation of the model, the variable with the largest Fisher's test  $P$ -value was removed. This process was repeated until all remaining variables were significantly associated with the early ADG ( $P < 0.05$ ). The final mixed model was written as follows:

$$Y_{ijkl} = \alpha + \text{FENO}_i + \text{TT}_j + \text{BR}_k + \text{PEN}_l + \varepsilon_{ijkl}$$

where outcome  $Y$  is the early ADG,  $\alpha$  is the intercept, FENO is the total duration of FENO during the study period expressed in d (quantitative), TT is the number of BRD treatments performed during the study period (4 classes), BR is the breed (2 classes) and PEN is the bull's pen nested within fattening unit (12 classes, random effect) and  $\varepsilon$  is the residual. Results are discussed as significant if  $P \leq 0.05$ .

## 5. Results

### 5.1. Detection of fever episodes

Before ingestion by the bulls, all the reticulo-rumen temperature boluses showed an overall accuracy in vitro of  $\pm 0.2^\circ\text{C}$  over the range of 20 to  $45^\circ\text{C}$  (data not shown). They were

easily administered at arrival and no regurgitation or loss in feces was observed throughout the study period.

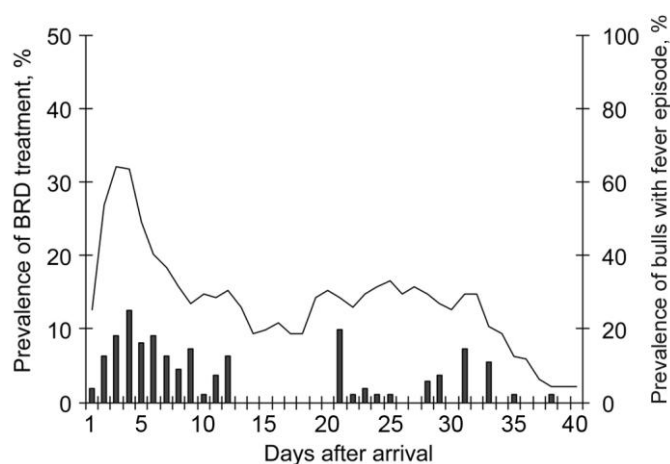
Of the 112 bulls, 110 had from 1 to 11 fever episodes during the 40 d after their arrival at the fattening operations (Table 2). The daily prevalence of bulls with fever episodes, relative to the time of arrival at the fattening operations, is indicated in Figure 2. In total, 449 fever episodes having lasted from 5 to 263 h (mean =  $44 \pm 40$  h) were retrospectively indentified by the CUSUM test. During fever episodes, mean reticulo-rumen temperatures averaged  $40.3^{\circ}\text{C}$  ranging from  $39.8$  to  $41.9^{\circ}\text{C}$ . The time-lag between successive fever episodes in the same animal ranged from 6 to 614 h. Over the 40 d, the total duration of fever episodes per bull varied from 7 to 528 h (mean =  $181 \pm 112$  h).

**Table 2.** Descriptive statistics of fever episodes detected in 110 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

Item	Mean (SD)	Min.	Q1 <sup>1</sup>	Median	Q3 <sup>1</sup>	Max.
No. of fever episodes <sup>2</sup> per bull	4 (2)	1	2	4	5	11
Duration of fever episodes, h	44 (40)	4	17	32	56	263
Total duration of fever episode per bull, h	181 (112)	7	82	176	244	528
Time-lag between successive fever episodes, h	110 (125)	6	17	53	175	614
Mean reticulo-rumen temperatures recorded during fever episodes, $^{\circ}\text{C}$	40.3 (0.3)	39.8	40.1	40.2	40.5	41.9

<sup>1</sup> Q1= 25<sup>th</sup> percentile; Q3= 75<sup>th</sup> percentile.

<sup>2</sup> Fever episodes were retrospectively detected by the use of a cumulative sum test applied on reticulo-rumen temperatures.



**Figure 2.** Daily prevalence (%) of bovine respiratory disease (BRD) treatment (histogram) (number of BRD treatments per d /  $112 * 100$ ) and daily prevalence (%) of bulls with fever episode (curve) (number of bulls which had fever episode on indicated d /  $112 * 100$ ) in 112 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

## 5.2. Health data

No clinical signs related to diseases other than BRD (e.g., lameness, neurological signs, etc.) were observed throughout the study period. Of the 112 bulls entering the study, 88 (79%) were treated for BRD (Table 3). Descriptive statistics, including mean number of days on feed and mean rectal temperature at the time of each treatment, are shown in Table 3. Sixty-one animals were treated once, 20 were treated twice, and 7 were treated 3 times for BRD. In total, 122 treatments were performed during the study period. The daily prevalence of BRD treatment, relative to the time of arrival at the fattening operation, is indicated in Figure 2. No mortality was observed.

**Table 3.** Descriptive statistics of health data and pathogens isolated from trans-tracheal aspiration (TTA) aspirates before the implementation of bovine respiratory disease (BRD) treatment, in 88 bulls during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

Item <sup>2</sup>	BRD treatment <sup>1</sup>		
	First	Second	Third
No. of treatment	88	27	7
DOF, d			
Mean (SD)	6.9 (7.2)	22.7 (8)	31.0 (6)
Range	0-31	5-33	22-39
Temp, °C			
Mean (SD)	40.4 (0.4)	40.2 (0.3)	40.4 (0.5)
No. of TTA <sup>3</sup>	88	15	0
Negative viral and bacterial growth	6	1	-
Virus positive	43	8	-
<i>Bovine respiratory syncytial virus</i>	10	7	-
<i>Parainfluenza 3 virus</i>	32	3	-
<i>Bovine viral diarrhea virus</i>	5	4	-
<i>Pasteurellaceae</i> positive	63	9	-
<i>Mannheimia haemolytica</i>	46	8	-
<i>Pasteurella multocida</i>	18	1	-
<i>Mycoplasma bovis</i> positive	15	11	-

<sup>1</sup> 61, 20 and 7 bulls were treated for BRD, respectively, once, twice and 3 times during the 40 d post-arrival at fattening operations.

<sup>2</sup> DOF = number of d on feed; Temp = rectal temperature.

<sup>3</sup> TTA were performed before the first and second BRD treatment if the latter was separated from the first by more than 7 d.

## 5.3. Bacteriological and virological results

Before BRD treatment, 103 TTA were performed (Table 3). *Pasteurellaceae* (*Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*) and/or viruses (*BRSV*, *Pi3* and *BVDV*) and/or *M. bovis* were isolated from 96 of 103 TTA aspirates (93%). Frequencies of bacterial and viral isolations are shown in Table 3. No *Histophilus somni* was isolated from TTA

aspirates and no cytopathogenic effect characteristic of *Bovine herpes virus-type 1* was observed on cell cultures.

#### 5.4. Fever episodes and visually apparent clinical signs

Of the 449 fever episodes, 74% were not associated with any visually apparent clinical signs of BRD or signs of other disease detected by feedlot personnel (Table 4). These FENO were, on average, shorter ( $P < 0.001$ ) than FECS (mean = 40 versus 56 h; Table 4). Indeed, FENO were often transitory with 75% having lasted less than 47 h. However, it should be noticed that 25% of FENO lasted from 47 to 263 h. Contrary to duration, mean reticulo-rumen temperatures recorded during fever episodes did not differ between FECS and FENO ( $P = 0.51$ ). During the study period, bulls had FECS and FENO during, on average, 75 and 134 h, respectively (Table 5). The time-lag between FECS onset and BRD treatment averaged 50 h ranging from 4 to 177 h (Table 6). This time-lag was calculated for 116 of the 122 BRD treatments because of water drinking which artificially ended reticulo-rumen hyperthermia episodes within 4 to 6 h before 6 treatment implementations. After BRD treatment, FECS systematically ended within 1 to 18 h (mean =  $5 \pm 3$  h).

**Table 4.** Characteristics of fever episodes for which apparent signs of bovine respiratory disease were visually detected by feedlot personnel (FECS) and for which no visually apparent clinical signs of disease were detected by feedlot personnel (FENO) in 110 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

Item <sup>1</sup>	FECS	FENO
No. (%) of fever episodes <sup>2</sup>	116 (26%)	333 (74%)
Duration of fever episodes, h		
Mean (SD)	56 <sup>a</sup> (39)	40 <sup>b</sup> (40)
Median (Q1-Q3)	48 (27-72)	25 (15-47)
Range	5-182	6-263
Mean reticulo-rumen recorded during fever episodes, °C		
Mean (SD)	40.4 <sup>a</sup> (0.36)	40.3 <sup>a</sup> (0.31)
Median (Q1-Q3)	40.3	40.2
Range	39.8-41.4	39.9-41.9

<sup>1</sup> Q1 = 25<sup>th</sup> percentile; Q3 = 75<sup>th</sup> percentile.

<sup>2</sup> Fever episodes were retrospectively detected by the use of a cumulative sum test applied on reticulo-rumen temperatures recorded during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

<sup>a-b</sup> Means within a row with different superscripts are different ( $P < 0.05$ ).

**Table 5.** Occurrence and total duration of fever episodes for which apparent signs of bovine respiratory disease were detected by feedlot personnel (FECS) and for which no visually apparent clinical signs of disease were detected by feedlot personnel (FENO) in 112 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

Item	Mean (SD)	Min.	Q1 <sup>1</sup>	Median	Q3 <sup>1</sup>	Max.
FECS <sup>2</sup> per bull						
No. of FECS	1(1)	0	1	1	2	3
Total duration of FECS, h	75 (56)	0	31	61	99	276
FENO <sup>2</sup> per bull						
No. of FENO	3 (2)	0	2	3	4	8
Total duration of FENO, h	134 (86)	0	65	123	179	380

<sup>1</sup> Q1 = 25<sup>th</sup> percentile; Q3 = 75<sup>th</sup> percentile.

<sup>2</sup> Fever episodes were retrospectively detected by the use of a cumulative sum test applied on reticulo-rumen temperatures.

**Table 6.** Time-lags between onset of fever episodes and bovine respiratory disease (BRD) treatments, and between BRD treatments and fever episode ends in 88 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses which were treated for BRD during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

Item	Mean (SD)	Min.	Q1 <sup>1</sup>	Median	Q3 <sup>1</sup>	Max.
Time-lags, h						
between onset of fever episodes <sup>2</sup> and BRD treatments <sup>3</sup>	50 (38)	4	22	46	66	177
between BRD treatments and fever episode ends	5 (3)	1	3	4	6	18

<sup>1</sup> Q1 = 25<sup>th</sup> percentile; Q3 = 75<sup>th</sup> percentile.

<sup>2</sup> Fever episodes were retrospectively detected by the use of a cumulative sum test applied on reticulo-rumen temperatures recorded during the first 40 d post-arrival at fattening operations.

<sup>3</sup> Time lags were calculated for 116 BRD treatments.

### 5.5. Effect of FENO on early ADG

Mean early ADG of bulls was  $1,159 \pm 469$  g. Table 7 shows that the total duration of FENO during the study period was associated ( $P = 0.002$ ) with a lesser ADG: -33 g/d for daily FENO duration. The occurrence of BRD treatment was also associated with a lesser ADG: -139 g ( $P = 0.040$ ), -316 g ( $P = 0.015$ ) and -655 g ( $P < 0.001$ ) when, 1, 2 or 3 treatments were administered in the same animal.

**Table 7.** Final regression model for effects on early ADG (calculated from d 1 to 40) of fever episodes not associated with visually apparent clinical signs (FENO), number of bovine respiratory disease (BRD) treatment during the study period and breed in 112 bulls equipped with reticulo-rumen temperature boluses.

Independent variable and level <sup>1</sup>	Estimate <sup>2</sup>	95% Confidence Interval		P- value
		Lower bound	Upper bound	
Duration of FENO per d <sup>3</sup>	-33	-53	-13	0.002
No. of BRD treatment <sup>4</sup>	reference	-	-	-
1	-139	-239	-39	0.040
2	-316	-516	-116	0.015
3	-655	-985	-325	<0.001
Breed <sup>5</sup>				
Charolais	reference	-	-	-
Charolais crossbreed	-323	-558	-89	<0.001

<sup>1</sup> Pen nested within fattening operation (random effect);  $P = 0.040$

<sup>2</sup> Intercept = 1,539 (1,324; 1,753);  $P < 0.001$ .

<sup>3</sup> FENO were retrospectively detected by the use of a cumulative sum.

<sup>4</sup> 61, 20 and 7 bulls were treated, respectively, once, twice and 3 times during the 40 d post-arrival at fattening operations.

<sup>5</sup> 102 Charolais and 10 Charolais x Limousin bulls were studied during the 40 d post-arrival at fattening operations.

## 6. Discussion

The existence of undetected (*i.e.*, visual assessment) fever episodes (*i.e.*, FENO) in cattle managed in fattening systems have been reported (Hoerlein and Marsh, 1957). However, to the author's knowledge, this is the first time that the occurrence and duration of FENO were quantified by the use of a telemetric device, which allowed continuous and non invasive monitoring of core body temperature. The use of reticulo-rumen temperature boluses allowed the retrospective identification by a CUSUM test of numerous FENO ( $n = 333$ ) in 110 bulls during the first weeks after their arrival at fattening operations. Among FENO, a large number were only transitory (75% lasted less than 47 h). However, 25% lasted up to 11 d. Furthermore, this study provides unique information on the impact of FENO on ADG of bulls managed in a fattening system. The duration of FENO was associated with a lesser ADG between d 1 and 40 (-33 g/d for daily FENO duration) resulting in a loss in BW at d 40 of 1.3 kg for daily FENO duration.

Because reticulo-rumen temperature is influenced by ruminal fermentation (Dale et al., 1954), feeding may lead to an increase of the reticulo-rumen temperature in the absence of an elevation in core body temperature. However, the reticulo-rumen hyperthermia episodes identified by the CUSUM test, considered as fever episodes in the present study, were highly unlikely to be due to feeding. Indeed, the reticulo-rumen temperature does not usually exceed 39.6°C in healthy bulls (Timsit et al., *in press*) and, in the present study, temperatures

measured by the boluses during reticulo-rumen hyperthermia episodes averaged 40.1°C. Furthermore, we have shown in a previous study (Timsit et al., *in press*) that a high rectal temperatures (mean  $\pm$  SD = 40.1  $\pm$  0.6°C) were systematically observed during reticulo-rumen hyperthermia episodes identified by the same CUSUM test.

In the present study, the treatment rate for BRD (79%) is in the upper range of the treatment rates typically reported in French fattening operations (Assié et al., 2009). This high rate could be explained, firstly, by the selection of high-BRD-risk bulls. Bulls were purchased at auction markets from multiple sources and transported by truck. These 2 factors are recognized as major risk factors for BRD (Taylor et al., 2010). Secondly, this high rate could be explained by an improved detection of BRD by the feedlot personnel who knew that a study was being conducted and by the frequent visits of a veterinary practitioner. Because this study was conducted in high-BRD-risk bulls, a question would remain regarding possible differences in the occurrence, duration and impact on performance of FENO in low-BRD-risk cattle.

The large number of FENO of short duration observed in the present study could be explained by infections, which were overcome by the bulls' immune system before the onset of clinical signs. Indeed, exposure of bulls to major BRD pathogens such as *Mannheimia haemolytica* even when combined with BVDV does not necessarily lead to visually apparent clinical signs but could result in a transitory FENO (Burciaga-Robles et al., 2010; Hanzlicek et al., 2010). This explanation has been previously proposed by Hoerlein and Marsh (1957) after they observed a large number of transitory fever episodes (< 2 d) which appeared without other signs of disease in Hereford steer calves during the first 10 d following shipping. However, some transitory elevations of core body temperature detected in this study could also be non-pyrogenic hyperthermias. In fact, bulls' social behavior, particularly agonistic interactions (e.g. fighting, butting and threatening) and mounting, which are frequent during the first 2 weeks after mixing (Mounier et al., 2005), could generate internal heat load leading to hyperthermia which can last for a few hours. Therefore, the role of bulls' interaction in the contribution of core body temperature elevations having lasted less than 1 d cannot be excluded.

The FENO of long duration observed in this study could be explained by BRD cases, which occur without obvious clinical signs detectable by visual appraisal, and thereby may

also be called subclinical BRD. Indeed, due to the prey/predator behavior, morbid animals often mask any signs of vulnerability (e.g. depression, illness, etc.), especially if they perceive the personnel handling them as predators (Weary et al., 2009). In previous studies having compared lung lesions at slaughter and BRD treatments implemented during the finishing period (Schneider et al., 2009; Thompson et al., 2006; Wittum et al., 1996), up to 68% of steers that were not visually detected or treated for BRD had lung lesions indicative of BRD. Furthermore, in a previous study (Timsit et al. *in press*) where bulls with fever episodes were systematically examined every 12 to 24 h until the end of fever, we have shown that abnormal pulmonary sounds at lung auscultation were present during 81% of the fever episodes identified using the same CUSUM test whereas an obvious BRD sign, such as depression, was only observed during 38% of these fever episodes. However, because bulls with FENO were not clinically examined by a veterinary practitioner in the present study, it is not possible to ensure that all FENO of long duration were due to subclinical BRD.

The association found in the present study between duration of FENO and lesser ADG could firstly be explained by a reduced feed intake, which is frequent during prolonged fever (McMillan, 1985). In a previous study, Sowell et al. (1998) found, using an electronic feed monitoring system, that healthy feedlot steers spent 30% more time at the feed bunk than morbid steers. Secondly, this association could be explained by an increased catabolism and metabolic rate during fever leading to a reduced feed conversion ratio (Loew, 1974). Unfortunately, as individual DMI was not measured in this study, it is not possible to differentiate these 2 causes.

The association between duration of FENO and lesser ADG indicates a potential benefit of treating FENO, especially the FENO of long duration. Indeed, a treatment with an antipyretic agent could alleviate anorexia associated with fever and relieve animal “discomfort” (McMillan, 1985). Furthermore, the use of an antimicrobial drug could treat the primary disease in the case of bacterial infection. Nevertheless, further research is needed before recommending such antimicrobial treatment. Indeed, the involvement of bacteria in the pathogenesis of FENO needs to be investigated. In the absence of bacterial involvement, such antimicrobial treatment may lead to unnecessary antimicrobial use which could promote the emergence of bacterial resistance.



In conclusion, the results of this study point out that FENO occurs frequently in bulls during the first weeks after entrance into a fattening operation and can last up to 11 d. The impact of FENO observed on ADG in this study indicates a potential benefit of treating affected animals, specifically those with FENO of long duration. However, further research is needed to determine the medical and economic relevance of such treatment.

## 7. References

- Arcangioli, M. A., A. Duet, G. Meyer, A. Dernburg, P. Bézille, F. Poumarat, and D. Le Grand. 2008. The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *Vet. J.* 177: 89-93.
- Assié, S., H. Seegers, B. Makoschey, L. Desire-Bousquie, and N. Bareille. 2009. Exposure to pathogens and incidence of respiratory disease in young bulls on their arrival at fattening operations in France. *Vet. Rec.* 165: 195-199.
- Babcock, A. H., B. J. White, S. S. Dritz, D. U. Thomson, and D. G. Renter. 2009. Feedlot health and performance effects associated with the timing of respiratory disease treatment. *J. Anim. Sci.* 87: 314-327.
- Bewley, J. M., M. E. Einstein, M. W. Grott, and M. M. Schutz. 2008. Comparison of reticular and rectal core body temperatures in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 4661-4672.
- Burciaga-Robles, L. O., D. L. Step, C. R. Krehbiel, B. P. Holland, C. J. Richards, M. A. Montelongo, A. W. Confer and R. W. Fulton. 2010. Effects of exposure to calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus type 1b and subsequent infection with *Mannheimia haemolytica* on clinical signs and immune variables: model for bovine respiratory disease via viral and bacterial interaction. *J. Anim. Sci.* 88: 2166-2178.
- Dale, H.E., R.E. Stewart, and S. Brody. 1954. Rumen temperature. I. Temperature gradients during feeding and fasting. *Cornell Vet.* 44: 368-374.
- Duff, G. C., and M. L. Galyean. 2007. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85: 823-840.
- Espinasse, J., J. P. Alzieu, C. Papageorgiou, J. C. Beguin, and F. Van Gool. 1991. Use of transtracheal aspiration to identify pathogens in pneumonic calves. *Vet. Rec.* 129: 339.
- Galyean M. L., L. J. Perino and G. C. Duff. 1999. Interaction of cattle health/immunity and nutrition. *J. Anim. Sci.* 77:1120-1134.
- Garcia, F., J. Agabriel, and D. Micol. 2007. Alimentation des bovins en croissance et à l'engrais. Pages 89-120 in *Feeding of cattle, sheep and goats: animals' requirements and feed value*. I.N.R.A, ed. Quae Editions, Versailles, France.

- Hanzlicek, G. A., B. J. White, D. Mosier, D. G. Renter, and D. E. Anderson. 2010. Serial evaluation of physiologic, pathological, and behavioral changes related to disease progression of experimentally induced *Mannheimia haemolytica* pneumonia in postweaned calves. *Am. J. Vet. Res.* 71: 359-369.
- Hinkley, D. V. 1971. Inference about the change-point from cumulative sum test. *Biometrika* 58: 509-523.
- Hoerlein, A. B., and C. L. Marsh. 1957. Studies on the epizootiology of shipping fever in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 131: 123-127.
- Loew, F. M. 1974. A theoretical effect of fever on feed efficiency in livestock. *Can. Vet. J.* 15: 298-299.
- McMillan, F. D. 1985. Fever: pathophysiology and rational therapy. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 7: 845-855.
- Michel, E., C. Quefelec, S. Serrand, M. Jamelot, and E. Le Drean. 2010. Improvement of the methods of virological diagnosis on cellular culture. *Revue Méd. Vét.* 161: 157-161.
- Mounier, L., I. Veissier, and A. Boissy. 2005. Behavior, physiology, and performance of bulls mixed at the onset of finishing to form uniform body weight groups. *J. Anim. Sci.* 83: 1696-1704.
- Page, E. S. 1954. Continuous inspection schemes. *Biometrika* 41: 100-115.
- Poumarat, F., B. Perrin, and D. Longchambon. 1991. Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (mf dot). *Vet. Microbiol.* 29: 329-338.
- Quinn, P. J., M. E. Carter, B.K. Markey, and G. R. Carter. 1994. *Pasteurella* species. Pages 254-259 in *Clinical veterinary microbiology*. Quinn, P. J., M. E. Carter, B. K. Markey, and G. R. Carter, ed. Mosby, Edinburgh, UK.
- Rose-Dye, T. K., L. O. Burciaga-Robles, C. R. Krehbiel, D. L. Step, R.W. Fulton, A.W. Confer and C. J. Richards. Rumen temperature change monitored with remote rumen temperature boluses following challenges with bovine viral diarrhea virus and *Mannheimia haemolytica*. *J. Anim. Sci.* doi:10.2527/jas.2010-3051
- Schaefer, A. L., N. J. Cook, J. S. Church, J. Basarab, B. Perry, C. Miller, and A. K. Tong. 2007. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. *Res. Vet. Sci.* 83: 376-384.
- Schneider, M. J., R. G. Tait, Jr., W. D. Busby, and J. M. Reecy. 2009. An evaluation of bovine respiratory disease complex in feedlot cattle: impact on performance and carcass traits using treatment records and lung lesion scores. *J. Anim. Sci.* 87: 1821-1827.
- Sievers, A. K., N. B. Kristensen, H. J. Laue, and S. Wolfram. 2004. Development of an intraruminal device for data sampling and transmission. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 207-210.
- Sowell, B. F., J. G. Bowman, M. E. Branine, and M. E. Hubbert. 1998. Radio frequency technology to measure feeding behavior and health of feedlot steers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 59: 277-284.

- Taylor, J. D., R. W. Fulton, T. W. Lehenbauer, D. L. Step, and A. W. Confer. 2010. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *Can. Vet. J.* 51: 1095-102.
- Thompson, P. N., A. Stone, and W. A. Schultheiss. 2006. Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in south african feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 84: 488-498.
- Timsit, E., S. Assié, R. Quiniou, H. Seegers, and N. Bareille. 2010. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. *Vet. J.* 190: 136-142
- Weary, D. M., J. M. Huzzey, and M. A. von Keyserlingk. 2009. Board-invited review: using behavior to predict and identify ill health in animals. *J. Anim. Sci.* 87: 770-777.
- White, B. J., and D. G. Renter. 2009. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. *J. Vet. Diag. Invest.* 21: 446-453.
- Wittum, T. E., N. E. Woollen, L. J. Perino, and E. T. Littledike. 1996. Relationships among treatment for respiratory tract disease, pulmonary lesions evident at slaughter, and rate of weight gain in feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209: 814-818.

## 8. Résultats additionnels obtenus avec le dispositif d'étude présenté dans l'article

Afin d'estimer l'effet sur le gain moyen quotidien (GMQ) de la durée des épisodes de fièvre associés à des signes cliniques de BPI détectés (FECS), nous avons réalisé un modèle différent de celui présenté dans l'article. Dans ce nouveau modèle (Cf. ci-dessous), la variable quantitative « durée totale des FECS durant la période de l'étude » remplace la variable qualitative « nombre de traitement ». En effet, à cause de la collinearité entre ces 2 variables, seule une d'entre elles peut être incluse dans un modèle. L'équation ci-dessous décrit le modèle utilisé :

$$Y_{ijkl} = \alpha + FENO_i + FECS_j + BR_k + PEN_l + \varepsilon_{ijkl}$$

où Y est la variable à expliquer (GMQ précoce calculé de J1 à J40),  $\alpha$  est l'intercept, FENO est la durée totale (entre J0 et J40) des épisodes de fièvre non-associés à des signes cliniques détectés par examen visuel exprimée en jour (quantitative), FECS est la durée totale (entre J0 et J40) des épisodes de fièvre associés à des signes cliniques de BPI détectés exprimée en jour (quantitative), BR est la race des bovins (2 classes) et PEN est une variable emboîtée lots de bovins dans exploitation (12 classes, effet aléatoire) et  $\varepsilon$  est l'erreur résiduelle.

Le GMQ précoce moyen était de  $1\,159 \pm 469$  g. Le tableau 8 montre que la durée totale de FECS durant la période de l'étude était associée ( $P = 0,016$ ) à une diminution du GMQ : -61 g/j par jour de FECS.

**Tableau 8.** Modèle de régression final pour les effets sur le GMQ précoce (calculé de J1 à J40) de la durée des épisodes de fièvre non-associés à des signes cliniques détectés par examen visuel (FENO), des épisodes de fièvre associés à des signes cliniques de BPI détectés (FECS) et de la race pour 112 bovins à l'engrais équipés de thermobolus intraruminaux.

Variables indépendantes et modalités <sup>1</sup>	Estimée <sup>2</sup>	Intervalle de confiance à 95%		P
		Borne inférieure	Borne supérieure	
Durée des FENO par j <sup>3</sup>	-32	-52	-13	0,005
Durée des FECS par j <sup>4</sup>	-61	-92	-30	0,016
Race <sup>5</sup>				
Charolais	référence	-	-	-
Croisé Charolais	-314	-554	-70	0,010

<sup>1</sup> 2 variables aléatoires emboîtées avec lot dans exploitation;  $P = 0,050$

<sup>2</sup> Intercept = 1,539 (1,324; 1,753);  $P < 0,001$ .

<sup>3</sup> FENO ont été détectés rétrospectivement en utilisant un « cumulative sum » test.

<sup>4</sup> FECS ont été détectés rétrospectivement en utilisant un « cumulative sum » test.

<sup>5</sup> 102 bovins à l'engrais Charolais et 10 Charolais x Limousin ont été étudiés durant les 40 premiers jours suivant leurs arrivées dans 3 ateliers d'engraissement.

# Chapitre 3

**ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA*  
LORS D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES  
SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

Publication n°3 :

**Transmission dynamics of *Mannheimia haemolytica* in newly-received beef  
bulls at fattening operations**

E. Timsit, H. Christensen, N. Bareille, H. Seegers, M. Bisgaard, and S. Assié

Soumis au journal Veterinary Microbiology le 1<sup>er</sup> octobre 2011

## 1. Résumé français

L'objectif principal de cette étude était de déterminer si un seul ou plusieurs clones de *Mannheimia haemolytica* étaient présents au sein d'un lot de bovins à l'engrais lors d'un épisode de bronchopneumonies infectieuses (BPI). Un objectif secondaire de cette étude était d'étudier si les isolats de *M. haemolytica* obtenus à partir d'écouvillons nasaux (EN) étaient identiques à ceux obtenus au niveau du poumon à partir d'aspirations transtrachéales (ATT).

Douze lots de 8 à 12 bovins à l'engrais ( $n = 112$  ; poids moyen à l'arrivée =  $392 \pm 45$  kg) ont été suivis pendant les 40 premiers jours après leurs mises en lots. Ces 12 lots étaient répartis dans 3 ateliers d'engraissement localisés dans les Pays de la Loire. Les bovins, achetés sur des marchés, provenaient de multiples exploitations d'origine ( $n = 43$ ). Dès lors que, dans un lot, un bovin était détecté malade par examen visuel, un vétérinaire réalisait un examen clinique ainsi qu'un EN et une ATT pour l'isolement de *M. haemolytica* sur l'ensemble des bovins du lot. Les bovins qui avaient une température rectale supérieure  $\geq 39,7^\circ\text{C}$  et au moins 2 signes cliniques de BPI étaient traités. Les examens cliniques, les EN et les ATT étaient ensuite répétés tous les 3 jours sur l'ensemble des bovins non traités du lot jusqu'à la fin de l'épisode de BPI (*i.e.* jusqu'à l'absence de détection de nouveaux cas). Les isolats de *M. haemolytica* obtenus à partir des EN et des ATT ont été typés par électrophorèse sur champs pulsés (PFGE).

*Mannheimia haemolytica* a été isolée dans les voies respiratoires basses d'au moins 1 bovin durant 14 épisodes de BPI survenant dans 12 lots. La prévalence intra-épisode de bovins positifs pour *M. haemolytica* sur ATT variait de 11 à 89% (médiane = 52%). Durant 11 épisodes de BPI, de 2 à 4 clones différents ont été obtenus. Tandis que dans les 3 épisodes restants, seul 1 clone a été obtenu. Un accord modéré ( $\kappa = 0,50$ ) entre l'EN et l'ATT pour l'isolement de *M. haemolytica* a été observée. Au niveau individuel, les isolats de *M. haemolytica* isolés à partir des EN et des ATT avaient le même profil PFGE dans seulement 75% des paires EN-ATT. Au niveau de l'épisode de BPI, un nombre plus élevé de clones différents ( $P = 0,04$ ) ont été obtenus à partir des ATT qu'à partir des EN. L'importante diversité génétique des isolats de *M. haemolytica* obtenus lors d'épisodes de BPI indique que la maladie n'est pas due à la transmission d'un seul clone virulent de *M. haemolytica* au sein du lot. Nos résultats démontrent également que les isolats de *M. haemolytica* obtenus à partir des EN ne sont pas toujours identiques à ceux obtenus au niveau du poumon à partir d'ATT.

## 2. Abstract

The primary objective of this study was to determine, at the lung level, whether a single or multiple clones of *Mannheimia haemolytica* are present within a pen during a bovine respiratory disease (BRD) episode. A secondary objective was to assess whether *M. haemolytica* isolates recovered from nasal swabs (NS) are representative of the disease-associated isolates present in the lung. Ninety-five and 83 *M. haemolytica* isolates recovered, respectively, from trans-tracheal aspirations (TTA) and NS performed during 14 BRD episodes which naturally occurred in 12 pens of bulls (n=112) newly-received at three fattening operations were characterized by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). PFGE types obtained from NS and TTA were then compared. Two to four different clones of *M. haemolytica* were recovered during 10 BRD episodes whereas only one clone was recovered in four episodes. A moderate agreement ( $\kappa=0.50$ ) between NS and TTA for *M. haemolytica* isolation was observed. Identical PFGE types were only observed in 75% of matched NS-TTA pairs. At the BRD episode level, a higher number of different PFGE types ( $P=0.04$ ) was recovered from TTA in comparison to NS. The significant within-pen diversity of *M. haemolytica* during BRD episodes indicates that disease is not due to the contagious spread of a single virulent clone among cattle and highlights the importance of risk factors that enable resident flora to overcome the host's immune system. The results also demonstrate that isolates recovered from NS are not always representative of the disease-associated isolates present in the lung.

**Keywords.** *Mannheimia haemolytica*, Cattle, Bovine respiratory disease, Epidemiology, PFGE

### 3. Introduction

Bovine respiratory disease (BRD) is the most prevalent disease in cattle entering fattening operations (Assié et al., 2009; Edwards, 1996; Smith, 1998). BRD is commonly observed throughout the first weeks after entrance into fattening operations due to the concomitant presence of pathogens (virus and/or bacteria) and non-infectious factors which can predispose cattle to pneumonia (transportation, commingling etc.) (Taylor et al., 2010b). Among the pathogens implicated in BRD, *Mannheimia haemolytica* is the most common bacterial isolate, and it is generally believed that the control of *M. haemolytica* would markedly reduce the prevalence of BRD in cattle entering fattening operations (Rice et al., 2007).

Despite the tremendous importance of *M. haemolytica* in fattening operations, little is known about its transmission dynamic at the pen level (Rice et al., 2007; Taylor et al., 2010c). To date, only two studies have assessed whether or not *M. haemolytica* is horizontally transferred between pen-mates, based on *M. haemolytica* isolates recovered from the upper respiratory tract. The first study (Purdy et al., 1993) concluded that *M. haemolytica* tended to recrudescence from the individual rather than being horizontally transferred whereas the second study (Briggs et al., 1998) reported that *M. haemolytica* rapidly spread among cattle within days of commingling. Therefore, it is not clear whether *M. haemolytica*-associated BRD is due to risk factors (viral infections, shipping, commingling, etc.) that enable the resident flora to overcome the host's immune system or due to the contagious spread of a single virulent clone or due to both. Such information is nevertheless crucial for the control of *M. haemolytica*-associated BRD in fattening operations (Miles, 2009).

Several molecular techniques have been developed to differentiate *M. haemolytica* isolates (Katsuda et al., 2003; Klima et al., 2010; Kodjo et al., 1999; Murphy et al., 1993). Among these methods, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) is widely accepted as the gold standard due to its high discriminatory power and repeatability (Klima et al., 2010; Kodjo et al., 1999). This technique appears to be a well adapted tool to monitor the transmission dynamic of *M. haemolytica* among cattle during a BRD episode (Klima et al., 2011).

The sampling of the lower respiratory tract during pneumonia allows the collection of bacterial isolates directly from the site of infection (Allen et al., 1991; Angen et al., 2009;



Espinasse et al., 1991). However, because the upper respiratory tract sampling is easier when compared to the lower respiratory tract sampling, only nasal isolates of *M. haemolytica* have been previously characterized by molecular techniques (Briggs et al., 1998; Klima et al., 2011; Purdy et al., 1993). Nevertheless, further investigation is needed to determine whether *M. haemolytica* isolates recovered from nasal swabs (NS) are representative of the disease-associated isolates present in the lung (Taylor et al., 2010c).

The primary objective of this study was to characterize by PFGE the *M. haemolytica* isolates collected from the lower respiratory tracts of bulls during BRD episodes to determine whether a single or multiple clones of *M. haemolytica* are present within pens. A secondary objective was to assess whether *M. haemolytica* isolates recovered from NS are similar to those isolated deeper within the respiratory tract.

#### **4. Materials And Methods**

All procedures in the present experiment were performed in accordance with the European directive and the French regulation and conform to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No.85-23, revised 1996).

##### **4.1. Animals**

One hundred and twelve bulls (initial body weight  $\pm$  SD = 346  $\pm$  36 kg) were observed for 40 days following their arrival at three French fattening operations between November 2007 and March 2008 (Table 1). Bulls came from multiple sources (n = 43 farms of origin) and were purchased at auction markets. After purchase, bulls were transported by truck over a mean distance of 329  $\pm$  104 km (range = 70 to 515 km) to a central facility where they were sorted into 12 groups of eight to 12 bulls based on body weight (Table 1). Bulls were allowed free access to hay and water at the central facility for 36 to 48 h. During this period, they were in contact with others bulls present at the central facility. Then, bulls were transported by truck for travel distances less than 50 km to the fattening operations. None of the bull received any vaccine or antibiotic at entry. During the study period, each group of bulls was housed in a pen separated from the others bulls fed in the fattening operation by fences that allowed nose-to-nose contact. Bulls were fed with a total mixed ration formulated to meet the French National Institute for Agriculture Research recommendations (Garcia et al., 2007).

Feed was mixed and delivered once daily at 9 h. Throughout the study period, animals had unlimited access to water.

**Table 1.** Characteristics of 12 pens of newly-received bulls at three fattening operations.

Fattening operation	Date of arrival	Pen no.	No. of bulls per pen	No. of different origins per pen	Mean body weight at arrival $\pm$ SD, kg
1	16/11/2007	1	9	1	314 $\pm$ 28
		2	9	2	326 $\pm$ 26
	17/01/2008	3	9	7	378 $\pm$ 14
		4	9	6	355 $\pm$ 43
2	21/11/2007	5	8	6	330 $\pm$ 19
		6	8	5	334 $\pm$ 20
		7	8	5	350 $\pm$ 25
	06/12/2007	8	8	5	359 $\pm$ 22
		9	8	2	364 $\pm$ 27
3	27/11/2007	10	12	3	379 $\pm$ 34
		11	12	4	350 $\pm$ 31
	11/01/2008	12	12	9	303 $\pm$ 19

#### 4.2. Study design

During the 40-day-study period, all bulls were observed twice daily by owners for the detection of the following signs: depression, decreased rumen fill compared with pen-mates, nasal or ocular discharge, cough and increased respiratory rate. As soon as the owner detected a bull displaying at least one of the above signs in a pen under study, a veterinarian with experience in cattle disease diagnostics restrained, one by one, each bull housed in the pen including the in-contact apparently healthy bulls in a conventional cattle handling chute, to perform a close physical examination, a NS sample and a transtracheal aspiration (TTA). Bulls with a rectal temperature  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$  and, at least, one other sign of respiratory tract disease received a single subcutaneous injection (2 ml per 15 kg of body weight) of a product containing 16.5 mg/ml of flunixin meglumin and 300 mg/ml of florfenicol (Resflor, MSD, Angers, France). Physical examinations and clinical samples (NS and TTA) were then repeated every three days on non-treated animals until the end of the BRD episode *i.e.* until no new BRD affected animal was detected.

#### 4.3. Sampling procedures and bacteriology

Prior to NS sampling, the nostril was disinfected using alcohol 90%. A guarded NS (Dryswab veterinary laryngeal, Medical Wire and Equipement, Corsham, England) was introduced in the nasal cavity (dorsal conchae, approximately 20 cm depth) and rotated at 360°. Afterward, each NS was inserted into a transport medium (Venturi Transsystem, Copan, Bovezza, Italy). Transtracheal aspirations were performed as previously described (Espinasse et al., 1991). On average, 5 to 10 ml of fluid was recovered and immediately placed into sterile plain tubes. After sampling, clinical samples were transported in a container at a temperature of 4°C to the laboratory of the Nantes-Atlantic National College of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering (Oniris) and processed within 6 h.

The primary isolation of *M. haemolytica* from clinical samples was done by directly streaking each NS or by inoculating 0.1 ml of each TTA aspirate onto 5% sheep blood agar (Columbia, Oxoid, Hampshire, UK). Sheep blood agar plates were then incubated for 24 h at 37°C in aerobic atmosphere. Afterward, one colony resembling *M. haemolytica* was subcultured for another 24 h and identified by standard biochemical procedures (Quinn et al., 1994) and API (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France). *M. haemolytica* isolates were stored at -80°C until further analysis.

#### 4.4. Pulsed field gel electrophoresis

Plugs preparation has been previously described (Hedegaard et al., 2009). Briefly, *M. haemolytica* isolates kept at -80°C were plated onto 5% sheep blood agar (Columbia, Oxoid, Hampshire, UK) and incubated overnight at 37°C. A single typical colony was subcultured overnight in 10 ml brain heart infusion (BHI) broth (Oxoid, Hampshire, UK) at 37°C with shaking. To measure and standardize cell density, the optical density of a solution containing 800 µL SE buffer (75 mM NaCl, 25 mM ethylene-diamine-tetraacetic acid [EDTA], pH 7.4) and 200 µL culture in BHI broth was determined at 578 nm. Cells contained in a 3 mL sample of the overnight culture in BHI broth were then washed by centrifugation and resuspended in sufficient SE buffer to obtain the same optical density as was previously obtained. Afterwards, 500 µL of the cells suspension was mixed with 500 µL agarose solution (0.02 g agarose, 1 mL SE buffer) and dispensed into disposable plug moulds (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France).

To release DNA from the cells, plugs were incubated overnight in a water bath at 56°C in 950 µL proteinase K solution (0.5 mg proteinase K [Roche Diagnostics, Meylan, France], 1 mL ES-buffer [1% N-Lauroylsarcosin, 0.5 M EDTA, pH 9.5]). Then, plugs were washed 3 times with TE buffer (10 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 7.4) and stored at 4°C until further use.

Plugs were digested overnight at 37°C with 20 U of *SalI* and 152 µL of appropriate buffer provided by the manufacturer (New England BioLabs, Hitchin, UK). The digested DNA were separated by PFGE using a CHEF DRIII device (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) according to the program previously described by (Villard et al., 2006). A low range PFGE Marker (N0350S, New England BioLabs, Hitchin, UK) was placed in the first, middle and last wells of each gel. After electrophoresis, gels were stained in 1 µg/mL ethidium bromide aqueous solution for 30 min, then washed in distilled water and eventually photographed using ultraviolet light transillumination.

To study the reproducibility of the PFGE procedure (cell lysis, washing, endonuclease digestion steps, gel and electrophoretic conditions), a *M. haemolytica* reference strain (CCUG 12392) was processed along with the *M. haemolytica* field isolates being tested.

#### 4.5. Data analysis

All PFGE-related analyses were performed using BioNumerics V5.1 (Applied Maths Inc., Austin TX, USA). Dendrograms were created using UPGMA clustering of Dice coefficient values with 1.00% optimization and 3.00% position tolerance settings. Isolates relatedness was assessed using the modified Tenover criteria described by van Belkum et al. (2007) *i.e.* isolates with PFGE patterns differing by one to four bands were assigned to subtypes of the same main types. Each main type was arbitrarily identified by a letter. Subtypes were identified by a suffix to the assigned main type. For example, subtypes of the main type E were E1 and E2.

Typeability of the PFGE procedures was reported as the proportion of *M. haemolytica* isolates that were assigned a PFGE pattern. Reproducibility of the PFGE procedures was reported as the proportion of *M. haemolytica* reference strain (CCUG 12392) patterns that had 100% similarity based on UPGMA cluster analysis of Dice coefficients.

The association between PFGE types recovered from the lower respiratory tract during BRD episodes and both, sources (n = 43 farms of origin) and arrival groups of bulls (*i.e.* bulls arrived the same day at the fattening operation; n = 6) was explored using Fisher's Exact Test in SAS 9.2 (SAS Institute Inc, Cary NC, USA). When more than one PFGE types were recovered from the same bull during a BRD episode, only the PFGE type which corresponded to the day of treatment or to the last sample performed in non-treated animals was taken into account for these analyses.

Agreement between NS and TTA for the isolation of *M. haemolytica* at the individual animal level was measured using the Kappa statistic (Cohen, 1960). The strength of agreement for the Kappa coefficient was interpreted using the scale of Landis and Koch (1977):  $\leq 0$ =poor, 0.1-0.20=slight, 0.21-0.40=fair, 0.41-0.60=moderate, 0.61-0.80=substantial and 0.81-1=almost perfect. The numbers of different PFGE types recovered from NS and TTA samples during each BRD episode were compared using a Wilcoxon Signed Rank Test in SAS 9.2.

## 5. Results

### 5.1. Health data, clinical samples and *M. haemolytica* isolation

Sixteen BRD episodes were observed in the 12 pens under study during the 40 days following the arrival of bulls at the fattening operations (Table 2). One BRD episode occurred in eight pens whereas two BRD episodes occurred more than 10 days apart from each other (mean  $\pm$  SD = 15 days  $\pm$  4) in the four remaining pens. During these episodes, intra-pen morbidity ranged from 44 to 100 % (mean = 69 %). In total, 88 (79%) of the 112 bulls entering the study were treated for BRD. Descriptive statistics of BRD episodes are shown in the Table 2.

**Table 2.** Descriptive statistics of 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes observed in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

Fattening operation	Date of arrival	Pen no.	BRD episode <sup>1</sup> no.	Days from arrival to first BRD treatment <sup>2</sup>	Days from first to last BRD treatment	No. (%) of bulls treated for BRD
1	16/11/2007	1	1	6	1	4 (44)
			2	20	10	9 (100)
		2	3	7	4	5 (56)
			4	28	1	4 (44)
17/01/2008	3	5	1	10	8 (89)	
		6	21	1	5 (46)	
	4	7	1	7	9 (100)	
		8	2	4	6 (75)	
2	21/11/2007	5	8	2	4	6 (75)
			6	9	1	10
		7	10	31	1	4 (50)
			11	2	7	6 (75)
06/12/2007	8	12	4	1	4 (50)	
		9	13	2	4	5 (63)
	10	14	3	7	9 (75)	
3	27/11/2007	11	15	8	4	6 (50)
			12	16	3	4
	11/01/2008	12	16	3	4	10 (83)

<sup>1</sup>In four pens, a second BRD episode was observed more than 10 days after the first one.

<sup>2</sup>Bulls with a rectal temperature  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$  and, at least, one other sign of respiratory tract disease such as abnormal pulmonary sounds, coughing, polypnea/dyspnea, or nasal or ocular discharge were treated for BRD.

Two hundred and thirty nine pairs of NS and TTA samples were performed during BRD episodes (Table 3). Eighty three and 95 *M. haemolytica* isolates were recovered respectively, from NS and TTA samples.

**Table 3.** Agreement between nasal swab (NS) and trans-tracheal aspiration (TTA) samples for the isolation of *M. haemolytica*.

(a) All samples (n=239 pairs)

		NS		Total
		+	-	
TTA	+	61 <sup>2</sup>	34	95
	-	22	122	144
Total		83	156	239

<sup>1</sup> Kappa = 0.50.

<sup>2</sup> Identical PFGE types in 75% of matched pairs.

(b) Samples performed the day of BRD treatment (n=105 pairs)

		NS		Total
		+	-	
TTA	+	37 <sup>2</sup>	19	56
	-	8	41	49
Total		45	60	105

<sup>1</sup> Kappa = 0.49.

<sup>2</sup> Identical PFGE types in 70% of matched pairs.

(c) Samples performed in non-treated animals or before BRD treatment in treated animals (n=134 pairs)

		NS		Total
		+	-	
TTA	+	24 <sup>2</sup>	15	39
	-	14	81	95
Total		38	96	134

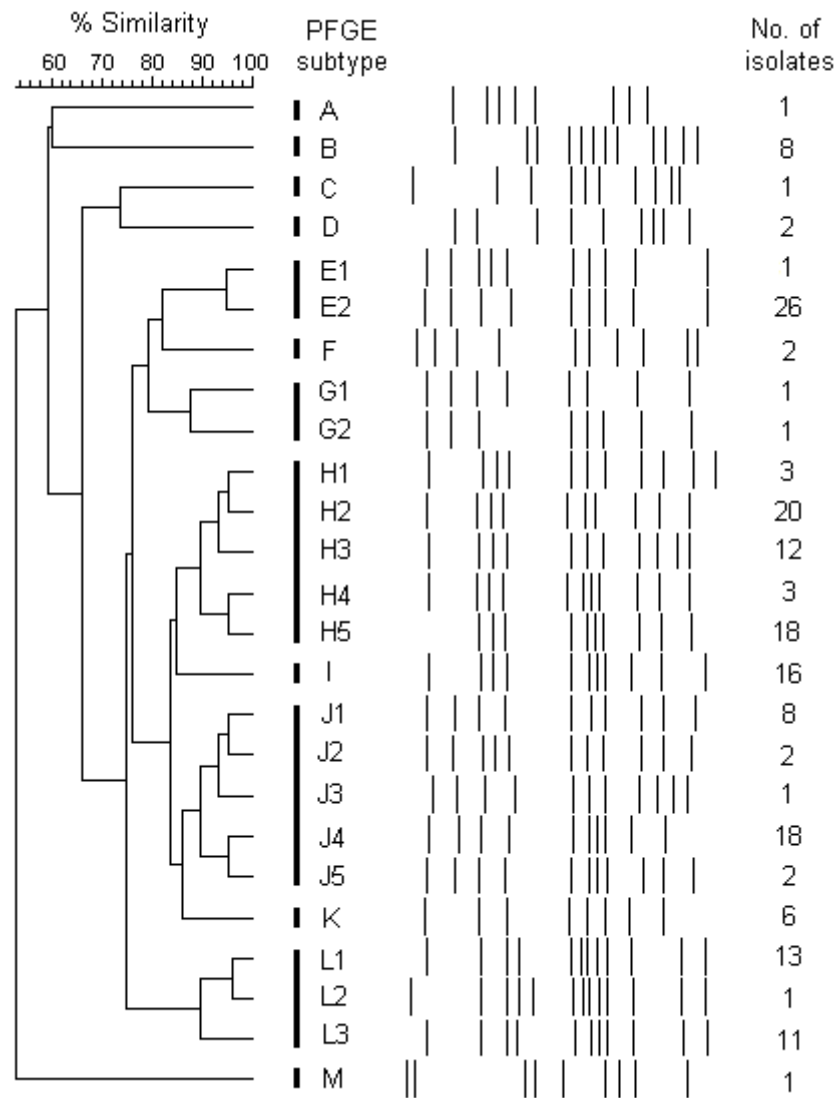
<sup>1</sup> Kappa = 0.47.

<sup>2</sup> Identical PFGE types in 83% of matched pairs.

*M. haemolytica* isolates were recovered from the lower respiratory tract of bulls in 14 of the 16 BRD episodes (Table 4). The prevalence of bulls positive for *M. haemolytica* on TTA samples during BRD episodes varied from 0 to 89 % (mean = 56 %; median = 52 %). In total, 75 of the 112 bulls were positive for *M. haemolytica* on TTA samples during the study period: 56 bulls were positive once, 18 bulls were positive two times and one bull was positive three times (Supplementary Table S1). It is interesting to note that, of the 75 bulls positive for *M. haemolytica* on TTA samples, no clinical BRD illness was observed in 21 bulls (Supplementary Table S1).

## 5.2. PFGE typeability and reproducibility

Thirteen PFGE main types were observed including three singletons and 10 clusters with between two (D) and 56 (H) isolates (Fig. 1). A PFGE pattern was obtained for all the *M. haemolytica* isolates analysed meaning a typeability of 100%. The PFGE procedures were found to be 100% reproducible.



**Figure 1.** Dendrogram and schematic representation of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) fragments of 178 *M. haemolytica* isolates with *S*alI digestion. The dendrogram was constructed from UPGMA clustering of Dice coefficient values with optimization and tolerance settings of 1.0% and 3.0%, respectively. Isolates with PFGE patterns differing by one to four bands were assigned to subtypes of the same main types (van Belkum et al., 2007). Each main type was arbitrarily identified by a letter (A-M).



### 5.3. PFGE types recovered from the lower respiratory tract of bulls during BRD episodes

Two to four different PFGE main types (clones) defined according to the modified Tenover criteria described by van Belkum et al. (2007) were recovered from the lower respiratory tract of bulls during 10 BRD episodes whereas only one main type was recovered in four BRD episodes (Table 4). In the four pens where two BRD episodes occurred, the main types recovered from the second BRD episodes were not recovered during the first episodes (Table 4). It is interesting to note that, at the bull level, identical PFGE types were recovered from 11 of the 16 bulls positive more than once during the same BRD episode (Supplementary Table S1).

The PFGE types recovered from the lower respiratory tract during BRD episodes were strongly associated with the arrival groups of bulls ( $P < 0.001$ ). Indeed, only three PFGE types (L1, H5, J1) were shared between bulls arrived at different dates in the same fattening operation, only two PFGE types (B, J4) were shared between two fattening operations and no PFGE type was shared between the three fattening operations (Table 4). The association between PFGE types and sources of bulls could not be computed (too high number of farms of origin;  $n = 43$ ) but the same PFGE types were recovered from bulls of different sources which were part of the same arrival group even if they were not housed in the same pen (Supplementary Table S1).

Full details of BRD episodes, PFGE types and farm of origins can be found in Supplementary Table S1.

**Table 4.** Number of bulls culture-positive for *M. haemolytica* on trans-tracheal aspirations (TTA) and number of isolates (n) assigned to specified types by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) observed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

Fattening operation	Date of arrival	Pen no.	BRD episode <sup>1</sup> no.	No. (%) of bulls culture + on TTA	PFGE types <sup>2</sup> (n)	
1	16/11/2007	1	1	0 (0)	- <sup>3</sup>	
			2	6 (66)	L1 (3), L3 (2), B (1)	
			3	5 (56)	B (5)	
			4	6 (66)	L3 (6)	
	17/01/2008	3	5	5 (56)	H2 (2), J4 (2), J5 (1)	
			6	1 (11)	L1(1)	
			7	8 (89)	H2 (5), H4 (1), J4 (1), G1 (1)	
			8	4 (50)	H3 (3), H5 (1)	
			9	0 (0)	-	
			10	4 (50)	H3 (2), D (1), J3 (1)	
2	21/11/2007	5	8	4 (50)	M (1), D (1), H3 (1), J1 (1)	
			6	9	0 (0)	-
			7	4 (50)	H3 (2), D (1), J3 (1)	
			11	4 (50)	M (1), D (1), H3 (1), J1 (1)	
	06/12/2007	8	12	6 (75)	H5 (4), J2 (1), G2 (1)	
			13	5 (63)	H5 (3), J1 (2)	
			14	6 (50)	I (3), E2 (3)	
			15	9 (75)	E2 (6), B (1), I (2)	
3	27/11/2007	10	6 (50)	I (3), E2 (3)		
		11	9 (75)	E2 (6), B (1), I (2)		
11/01/2008	12	16	10 (83)	K (5), J4 (4), H1 (1)		

<sup>1</sup> In four pens, a second BRD episode was observed more than 10 days after the first one.

<sup>2</sup> When more than one PFGE types were recovered from the same bull during a BRD episode, only the PFGE type which corresponded to the day of treatment or to the last sample performed in non-treated animals was showed in this table.

<sup>3</sup> -: not applicable.

#### 5.4. Comparison of PFGE types recovered from the lower and upper respiratory tracts during BRD episodes

At the animal level, agreement between NS and TTA samples (n = 239 pairs) for the isolation of *M. haemolytica* was moderate (Kappa = 0.50) (Table 3a). Furthermore, when *M. haemolytica* isolates were recovered at the same time from both NS and TTA samples (61 matched pairs), identical PFGE types were observed in only 75% of the matched pairs. It is interesting to note that the agreement between NS and TTA samples was not improved the day of clinical illness (*i.e.* the day of BRD treatment) (Table 3b).

At the BRD episode level, the number of different PFGE types recovered from TTA samples was higher ( $P=0.04$ ) than the number of different PFGE types recovered from NS samples (Table 5).

**Table 5.** Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) types of *M. haemolytica* isolates obtained from nasal swab (NS) and trans-tracheal aspiration (TTA) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations.

Fattening operation	Date of arrival	Pen no.	BRD episode <sup>1</sup> no.	PFGE types <sup>2</sup>				
				NS only	NS and TTA	TTA only		
1	16/11/2007	1	1	-	-	-		
			2	L2	B, L1	L3		
		2	3	-	-	B		
			4	-	L3	-		
	17/01/2008	3	5	-	H2, J5, J4, F	-		
			6	H2	-	L1		
		4	7	-	H2, J4	H4, G1		
			8	-	H3	H5		
		2	21/11/2007	5	8	-	-	-
				6	9	-	-	-
2	06/12/2007	7	10	-	H3	D, J3		
			11	-	-	M, D, H3, J1		
		8	12	-	H5, J2	G2		
			9	13	-	H5, J1	-	
	27/11/2007	3	10	14	-	I, E2	-	
			11	15	-	I, E2	B	
		11/01/2008	12	16	E2	H1, J4, K	-	

<sup>1</sup> In four pens, a second BRD episode was observed more than 10 days after the first one.

<sup>2</sup> When more than one PFGE types were recovered from the same bull during a BRD episode, only the PFGE type which corresponded to the day of treatment or to the last sample performed in non-treated animals was showed in this table.

## 6. Discussion

This study provided unique information concerning the transmission dynamics of *M. haemolytica* in bulls newly-received at fattening operations. To our knowledge, this is the first time that the genetic diversity of *M. haemolytica* isolates recovered from the lower respiratory tract during a BRD episode is reported. The PFGE analysis revealed significant within-pen diversity of *M. haemolytica* during BRD episodes with up to four different clones identified. This study also demonstrated a moderate agreement between nasal swab (NS) and trans-tracheal aspiration (TTA) samples for the isolation of *M. haemolytica* at the individual level. Furthermore, when both NS and TTA samples were positive for *M. haemolytica*, the same PFGE type was only observed in 75% of matched pairs. At the BRD episode level, the concordance between NS and TTA samples was not improved: a higher number of different PFGE types ( $P=0.04$ ) was recovered from TTA in comparison to NS.

The significant within-pen diversity of *M. haemolytica* during BRD episodes indicates that disease is not due to the contagious spread of a single virulent clone among cattle and highlights the importance of risk factors (viral infections, shipping, commingling, etc.) that

enable resident flora to overcome the host's immune system. This finding is consistent with a previous study conducted by Purdy et al. (1993), who observed that *M. haemolytica* enzyme profiles were more significantly associated with the calves' farms of origin than with feedlot commingling. Based on this result, Purdy et al. (1993) concluded that *M. haemolytica* tended to recrudescence from individual calves, rather than being transferred from feedlot penmates. It is interesting to note that, recently, Taylor et al. (2010a) studied the genetic diversity of *Pasteurella multocida* isolates recovered from fatal cases of BRD in calves in a commercial feedlot and they also concluded that *P. multocida* tended to recrudescence from individual calves as a strictly opportunistic pathogen, rather than being horizontally transferred.

Even if *M. haemolytica*-associated BRD did not seem to be due to contagious dissemination of a single virulent clone in the present study, horizontal transfer of *M. haemolytica* between bulls also occurred. Indeed, despite the high genetic diversity of *M. haemolytica* isolates, identical PFGE types were recovered from bulls of different sources which were part of the same arrival group and further housed in different pens. This finding could indicate that a horizontal transfer of *M. haemolytica* occurred early at the central facility or during shipment. Furthermore, in the four pens where two BRD episodes occurred, the PFGE types recovered from the second BRD episodes were not recovered from the first episodes. This could indicate that a transfer of *M. haemolytica* also occurred in bulls from adjacent pens or from the environment.

A rapid horizontal transfer of *M. haemolytica* between feedlot cattle within days of commingling has been previously reported by Briggs et al. (1998). In that study, a strain of *M. haemolytica* containing a unique plasmid profile was used to inoculate the palatine tonsils of 12 calves. This specific strain of *M. haemolytica* was recovered from the nasopharynx of all the inoculated calves and also from 10 out of the 89 in-contact calves within few days after challenge. This study therefore demonstrated the existence of a horizontal transfer of *M. haemolytica*. Such transfer was however, not observed in a study conducted by Allen et al. (1992). Indeed, they did not observe the spread of antimicrobial resistant strains of *M. haemolytica* which had emerged after BRD treatment from treated animals to the in-contact healthy cattle. Therefore, based on these previous studies and the current results, it seems that horizontal transfer of *M. haemolytica* occurs in feedlot cattle, albeit at an inconsistent rate.

It is noteworthy that, in our study, the presence of *M. haemolytica* in the lung, although major BRD pathogen, was not always associated with BRD clinical illness. Indeed, 21 bulls tested positively for *M. haemolytica* on TTA samples and were, however, not detected as BRD affected. This finding is in agreement with previous studies (Allen et al., 1991; Angen et al., 2009; Espinasse et al., 1991) and highlights the interest of quantitative cultures of lower respiratory tract samples to further evaluate the significance of the isolated organisms. Indeed, a true infection is represented by organism actively colonizing the lung, thereby present in large numbers. One should, nevertheless, also keep in mind that subclinical or undetected BRD occur frequently in fattening operations (Timsit et al., *in press*), suggesting that, in our study, bulls positive for *M. haemolytica* on TTA were truly infected but not detected as sick.

The moderate agreement observed in the present study between the isolation of *M. haemolytica* at the animal level from NS and TTA samples indicates that a NS culture does not accurately predict the presence of *M. haemolytica* in the lung. Furthermore, in this study, when both samples were *M. haemolytica* positive, the same PFGE types were only obtained in 75% of the matched pairs (n = 61). These two findings are in agreement with previous studies conducted by Allen et al. (1991) and DeRosa et al. (2000). Indeed, in the study of Allen et al. (1991) conducted in 119 feedlot calves, a moderate agreement (Kappa = 0.47) between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage for the isolation of *M. haemolytica* was observed. Unfortunately, no typing methods were applied to the isolates obtained in that study. DeRosa et al. (2000) compared nasal and trans-tracheal swabs performed in 40 feeder calves suffering from BRD. Their results show that the same bacterial species (*M. haemolytica*, *P. multocida* or *Histophilus somni*) was recovered from nasal and transtracheal swabs in only 68.4% of paired samples. Furthermore, they performed a ribotyping of *M. haemolytica* isolates and observed the same profiles in both nasal and transtracheal swabs in only 70% of the matched pairs (n = 24). Knowing that the discriminatory power of ribotyping is much lower than PFGE (Kodjo et al., 1999), it can be hypothesized that less than 70% of their paired samples would have turned out similar if PFGE was used.

To overcome the moderate agreement between the microbial flora of the upper and lower respiratory tracts at the individual level, it has been suggested to interpret NS results only at the group level (Allen et al., 1991; Catry, 2006). However, even at the group level, the results of the present study suggest that isolates recovered from NS are not always representative of the isolates present in the lung. Indeed, a higher number of different PFGE

types was observed on TTA samples in comparison to NS samples. This higher number of PFGE types can be explained by the higher number of *M. haemolytica* isolates recovered from TTA (n = 95) in comparison to NS (n= 83). Another explanation is that a nose-to-nose transmission occurred between bulls reducing the genetic diversity of isolates recovered from NS samples. Unfortunately, more data is needed to determine which one of these two explanations is most likely.

## 7. Conclusion

In conclusion, PFGE analysis of isolates recovered from the lower respiratory tract of bulls revealed significant within-pen heterogeneity of *M. haemolytica* during BRD episodes. This suggests that BRD episodes associated with *M. haemolytica* are not due to the contagious spread of a single virulent clone among cattle and highlights the importance of risk factors that enable resident flora to overcome the host's immune system.

The moderate agreement between the *M. haemolytica* isolates recovered from NS and TTA samples indicates that isolates recovered from NS are not always representative of the isolates present in the lung. Therefore, to study the genetic diversity of disease-associated *M. haemolytica*, it seems more relevant to sample the lower respiratory tract than the nasal cavity.

### *Conflict of interest statement*

*None of the authors has financial or personal relationships with other peoples or organisations that could inappropriately influence the present work.*

### *Acknowledgements*

*The authors want to thank Françoise Leray, Emmanuelle Blandin, Therese Guyot, Pia Rønnev Mortensen and Tony Poul Bønnelycke for skillful assistance with PFGE and Anne Lehebel for help with the statistical analyses. The study was part-funded by MSD Animal Health and part-funded by the French ministry of Agriculture under project MOZAE.*

## 8. References

- Allen, J.W., Viel, L., Bateman, K.G., Rosendal, S., 1992, Changes in the bacterial flora of the upper and lower respiratory tracts and bronchoalveolar lavage differential cell counts in feedlot calves treated for respiratory diseases. *Can Vet J.* 56, 177-183.
- Allen, J.W., Viel, L., Bateman, K.G., Rosendal, S., Shewen, P.E., Physick-Sheard, P., 1991, The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures. *Can Vet J.* 55, 341-346.
- Angen, O., Thomsen, J., Larsen, L.E., Larsen, J., Kokotovic, B., Heegaard, P.M., Enemark, J.M., 2009, Respiratory disease in calves: microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. *Vet microbiol.* 137, 165-171.
- Assié, S., Seegers, H., Makoschey, B., Desire-Bousquie, L., Bareille, N., 2009, Exposure to pathogens and incidence of respiratory disease in young bulls on their arrival at fattening operations in France. *Vet Rec.* 165, 195-199.
- Briggs, R.E., Frank, G.H., Purdy, C.W., Zehr, E.S., Loan, R.W., 1998, Rapid spread of a unique strain of *Pasteurella haemolytica* serotype 1 among transported calves. *Am J Vet Res.* 59, 401-405.
- Catry, B., 2006, Use of nasal swabs in diagnosis of respiratory disease. *Vet Rec.* 158, 455-456.
- Cohen, J., 1960, A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educ Psychol Meas.* 20, 37-46.
- DeRosa, D.C., Mechor, G.D., Staats, J.J., Chengappa, M.M., Shryock, T.R., 2000, Comparison of *Pasteurella spp.* simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease. *J Clin Microbiol.* 38, 327-332.
- Edwards, J.E., 1996, Respiratory diseases of feedlot cattle in the central USA. *Bovine Pract.* 30, 5-7.
- Espinasse, J., Alzieu, J.P., Papageorgiou, C., Beguin, J.C., Van Gool, F., 1991, Use of transtracheal aspiration to identify pathogens in pneumonic calves. *Vet Rec.* 129, 339.
- Garcia, F., Agabriel, J., Micol, D., 2007, Alimentation des bovins en croissance et à l'engrais. In: I.N.R.A (Eds.), *Feeding of cattle, sheep and goats: animals' requirements and feed value*, Quae Editions, Versailles, France, pp. 89-120.
- Hedegaard, L., Christensen, H., Chadfield, M.S., Christensen, J.P., Bisgaard, M., 2009, Association of *Streptococcus pluranimalium* with valvular endocarditis and septicaemia in adult broiler parents. *Avian Pathol.* 38, 155-160.
- Katsuda, K., Kohmoto, M., Kawashima, K., Tsunemitsu, H., Tsuboi, T., Eguchi, M., 2003, Molecular typing of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* serotype A1 isolates from cattle in Japan. *Epidemiol Infect.* 131, 939-946.
- Klima, C.L., Alexander, T.W., Read, R.R., Gow, S.P., Booker, C.W., Hannon, S., Sheedy, C., McAllister, T.A., Selinger, L.B., 2011, Genetic characterization and antimicrobial susceptibility of

*Mannheimia haemolytica* isolated from the nasopharynx of feedlot cattle. Vet Microbiol. 149, 390-398.

- Klima, C.L., Alexander, T.W., Selinger, L.B., Read, R.R., Shewan, P.E., Gow, S.P., Booker, C.W., McAllister, T.A., 2010, Comparison of repetitive PCR and pulsed-field gel electrophoresis for the genotyping of *Mannheimia haemolytica*. J Microbiol Methods. 81, 39-47.
- Kodjo, A., Villard, L., Bizet, C., Martel, J.L., Sanchis, R., Borges, E., Gauthier, D., Maurin, F., Richard, Y., 1999, Pulsed-field gel electrophoresis is more efficient than ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis in discrimination of *Pasteurella haemolytica* strains. J Clin Microbiol. 37, 380-385.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977, The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 33, 159-174.
- Miles, D.G., 2009, Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). Anim Health Res Rev. 10, 101-103.
- Murphy, G.L., Robinson, L.C., Burrows, G.E., 1993, Restriction endonuclease analysis and ribotyping differentiate *Pasteurella haemolytica* serotype A1 isolates from cattle within a feedlot. J Clin Microbiol. 31, 2303-2308.
- Purdy, C.W., Scanlan, C.M., Loan, R.W., Foster, G.S., 1993, Identification of *Pasteurella haemolytica* A1 isolates from market-stressed feeder calves by use of enzyme and antimicrobial susceptibility profiles. Am J Vet Res. 54, 92-98.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R., 1994. *Pasteurella species*. In: Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R., (Eds.), Clinical Veterinary Microbiology, Mosby, Edinburgh, UK, pp. 254-259.
- Rice, J.A., Carrasco-Medina, L., Hodgins, D.C., Shewen, P.E., 2007, *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. Anim Health Res Rev. 8, 117-128.
- Smith, R.A., 1998, Impact of disease on feedlot performance: a review. J Anim Sci. 76, 272-274.
- Taylor, J.D., Fulton, R.W., Dabo, S.M., Lehenbauer, T.W., Confer, A.W., 2010a, Comparison of genotypic and phenotypic characterization methods for *Pasteurella multocida* isolates from fatal cases of bovine respiratory disease. J Vet Diagn Invest. 22, 366-375.
- Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L., Confer, A.W., 2010b, The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? Can Vet J. 51, 1095-1102.
- Taylor, J.D., Fulton, R.W., Lehenbauer, T.W., Step, D.L., Confer, A.W., 2010c, The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for preventive measures? Can Vet J. 51, 1351-1359.
- Timsit, E., Bareille, N., Seegers, H., Lehebel, A., Assié, S., Visually undetected fever episodes in newly-received beef bulls at a fattening operation: Occurrence, duration and impact on performance. J Anim Sci. doi: 10.2527/jas.2011-3892.



- van Belkum, A., Tassios, P.T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N.K., Fussing, V., Green, J., Feil, E., Gerner-Smidt, P., Brisse, S., Struelens, M., 2007, Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. Clin Microbiol Infect. 13 Suppl 3, 1-46.
- Villard, L., Gauthier, D., Lacheretz, A., Abadie, G., Game, Y., Maurin, F., Richard, Y., Borges, E., Kodjo, A., 2006, Serological and molecular comparison of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps. Vet J. 171, 545-550.

**Supplementary table S1.** Pulsed-field gel electrophoresis types of *M. haemolytica* isolates recovered from trans-tracheal aspiration and nasal swab (brackets) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes which occurred in 12 pens of bulls during the first 40 days post-arrival at three fattening operations. The bulls' farms of origin (n=43) and the day of BRD treatment (underscored) are also indicated.

Fattening operation no.	Pen no.	Bull no.	Farm of origin no.	BRD episode 1				BRD episode 2 <sup>2</sup>				
				D0 <sup>1</sup>	D+3	D+6	D+9	D0	D+3	D+6	D+9	
1	1	7704	8	<u>-<sup>3</sup></u>				-	-	<u>B (B)</u>		
		7706	8	-				-	<u>L1 (L1)</u>			
		7712	8	-				<u>L1 (L1)</u>				
		7713	8	-				<u>L1 (L1)</u>	<u>L1 (L2)</u>			
		7720	8	-				<u>(L1)</u>				
		7722	8	-				-	(L1)	<u>L3 (L1)</u>		
		7735	8	-				-	L1 (L1)	-	<u>L3</u>	
	2	7702	8	<u>B</u>				(L3)	-			
		7708	8	-				L3	L3			
		7715	8	-				L3	-			
		7727	8	B				L3	L3 (L3)			
		7728	8	B				<u>L3</u>				
		7729	8	-				<u>L3</u>				
		7736	8	B				-				
	3	6986	12	<u>B</u>				<u>L3</u>				
		3346	34	F (F)	<u>H2 (H2)</u>			(H2)				
		3347	34	<u>J5 (J5)</u>				(H2)				
		7394	35	-	<u>J4</u>			-				
		1235	39	<u>H2 (H2)</u>				<u>L1</u>				
		1218	40	<u>J4 (J4)</u>				-				
		4	6468	29	<u>J4 (J4)</u>							
			7749	33	<u>H2 (H2)</u>							
			3349	34	<u>G1</u>							
2019			36	-	<u>H2 (H2)</u>							
2032			36	-	<u>(H2)</u>							
5841			38	-	<u>H2 (H2)</u>							
2		5	7521	43	<u>H2 (H2)</u>							
	7525		43	(H4)	H4 (H2)	<u>H4 (H2)</u>						
	7539		43	C	(H2)	<u>H2 (H2)</u>						
	7832		5	<u>H3</u>								
	7170		8	<u>H3</u>								
	6	7185	8	<u>H3 (H3)</u>								
		7253	17	<u>H5</u>								
		6129	2	-	-			H3 (H3)				
		7816	7	-	-			J3 (H3)				
		7835	7	-	-			(H3)				
7	7166	8	-	-			<u>(H3)</u>					
	6824	14	-	-			<u>H3 (H3)</u>					
	7232	17	-	-			<u>D</u>					
	6128	2	<u>H3</u>									
	7833	5	<u>M</u>									
	7715	6	D									
	7525	25	<u>J1</u>									
	7323	9	<u>H5</u>									
8	7325	9	<u>H5 (H5)</u>									
	6267	13	<u>J2 (J2)</u>									
	7007	15	H5 (H5)									
	7216	18	<u>G2 (H5)</u>									
	7222	21	H5 (H5)									
	9	7212	18	<u>(J1)</u>								
		7215	18	<u>(H5)</u>								
		7226	18	(J1)	<u>H5 (H5)</u>							
		7531	23	<u>H5 (H5)</u>								
		7536	23	H5 (H5)	J1							
7547	23	H5 (H5)										
7559	23	J1 (J1)	J1									

3	10	7361	11	E2 (E2)	<u>E2 (E2)</u>				
		7363	11	-	-	I (I)	I		
		7370	11	(A)	(I)	(E2)	<u>(I)</u>		
		7023	22	<u>(I)</u>					
		7024	22	<u>E2 (I)</u>					
		7674	24	-	-	I (E2)	I (E2)		
		7677	24	-	-	I			
		7680	24	-	E2 (E2)	(I)	<u>E2</u>		
		7690	24	<u>(I)</u>					
		11		7279	5	<u>E2 (E2)</u>			
				7290	5	<u>E2 (E2)</u>			
				7298	5	<u>I (I)</u>			
6326	26			E2 (E2)	(E2)				
6329	26			-	<u>E2</u>				
6353	26			E2 (E2)	E2 (E2)				
7359	27			<u>B (I)</u>					
7576	28			E2 (E2)					
7580	28			I					
12				6637	3	<u>J4 (J4)</u>			
		6654	3	<u>K (J4)</u>					
		7875	10	J4 (J4)	<u>K (J4)</u>				
		7452	16	(J4)					
		7144	19	<u>K (J4)</u>					
		7082	20	<u>J4 (J4)</u>					
		7095	20	<u>J4 (J4)</u>					
		1694	30	<u>K (E2)</u>					
		3747	37	H1 (H1)	H1				
		7493	41	-	J4 (J4)				
		7496	42	-	<u>K (E2)</u>				

<sup>1</sup>During BRD episode, nasal swab and trans-tracheal aspiration were performed every three days on each non-treated bull housed in the pen until the end of the BRD episode (*i.e.* until no new BRD case was detected).

<sup>2</sup>In four pens, a second BRD episode was observed more than 10 days after the first one.

<sup>3</sup>No *M. haemolytica* isolate was recovered from clinical samples.



# Chapitre 4

**ETUDE DE LA TRANSMISSION DE *MYCOPLASMA BOVIS* LORS  
D'EPISODES DE BRONCHOPNEUMONIES INFECTIEUSES  
SURVENANT DANS DES LOTS DE BOVINS A L'ENGRAIS**

Publication n°4 :

**Molecular epidemiology of *Mycoplasma bovis* during bovine respiratory  
disease outbreaks in newly-received beef bulls at fattening operations**

E. Timsit, M.A. Arcangioli, N. Bareille, H. Seegers, and S. Assié

Brief Research Reports

Manuscrit en cours pour soumission

au Journal of Veterinary Diagnostic Investigation

## 1. Résumé français

*Mycoplasma bovis* est un agent majeur des bronchopneumonies infectieuses (BPI) des bovins à l'engrais. Cependant, peu d'information sur sa dynamique de transmission au sein d'un lot lors d'épisode de BPI est disponible dans la littérature. L'objectif de cette étude était de déterminer si un seul ou plusieurs clones de *M. bovis* étaient présents au sein d'un lot de bovins à l'engrais lors d'un épisode de BPI.

Douze lots de 8 à 12 bovins à l'engrais ( $n = 112$  ; poids moyen à l'arrivée =  $392 \pm 45$  kg) ont été suivis pendant les 40 premiers jours après leurs mise en lot. Ces 12 lots étaient répartis dans 3 ateliers d'engraissement localisés dans les Pays de la Loire. Les bovins, achetés sur des marchés, provenaient de multiples exploitations d'origine ( $n = 43$ ). Dès lors qu'un bovin était détecté malade par examen visuel dans un lot, un vétérinaire réalisait un examen clinique ainsi qu'une aspiration transtrachéale (ATT) pour l'isolement de *M. bovis* sur l'ensemble des bovins du lot. Les bovins qui avaient une température rectale supérieure  $\geq 39,7^\circ\text{C}$  et au moins 2 signes cliniques de BPI étaient traités. Les examens cliniques, les ATT étaient ensuite répétés tous les 3 jours sur l'ensemble des bovins non traités du lot jusqu'à la fin de l'épisode de BPI (*i.e.* jusqu'à l'absence de détection de nouveau cas). Les isolats de *M. bovis* cultivés à partir des ATT ont ensuite été typés par électrophorèse sur champs pulsés (PFGE).

Des isolats de *M. bovis* ont été obtenus durant 8 épisodes de BPI survenus dans 7 lots. La prévalence des bovins positifs pour *M. bovis* intra-épisode variait de 8% à 100% (médiane = 54%). Même si les bovins étaient d'origines différentes, un seul clone de *M. bovis* a été observé au cours de 5 des 6 épisodes de BPI pendant lesquels, au moins, deux bovins étaient positifs pour *M. bovis*. Pendant l'épisode de BPI restant, deux clones ont été isolés. Cependant, cet épisode de BPI a été suivi par un second épisode, dans le même lot, au cours duquel un seul des 2 clones précédemment isolés était présent. Cette étude montre l'existence d'une transmission clonale de *M. bovis* au sein de lot de bovins à l'engrais.

## 2. Abstract

*Mycoplasma bovis* is an important cause of bovine respiratory disease (BRD) in newly-received cattle at fattening operations. However, little information on its within-pen transmission dynamics during a BRD outbreak is available. Such information is nevertheless crucial to adapt control measures during *M. bovis* associated-BRD outbreaks. The objective of this study was therefore to determine whether single or multiple clones of *M. bovis* are present within a pen during a BRD outbreak that occurs early in the feeding period. Sixteen BRD outbreaks that naturally occurred in 12 pens of eight to 12 bulls (n=112) newly-received at three fattening operations were investigated. Two hundred and thirty nine trans-tracheal aspirations (TTA) were performed during these outbreaks for the isolation of *M. bovis*. *M. bovis* isolates were then characterized by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). *M. bovis* isolates were recovered from TTA during eight BRD outbreaks that occurred in seven pens. The within-pen prevalence of bulls positive for *M. bovis* during these outbreaks ranged from 8% to 100%. PFGE analysis revealed that, even if bulls came from multiple origins, a single clone of *M. bovis* was present within a pen during BRD outbreaks with high prevalence of *M. bovis* infection. This study therefore indicates that, even if *M. bovis* can recrudescence from carriers after stressful events such as transportation, commingling, etc., the increased prevalence of *M. bovis* pulmonary infection observed during BRD outbreaks that are early-occurring in the feeding period seems primarily due to the horizontal transmission of only one clone among cattle.

**Keywords.** *Mycoplasma bovis*, cattle, PFGE, molecular epidemiology

### 3. Introduction

Bovine respiratory disease (BRD) is the most prevalent disease in cattle entering fattening operations (Assié et al., 2009). Among the pathogens implicated in BRD, *Mycoplasma bovis* plays an important contributory role (Caswell and Archambault, 2007, Maunsell et al., 2011). Indeed, *M. bovis* is frequently identified within pulmonary lesions that occurred during the two months after the arrival of cattle at fattening operations (Gagea et al., 2006). Furthermore, seroconversion to *M. bovis* during the first weeks after entrance is associated with an increased risk of being treated for BRD (Martin et al., 1990). Early and efficient control of *M. bovis* infection could thus significantly decrease the overall consequences of BRD (Maunsell et al., 2011).

A good understanding of the transmission dynamics of *M. bovis* within a pen during a *M. bovis*-associated BRD outbreak is needed to adapt control measures (Caswell et al., 2007, Maunsell et al., 2011). However, to date, little information on the transmission dynamics of *M. bovis* in fattening operations is available in the literature (Caswell et al., 2007, Maunsell et al., 2011).

Strain typing can provide insights on the transmission dynamics of *M. bovis* (Caswell et al., 2007). Indeed, typing methods can determinate relatedness among isolates that are part of the same chain of transmission and discriminate non-related isolates (van Belkum et al., 2007). Among these methods, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) appears to be well adapted to monitor the transmission dynamics of *M. bovis* among cattle within a pen due to its high discriminatory power and reproducibility (Arcangioli et al., 2011).

The objective of this study was, therefore, to characterize by PFGE the *M. bovis* isolates collected from the lower respiratory tract of bulls during BRD outbreaks that occur early in the feeding period to determine whether single or multiple clones of *M. bovis* are present within a pen.

### 4. Materials and methods

Twelve groups of eight to 12 beef bulls ( $n = 112$  bulls; initial body weight  $\pm$  SD =  $346 \pm 36$  kg) were observed for 40 days after their arrival at three French fattening operations (Table



1). Bulls were purchased at auction markets and came from multiple sources (n = 43 different origins). They were shipped by truckloads of one to three groups of bulls (*i.e.* multiple shipments with continual addition of bulls to the fattening operation) between November 2007 and January 2008 (Table 1). After arrival, each group of bulls was housed in a pen separated from the other bulls fed in the fattening operation by fences that allowed nose-to-nose contact. None of the bulls received any vaccine or antibiotics at entry. More details on the bulls and their management have been previously reported (Timsit et al., 2011).

During the study period, feedlot staff observed the bulls twice daily for the detection of the following signs: depression, decreased rumen fill compared with penmates, nasal or ocular discharge, cough and increased respiratory rate. As soon as a bull displaying at least one of the above signs was detected, each bull housed in the pen was restrained in a chute by a veterinarian including the in-contact apparently healthy bulls, in order to perform a close physical examination and a transtracheal aspiration (TTA) as previously described (Espinasse et al., 1991). Bulls with a rectal temperature  $\geq 39.7^{\circ}\text{C}$  and, at least, one other sign of respiratory tract disease received a treatment<sup>a</sup> against BRD. Physical examinations and TTA samples were then repeated every three days on non-previously treated bulls until the end of the BRD outbreak *i.e.* until no new BRD case was detected.

*Mycoplasma bovis* was isolated from TTA samples as previously described (Arcangioli et al., 2008). Briefly, TTA samples were cultured at  $37^{\circ}\text{C}$  in 5%  $\text{CO}_2$  for three to five days on a PPLO medium (broth) modified as described by Poumarat et al. (1991). After positive growth, *M. bovis* presence was assessed by dot immunobinding on membrane filtration, using polyclonal hyperimmune rabbit antisera prepared against *M. bovis* PG45 (Poumarat et al., 1991). The positive fresh cultures were then plated and incubated for five to six days for purification of *M. bovis* isolates by colony blotting. Afterwards, one *M. bovis* colony per plate was subcultured and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until PFGE analysis. For PFGE analysis, mycoplasma DNA was prepared in agarose plugs with overnight lysis at  $55^{\circ}\text{C}$  as previously described (Arcangioli et al., 2011). DNA plugs were then digested overnight with 30 units of *Sma*I at  $24^{\circ}\text{C}$ . This enzyme was chosen for its high discriminatory power (Arcangioli et al., 2011). The electrophoresis was undertaken in 1% agarose gel using a PFGE system<sup>b</sup> according to the program previously described by Arcangioli et al. (2011).

To study the genetic diversity of *M. bovis* within a TTA sample, five TTA samples from a subset of positive bulls were cultured and three to five *M. bovis* colonies per sample were typed by PFGE.

All PFGE-related analyses were performed using a bioinformatic software<sup>c</sup>. Isolate relatedness was assessed using the modified Tenover criteria described by van Belkum et al. (2007) *i.e.* isolates with PFGE patterns differing by more than four bands were assigned to different main types (or clones). Each main type was arbitrarily identified by a letter.

## 5. Results

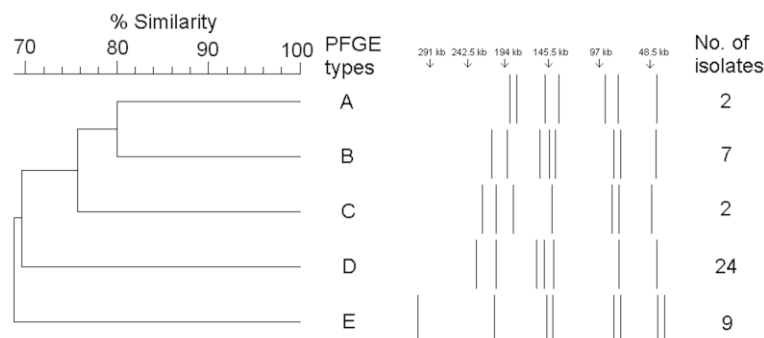
Sixteen BRD episodes were observed in the 12 pens under study during the 40 days following the arrival of bulls at the fattening operations (Table 1). In eight pens, only one BRD episode was observed throughout the study period, whereas in the four remaining pens, two BRD episodes occurred more than 10 days apart from each other (mean  $\pm$  SD = 15 days  $\pm$  4). During these episodes, intra-pen morbidity ranged from 44 to 100 % (mean = 69 %). Detailed description of BRD episodes has been previously reported elsewhere (Timsit et al., 2011).

*Mycoplasma bovis* isolates were recovered from the lower respiratory tract of, at least, one bull in each pen during 8 of the 16 BRD episodes (Table 1). Three of the 8 BRD episodes that enabled to recover *M. bovis* were, in fact, the second BRD episodes for these pens (pen no. 1, 2 and 3). It is to note that in two pens, *M. bovis* had however not been recovered during the initial BRD episodes. The prevalence of bulls positive for *M. bovis* during these 8 BRD episodes varied from 8 to 100 % (median = 54 %). In total, 35 out of the 112 bulls were positive for *M. bovis* on TTA samples during the study period: 25 bulls were positive once, 9 bulls were positive twice and one bull was positive four times.

**Table 1.** Prevalence (%) of bulls culture positive for *Mycoplasma bovis* on transtracheal aspiration (TTA) samples performed during 16 bovine respiratory disease (BRD) episodes observed in 12 pens of bulls.

Fattening operation	Date of arrival	Pen no.	BRD episode <sup>1</sup> no.	Days from arrival to first BRD cases	Prevalence (%) of bulls culture positive for <i>M. bovis</i> on TTA
1	16/11/2007	1	1	6	0/9 (0)
			2	20	9/9 (100)
		2	3	7	0/9 (0)
			4	28	7/9 (78)
			5	1	3/9 (33)
2	21/11/2007	3	6	21	8/9 (89)
			7	1	1/9 (11)
		4	8	2	0/8 (0)
			9	1	0/8 (0)
			10	31	0/8 (0)
3	06/12/2007	5	11	2	0/8 (0)
			12	4	6/8 (75)
		6	13	2	3/8 (38)
			14	3	0/12 (0)
			15	8	0/12 (0)
7	11/01/2008	16	3	1/12 (8)	

Forty-seven *M. bovis* isolates were recovered from TTA samples. Of these 47 isolates, three were not cultivable after storage and thus, were not analyzed by PFGE (Table 2). A PFGE pattern was obtained for all the 44 remaining isolates (*i.e.* typeability = 100%) and five PFGE main types (or clones) comprising between two (E) to 24 (D) isolates were observed after *Sma*I digestion (Fig. 1). The study of the genetic diversity of *M. bovis* within a TTA sample revealed no diversity. Indeed, identical PFGE profiles were obtained from the three to five colonies typed per TTA sample.



**Figure 1.** Dendrogram and schematic representation of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) fragments of 44 *Mycoplasma bovis* isolates with *Sma*I digestion. The dendrogram was constructed from UPGMA clustering of Dice coefficient values with optimization and tolerance settings of 1.0% and 2.0%, respectively. Each type was arbitrarily identified by a letter (A-E).

**Table 2.** Pulsed-field gel electrophoresis types (A-E) of *M. bovis* isolates recovered from trans-tracheal aspiration (TTA) samples performed during bovine respiratory disease (BRD) outbreaks. The bulls' farms of origin and the day of BRD treatment (\*) are also indicated.

Fattening operation no.	Pen no.	Farm of origin no.	Bull no. <sup>1</sup>	BRD outbreak 1			BRD outbreak 2 <sup>3</sup>					
				D0 <sup>2</sup>	D+3	D+6	D0	D+3	D+6	D+9		
1	1	1	1	- <sup>4</sup>			-	D	D*			
			2	-		D	D*					
			3	-*		D*						
			4	-*		D*						
			5	-		-	A	D*				
			6	-*		D						
			7	-*		-	A	D*				
			8	-*		D*						
			9	-		D	D	D	D*			
	2	2	1	10	-*			D*				
				11	-*		D	D*				
				12	-*		D	D*				
				13	-	-	D	D				
				14	-	-	D*					
				15	-	-	D*					
				16	-	-	D*					
				17	-*		B*					
		3	3	3	18	ND <sup>5</sup>	C		-			
					19	-*		B				
					20	-	-*	B*				
					21	-*		B*				
					22	-*		B*				
					23	-	C*	-*				
					24	-	-	B*	B*			
					25	ND*						
2	8	10	26	E*								
			27	E								
			28	E								
			29	E								
			30	E*								
			31	E*								
			32	E*								
9	14	14	33	-	E							
			34	-	E							
			35	ND*								

<sup>1</sup> Only bulls that were positive, at least once, for *M. bovis* on TTA samples are included in this table.

<sup>2</sup> D0 = day of the first BRD treatment. During BRD outbreaks, TTA were performed every three days on each non-previously treated bull housed in the pen until the end of the BRD outbreak.

<sup>3</sup> In three pens, a second BRD outbreak was observed more than 10 days after the first one.

<sup>4</sup> No *M. bovis* isolate was recovered from TTA sample.

<sup>5</sup> ND = not determined. *M. bovis* isolates not cultivable after storage and, thus, not analyzed by PFGE.

A single PFGE main type (*i.e.* clone) was recovered during five of the six BRD outbreaks where, at least, two bulls were positive for *M. bovis* (Table 2). During the remaining BRD outbreak, two different PFGE main types (C and B) were recovered from three positive bulls (pen n°3). However, this BRD outbreak was followed by a second BRD outbreak 10 days later during which only one of the two PFGE main types previously isolated (B) was recovered from five newly-infected bulls. At the bull level, the same PFGE main type was recovered from repeated TTA samples in eight of the 10 bulls positive for *M. bovis* more than once during the study period (Table 2). Indeed, two bulls (n°5 and n°7) had a PFGE main type (A) that differed from the “dominant” one (D) at the beginning of the BRD outbreak but then harbored this “dominant” main type few days later during the outbreak.

Identical PFGE main types were shared only between groups of bulls that arrived at the same date in the fattening operations (*i.e.* same truckload). Indeed, no PFGE main type was shared between groups that arrived at different dates at the same fattening operation or between groups fattened in different operations (Table 2).

## 6. Discussion

This study provides new insights on the transmission dynamics of *M. bovis* in bulls newly-received at a fattening operation. To our knowledge, this is the first time that the genetic diversity of *M. bovis* isolates recovered from the lower respiratory tract of bulls at fattening operations during early occurring-BRD outbreaks is reported. In this study, the PFGE analysis revealed that, even if bulls came from multiple origins, a single clone of *M. bovis* was present within a pen during BRD outbreaks with high prevalence of *M. bovis* infection. This finding is in agreement with a previous study conducted by Arcangioli et al. (2012) that also described the clonal spread of only one “epidemic” clone of *M. bovis* per BRD outbreak in veal calves. This indicates that, even if *M. bovis* can recrudescence from carriers after stressful events such as transportation, commingling, etc. (Caswell et al., 2007), the increased prevalence of *M. bovis* pulmonary infection observed during BRD outbreaks that are early-occurring in the feeding period seems primarily due to the horizontal transmission of only one clone among cattle.

It is interesting to note that, in the present study, some *M. bovis* clones seemed more contagious than others. Indeed, in pen n°3, two different clones were present in the lower respiratory tract of bulls during the first days after entrance and only one of these clones

spread few days later to all negative in-contact bulls housed in the pen. Similarly, in pen n°1, two clones were present at the beginning of the BRD outbreak and only one clone infected all the bulls at the end of the outbreak. This apparent difference of contagiousness between *M. bovis* clones may explain that only one clone per pen was recovered during the *M. bovis*-associated BRD outbreaks. Further research is now needed to investigate the factors that could explain this apparent difference of contagiousness between *M. bovis* clones observed in the present study.

The source of the *M. bovis* clones that spread among penmates seems to be the newly-acquired bulls (*i.e.* presence of *M. bovis*-infected bulls at entrance). Indeed, *M. bovis* isolates recovered from groups of bulls that arrived at different dates at the same fattening operation had PFGE patterns that differed by more than four bands indicating two unrelated isolates as suggested by van Belkum et al. (2007). This finding is in agreement with the results of Butler et al. (2001) highlighting that frequent additions of new cattle to a herd increased the likelihood of identification of different strains of *M. bovis* in the population.

The presence of older bulls housed in neighboring pens at the fattening operations seems also to have provided a source of infection for the newly-acquired cattle in the present study. Indeed, once established, infection of the respiratory tract by *M. bovis* is often persistent (Allen et al., 1992; Arcangioli et al., 2011) and chronically infected cattle can be a source of infection for in-contact susceptible animals (Caswell et al., 2007). *M. bovis*-chronically infected cattle in neighboring pens were probably the source of the clone of *M. bovis* that spread in the pens n° 1 and n° 2. Indeed, in these two pens, no *M. bovis* was recovered from the lower respiratory tract of bulls during the first BRD outbreaks that occurred few days after entrance, but this bacterium was recovered from 78 and 100% of bulls during the second BRD outbreaks that occurred later during the fattening period. Therefore, it seems that *M. bovis* can be transmitted either to susceptible cattle by newly-acquired cattle or older cattle housed in neighboring pens.

In conclusion, this study shows that a clonal transmission of *M. bovis* within pens of cattle could occur early during the fattening period: the source of the *M. bovis* strain spreading among cattle being either the newly-acquired cattle or the older cattle housed in neighboring pens.

## Sources and manufacturers

- a. *Resflor*, MSD, Angers, France.
- b. *CHEF-DRIII system*, Bio-Rad, Hercules, California.
- c. *BioNumerics V5.1*, Applied Maths Inc., Austin, Texas.

## 7. References

- Allen JW, Viel L, Bateman KG, Rosendal S: 1992, Changes in the bacterial flora of the upper and lower respiratory tracts and bronchoalveolar lavage differential cell counts in feedlot calves treated for respiratory diseases. *Can J Vet Res* 56:177-183.
- Arcangioli MA, Aslan H, Tardy F, et al.: 2011, The use of pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Mycoplasma bovis* in French calf feedlots. *Vet J* doi:10.1016/j.tvjl.2011.05.004.
- Arcangioli MA, Duet A, Meyer G, et al.: 2008, The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *Vet J* 177:89-93.
- Assié S, Seegers H, Makoschey B, et al.: 2009, Exposure to pathogens and incidence of respiratory disease in young bulls on their arrival at fattening operations in France. *Vet Rec* 165:195-199.
- Butler JA, Pinnow CC, Thomson JU, et al.: 2001, Use of arbitrarily primed polymerase chain reaction to investigate *Mycoplasma bovis* outbreaks. *Vet Microbiol* 78:175-181.
- Caswell JL, Archambault M: 2007, *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Anim Health Res Rev* 8:161-186.
- Espinasse J, Alzieu JP, Papageorgiou C, et al.: 1991, Use of transtracheal aspiration to identify pathogens in pneumonic calves. *Vet Rec* 129:339.
- Gagea MI, Bateman KG, Shanahan RA, et al.: 2006, Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *J Vet Diagn Invest* 18:29-40.
- Martin SW, Bateman KG, Shewen PE, et al.: 1990, A group level analysis of the associations between antibodies to seven putative pathogens and respiratory disease and weight gain in Ontario feedlot calves. *Can J Vet Res* 54:337-342.
- Maunsell FP, Woolums AR, Francoz D, et al.: *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *J Vet Intern Med* 25:772-783.
- Poumarat F, Perrin B, Longchambon D: 1991, Identification of ruminant mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF dot). *Vet Microbiol* 29:329-338.
- van Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L, et al.: 2007, Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 13 Suppl 3:1-46.





# Discussion générale et conclusion

L'objectif général de nos recherches était de produire des connaissances utiles pour rationaliser le choix de la stratégie de traitement antibiotique à mettre en place lors d'un épisode de BPI survenant dans un lot de bovins à l'engrais. Les stratégies de traitement antibiotique envisageables (traitement curatif individuel ou métaphylaxie) ont des avantages et des inconvénients potentiels. La métaphylaxie, si elle permet de traiter des animaux atteints de BPI non-détectés par examen visuel entraîne potentiellement une surconsommation d'antibiotique et un surcoût liés au traitement collectif. En effet, certains bovins sains n'auraient possiblement pas nécessité de traitement. C'est par exemple le cas des éventuels bovins sains non-réceptifs aux bactéries pathogènes impliquées ou encore des situations d'absence de transmission horizontale de ces bactéries. Or, à l'heure actuelle, les connaissances sur les BPI des bovins à l'engrais sont insuffisantes pour justifier le choix, face à une situation épidémiologique donnée, de la stratégie de traitement antibiotique la plus adaptée. C'est-à-dire celle qui, tout en évitant les morts, les nouveaux malades, et en réduisant l'impact de la maladie sur les performances de croissance limite la consommation d'antibiotique et les coûts liés aux traitements.

Parmi les besoins de connaissances nécessaires pour effectuer plus rationnellement le choix d'une stratégie, notre travail s'est concentré sur deux points qui nous sont apparus prioritaires : (i) l'évaluation de la sous-détection (*i.e.* à la fois le retard à la détection et la non-détection) par examen visuel des bovins atteints de BPI et l'estimation de l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance des bovins, et (ii) l'étude de la transmission horizontale de *Mannheimia haemolytica* et de *Mycoplasma bovis* au sein de lots lors d'épisodes de BPI. Afin d'investiguer la sous-détection par examen visuel, nous avons aussi, dans un premier temps, évalué un système d'alerte qui pourrait permettre une détection performante (*i.e.* sensible) des bovins atteints de BPI basé sur le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle : le thermobolus intraruminal.

Cette discussion générale vient en complément des discussions des différentes parties du manuscrit et présente, pour les principaux résultats issus de nos travaux, leurs forces et leurs limites, leurs implications et les perspectives de recherches nouvelles dérivées.

## **1. Résultats principaux : forces et limites**

Nous avons évalué l'importance de la sous-détection (*i.e.* à la fois le retard à la détection et la non-détection) des bovins atteints de BPI lorsqu'ils sont détectés uniquement par examen visuel. Pour cela nous avons utilisé un système d'alerte, sensible, basé sur le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle : le thermobolus. Dans une première étude de terrain conduite sur 25 bovins à l'engrais (étude n°1 ; chapitre 1), nous avons montré que, d'une part, l'hyperthermie survenait très précocement par rapport au moment où les signes cliniques étaient détectés par examen visuel (*i.e.* retard à la détection), et que, d'autre part, certaines phases d'hyperthermies détectées par le système d'alerte n'étaient pas suivies de signes cliniques détectés par examen visuel (*i.e.* non-détection). Cette sous-détection des bovins atteints de BPI par le seul examen visuel a ensuite été confirmée sur un plus grand nombre de bovins à l'engrais (n=112) dans une deuxième étude (étude de terrain n°2 ; chapitre 2) dans laquelle (*i*) les bovins ont été détectés atteints de BPI par examen visuel et ont reçu un traitement, en moyenne, 50 heures après le début de l'hyperthermie, ce délai pouvant atteindre 7 jours et (*ii*) 111 des 112 bovins à l'engrais avaient eu des hyperthermies non-associées à des signes cliniques détectés par examen visuel durant les premières semaines après la mise en lot. Ces phases d'hyperthermies non-associées à des signes cliniques étaient dans 75% des cas de courte durée (moins de 47 heures) mais ont, pour certaines, cependant duré jusqu'à 11 jours.

Certaines phases d'hyperthermies non-associées à des signes cliniques détectés par examen visuel dans notre deuxième étude (étude n°2 ; chapitre 3) auraient pu être causées par d'autres événements hyperthermisants tels que des réactions agonistiques des bovins qui sont fréquentes dans les 2 premières semaines qui suivent la mise en lot (Mounier et al., 2005), ou encore la présence d'autres maladies infectieuses (infection virale par le BVDV, abcès interne, etc.). En effet, l'hyperthermie est un signe clinique non spécifique (McMillan, 1985). De plus, dans cette deuxième étude, l'analyse des données issues des thermobolus n'a été réalisée que rétrospectivement à la fin de la période de suivi des bovins. Il n'a alors pas été possible de « remonter le temps » pour confirmer ou infirmer la présence de BPI lors des

survenues de phases d'hyperthermies non-détectées par examen visuel. Cependant, dans le cas particulier des bovins à l'engrais, les phases d'hyperthermies qui surviennent dans les semaines post-mise en lot sont quasi-exclusivement dues à des BPI d'où leur appellation en anglais « shipping fever» (Jensen et al., 1979, Radostits et al., 2007, Smith, 1998). Nous considérons donc au final que, parce que nous avons travaillé dans le cadre particulier des bovins à l'engrais post-mise en lot pour lesquels les BPI sont l'affection hyperthermisante largement majoritaire, une grande partie des phases d'hyperthermies non-associées à des signes cliniques détectés par examen visuel était liée à des BPI non-détectées par examen visuel dans notre étude.

Parce que nous avons évalué, dans notre étude, la sous-détection des bovins à l'engrais atteints de BPI par examen visuel dans seulement 3 ateliers d'engraissement des Pays de la Loire (France) nous n'affirmons pas que cette sous-détection soit de règle pour tous les ateliers de bovins à l'engrais. La sensibilité de détection des bovins atteints de BPI est d'ailleurs probablement très variable d'un atelier d'engraissement à un autre (sensibilité de détection différente en fonction de l'expérience des personnes en charge de la surveillance des animaux, taille des lots, etc. (Duff et al., 2007)) voire, d'un lot de bovins à un autre (agents pathogènes impliqués, aptitude variable des bovins à masquer les signes cliniques de maladie (Weary et al., 2009), etc.). De plus, là encore parce que l'étude n'a été réalisée que dans 3 ateliers, nous n'avons pas d'estimation des proportions des cas de BPI détectés *versus* non-détectés chez les bovins à l'engrais. Il est néanmoins probable que la sous-détection rapportée dans nos travaux soit, de par la nature même du suivi que nous avons mis en place, plutôt une sous-estimation de la sous-détection que l'on pourrait rencontrer dans une partie des autres ateliers de bovins à l'engrais. En effet, les animaux inclus dans notre étude ont subi, en plus de l'examen visuel quotidien des éleveurs, un examen clinique complet par un vétérinaire et ce, tous les 3 jours lors d'épisode de BPI survenant dans un lot. Cette intervention d'un vétérinaire a probablement diminué fortement le nombre final de phases d'hyperthermies que nous avons classées comme non-associées à des BPI et a diminué le délai entre le début de l'hyperthermie et le moment où les premiers signes cliniques étaient détectés. En effet, la sensibilité de détection des animaux malades par examen visuel par les éleveurs est moins bonne que celle basée sur l'examen clinique des animaux (Cf. Annexe 2). Ainsi, la détection des BPI dans notre étude doit donc être considérée comme plus performante que ce qui peut être attendu du seul examen visuel.

Nous avons quantifié l'impact d'un traitement retardé ou absent sur les performances de croissance des bovins. L'utilisation de modèles mixtes linéaires généralisés a montré, qu'entre l'introduction (J0) et 40 jours post-introduction (J40), (i) chaque jour d'hyperthermie non associée à des signes cliniques de BPI détectés par examen visuel était significativement associé à une réduction de 33 g du gain moyen quotidien (GMQ) précoce calculé sur cette même période (J0-J40), c'est-à-dire une diminution de 1,3 kg de poids vif à J40 par jour d'hyperthermie, et que (ii) chaque jour d'hyperthermie associée à des signes cliniques de BPI détectés était significativement associé à une réduction de 61 g du GMQ précoce, c'est-à-dire une diminution de 2,4 kg de poids vif à J40 par jour d'hyperthermie. Pour la quantification de ces effets, l'utilisation de modèles mixtes linéaires généralisés nous a permis d'ajuster (i) la relation entre le GMQ et les durées des hyperthermies sur d'autres facteurs ayant aussi un impact sur le GMQ tels que la race des bovins et (ii) de tenir compte de la dépendance des bovins aux lots et aux exploitations.

Le fait que les phases d'hyperthermies non-associées à des signes cliniques de BPI détectés par examen visuel soient, en moyenne, liées à une réduction de GMQ est un élément en faveur de l'intérêt de la détection et du traitement de ces BPI non-détectés. En effet, la réduction moyenne du GMQ précoce associée à la somme de ces phases d'hyperthermies détectées uniquement à l'aide des thermobolus entre J0 et J40 (5,6 jours d'hyperthermie en moyenne  $\times$  -33 g/j de GMQ = -183 g de GMQ) est du même ordre de grandeur que la réduction du GMQ précoce associée à une occurrence de BPI détectée ayant nécessité un traitement dans notre étude (-139 g/j ; Cf. Chapitre 2) ou dans d'autres études : -120 g/j entre J0 et J56 (Cole et al., 1979), -140 g/j entre J0 et J28 (Bateman et al., 1990) et 216 g/j entre J0 et J35 (Thompson et al., 2006). Cependant, l'effet estimé de ces phases d'hyperthermies sur le GMQ est un effet moyen calculé sur l'ensemble des hyperthermies détectées uniquement à l'aide de thermobolus entre J0 et J40. Or, il est probable qu'en fonction de leurs intensités ou des agents pathogènes impliqués, ces phases d'hyperthermies n'aient pas eu toutes le même effet sur les performances de croissance. On ne peut donc pas déterminer, à partir de nos résultats, quelles phases d'hyperthermies non-associées à des signes cliniques de BPI détectés par examen visuel seraient ou non à traiter, mais uniquement proposer un constat moyen.

Le typage moléculaire des isolats de *M. haemolytica* et de *M. bovis* cultivés à partir de prélèvements effectués dans les voies respiratoires basses des bovins lors d'épisodes de BPI nous a permis de formuler des hypothèses de transmission horizontale intra-lot de ces

bactéries. Le typage par électrophorèse sur champs pulsés (pulsed-field gel electrophoresis ou PFGE) des isolats de *M. haemolytica* a montré que, dans 10 des 14 épisodes de BPI où *M. haemolytica* était impliquée, de 2 à 4 clones bactériens différents étaient présents dans les lots ce qui suggère une faible fréquence de transmission horizontale de cette bactérie avant ou pendant l'épisode de BPI. Néanmoins, dans les 4 épisodes de BPI restants, seul 1 clone de *M. haemolytica* était impliqué et ce, même si les bovins provenaient d'exploitations d'origine différente, suggérant à l'inverse la transmission horizontale d'un seul clone bactérien au sein du lot de bovin avant ou pendant l'épisode de BPI. Sur la base de nos résultats, il semble donc que les isolats de *M. haemolytica* retrouvés au niveau du poumon lors d'épisodes de BPI puissent résulter (i) d'une émergence individuelle intra-hôte de clones de *M. haemolytica* qui, à la faveur de conditions favorables permises par des infections virales et/ou des états de stress, ont rompu l'équilibre avec l'hôte pour coloniser le poumon et entraîner la maladie (NB : des virus ont été fréquemment isolés lors d'épisodes de BPI (Cf. chapitre 2)) mais aussi (ii) d'une transmission horizontale entre bovins du même lot d'un seul clone de *M. haemolytica*. Cependant, notre étude n'ayant été réalisée que dans 12 lots de bovins à l'engrais, il n'a pas été possible de déterminer entre ces 2 voies quelle est la principale source d'acquisition, par les bovins, des clones de *M. haemolytica* retrouvés dans les poumons lors d'épisodes de BPI. De plus, notre objectif était de décrire la diversité génétique afin d'émettre des hypothèses de transmission et non de la démontrer *sensu-stricto*. Enfin, nous n'avons pas étudié les facteurs pouvant expliquer la transmission observée tels que les facteurs de virulence favorisant la colonisation des poumons des bovins ou encore la présence de facteurs liés à l'hôte favorisant sa réceptivité à *M. haemolytica*. Nous avons tout de même dosé, à la mise en lot, les anticorps anti-leucotoxine de *M. haemolytica*. Cependant, aucun lien (i) entre la concentration en anticorps anti-leucotoxine de *M. haemolytica* à la mise en lot et l'isolement subséquente de *M. haemolytica* ou (ii) entre le nombre de bovins séropositifs à la mise en lot et la transmission horizontale d'un clone de *M. haemolytica* n'a été mis en évidence (résultats non rapportés dans le manuscrit).

Le typage par PFGE des isolats de *M. bovis* a montré que, dans la plupart des épisodes où *M. bovis* était impliqué (5 épisodes sur les 6 où plus de 2 bovins étaient positifs pour *M. bovis*), seul un clone de *M. bovis* était présent, et cela même si les animaux provenaient de multiples exploitations d'origine. Ce résultat suggère qu'un seul clone s'est transmis horizontalement par épisode de BPI où *M. bovis* était impliqué. Cette observation est en accord avec l'étude d'Arcangioli et al. (2011) qui, eux aussi, ont montré, chez des veaux de

boucherie, la présence d'un seul clone dit épidémique de *M. bovis* lors d'un épisode de BPI. L'augmentation de la prévalence des bovins infectés par *M. bovis* lors d'un épisode de BPI résulte donc, d'après nos résultats, majoritairement d'une transmission horizontale d'un seul clone et moins fréquemment d'émergences individuelles intra-hôtes de souches de *M. bovis* présentes au niveau du nasopharynx des bovins. Notre étude ayant été conduite dans des lots de petite taille, nous ne pouvons néanmoins pas exclure que plusieurs clones de *M. bovis* puissent être impliqués dans des épisodes de BPI survenant dans des lots de plus grand taille contenant des animaux originaires d'un plus grand nombre d'exploitation.

Il n'a pas été possible de déterminer, dans notre étude, la source des clones de *M. bovis* retrouvés lors des épisodes de BPI. En effet, ces clones pouvaient provenir soit des bovins des lots au-contact (*i.e.* présence de bovins infectés chroniques dans l'atelier d'engraissement (Arcangioli et al., 2011)), soit des bovins nouvellement introduits dans l'atelier d'engraissement (*i.e.* bovins infectés par *M. bovis* à l'introduction). Or, pour des raisons de coûts, de faisabilité et d'acceptation des éleveurs, nous n'avons pas prélevé (*i*) les bovins des lots au-contact et (*ii*) les bovins suivis dans l'étude lors de leurs mises en lot pour rechercher *M. bovis*. Néanmoins, deux clones différents ont été retrouvés dans 2 lots de bovins introduits à des dates différentes dans un même atelier d'engraissement ce qui suggère *a priori* l'introduction d'un nouveau clone par les bovins achetés. Ce résultat est en accord avec l'étude de Butler et al. (2001) qui ont, eux aussi, retrouvé des clones différents de *M. bovis* lors d'épisodes de BPI successifs survenant dans une exploitation de génisses laitières ayant des rentrées séquentielles d'animaux. Cette introduction d'un clone de *M. bovis* qui peut ensuite se transmettre horizontalement indique un intérêt potentiel, en l'absence de mesures vaccinales disponibles, à (*i*) l'application d'une quarantaine pour les animaux nouvellement introduits et au (*ii*) dépistage à l'introduction des animaux infectés par *M. bovis* afin de les isoler voire de leur administrer un traitement antibiotique pour prévenir l'infection des bovins sains et réceptifs au-contact.

Dans le cadre de nos travaux, nous nous sommes intéressés à la transmission de *M. haemolytica* et *M. bovis* et non à la « transmission » de la maladie. Or, la transmission de ces bactéries, même si elles sont pathogènes, n'est pas toujours synonyme de « transmission » de la maladie. En effet, Briggs et al. (1998) ont montré qu'une souche de *M. haemolytica* sérotype A1 (sérotype considéré comme pathogène) pouvait être transmise de nez-à-nez entre bovins à l'engrais en l'absence d'infection clinique détectée. De plus, nous avons montré que

*M. haemolytica* (Chapitre 3) et *M. bovis* (Chapitre 4) pouvaient être retrouvées dans les voies respiratoires basses de bovins cliniquement sains. Il faudrait donc compléter nos travaux sur la transmission de *M. haemolytica* et *M. bovis* par l'étude des facteurs expliquant la maladie (facteurs de virulence, autres agents pathogènes associées, sensibilité des bovins, etc.) pour pouvoir mieux comprendre la « transmission » de la maladie dans l'optique de rationaliser le choix de la stratégie de traitement antibiotique.

## 2. Implications

D'après nos résultats, le traitement antibiotique des seuls animaux détectés par examen visuel comme pouvant bénéficier d'un traitement est une stratégie de traitement insuffisante pour assurer les meilleures performances de croissance et le bien-être des bovins à l'échelle du lot, tout au moins dans certaines situations épidémiologiques. En effet, nous avons vu que l'examen visuel ne permettait pas de détecter l'ensemble des bovins atteints de BPI et que cette non-détection se traduisait par des répercussions négatives moyennes non négligeables sur les performances de croissance et potentiellement sur le bien-être des bovins (*i.e.* absence de maladie). De plus, nous avons vu que l'examen visuel ne permettait pas de détecter précocement les bovins atteints de BPI et donc, n'autorisait pas la mise en place d'une thérapie antibiotique précoce dans l'évolution du processus infectieux. Or, plus le traitement antibiotique est mis en place précocement, plus la taille de l'inoculum bactérien à traiter au site de l'infection (*i.e.* le poumon) est petite. Cet inoculum de petite taille a alors moins de chances de contenir un mutant résistant avant la mise en place du traitement (car le nombre de répliquations bactériennes nécessaires pour obtenir un inoculum de petite taille est souvent inférieur à la fréquence d'apparition de mutations) et cet inoculum de petite taille nécessite une dose d'antibiotique moindre pour être totalement éradiqué (Ferran et al., 2009, Kesteman et al., 2009). Des travaux récents ont d'ailleurs montré que le traitement précoce (10 h *versus* 32 h post-infection) de pneumonies expérimentales à *Pasteurella multocida* chez la souris (Ferran et al., 2010) permettait, d'une part, de réduire significativement la probabilité d'émergence de résistances bactériennes au niveau du site d'infection (*i.e.* le poumon) et, d'autre part, de diminuer jusqu'à 40 fois la dose d'antibiotique nécessaire pour obtenir une guérison clinique et bactériologique. Ces résultats prometteurs constituent une preuve de concept. Et, même s'il est indispensable que cette preuve soit administrée chez le bovin, elle encourage fortement à ce que les bovins atteints de BPI soient détectés et traités le plus précocement possible. Néanmoins, de nombreux travaux de recherche sont encore nécessaires

afin de confirmer l'intérêt médical et/ou économique (i) d'un traitement antibiotique précoce avant l'apparition de signes cliniques de BPI détectables par examen visuel et (ii) d'un traitement antibiotique des animaux atteints de BPI non-détectés par examen visuel. En effet, certaines phases précoces de BPI ou certaines BPI non-détectées par examen visuel peuvent être exclusivement dues à des infections virales ce qui supprime l'intérêt d'un traitement antibiotique. Il semble donc nécessaire d'aller confirmer l'implication de bactéries dans le processus infectieux de ces animaux atteints de BPI sous-détectés par examen visuel avant tout traitement antibiotique. De plus, certaines BPI non-détectées par examen visuel peuvent n'être que transitoires. En effet, nous avons aussi vu qu'une majeure partie des phases hyperthermies non-associées à des signes cliniques de BPI détectés duraient moins de 47 heures. La mise en place d'un traitement antibiotique très précoce entrainerait donc le traitement de bovins dont le système immunitaire seul pourrait limiter l'infection tout en instaurant une immunité spécifique contre l'agent pathogène rencontré (Frank et al., 2002).

L'utilisation de systèmes d'alerte basés sur le suivi régulier (ou en continu) de l'évolution de la température corporelle pourrait à l'avenir être une alternative à la métaphylaxie. La métaphylaxie permet de lutter contre les conséquences de (i) l'absence de traitement des bovins atteints de BPI non-détectés par examen visuel et (ii) du retard aux traitements des bovins atteints de BPI détectés tardivement dans l'évolution du processus infectieux. Elle est mise en place après la détection par examen visuel des premiers bovins atteints de BPI dans un lot. Elle consiste à administrer des traitements antibiotiques aux bovins au contact des animaux détectés. Ils sont ainsi tous traités et ce précocement. Cependant, en raison de la sous-détection des bovins atteints de BPI par examen visuel, sa mise en place est probablement tardive par rapport aux processus infectieux au niveau du lot c'est-à-dire aux éventuelles transmissions horizontales de bactéries pathogènes entre bovins malades non-détectés et bovins sains au-contact. Arcangioli et al. (2008) ont d'ailleurs montré chez des veaux non-sevrés que *M. bovis* pouvait être transmis horizontalement avant la détection par examen visuel des premiers malades. De plus, la métaphylaxie ne permet pas de traiter l'ensemble des bovins atteints de BPI non-détectés par examen visuel qui pourraient néanmoins bénéficier d'un traitement. En effet, nous avons vu que des cas de BPI non-détectées pouvaient survenir plusieurs semaines après la détection des premiers cas dans un lot (Cf. Chapitre 2). Enfin, la métaphylaxie, par définition non-ciblée, entraîne nécessairement l'administration d'antibiotique à des bovins sains qui n'en auraient pas nécessité (absence de bactéries transmissibles dans le lot, non-réceptivité aux bactéries transmissibles, aptitude à



surmonter rapidement l'infection). L'utilisation de systèmes d'alerte basés sur le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle tel que le thermobolus permettrait la mise en place de traitement précoce et ciblé des seuls bovins en hyperthermie. De plus, il permettrait de sélectionner les bovins à traiter selon la durée et/ou l'intensité de l'hyperthermie. Cependant, le coût élevé des thermobolus (environ 60 € l'unité), leurs durées de vie limitées et les difficultés liées à leurs récupérations à l'abattoir limitent leurs utilisations en pratique. Des systèmes plus pratiques et moins chers que les thermobolus, comme le Fevertag (Fevertags LLC, TX, USA) qui vient récemment d'être mis sur le marché aux Etats-Unis d'Amérique, devraient donc être développés et/ou évalués pour rendre possible le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle des bovins an ateliers d'engraissement.

Le traitement métaphylactique de l'ensemble des bovins d'un lot dans la seule indication de protéger les bovins sains et réceptifs présents au sein du lot ne devrait être décidé et mis en place qu'après l'identification de bactéries pathogènes transmissibles dans le lot. En effet, nous avons montré que *M. haemolytica* n'était pas toujours transmise horizontalement entre bovins lors d'épisodes de BPI. La protection des bovins sains et réceptifs présents dans le lot ne semblerait donc pas toujours indiquée lorsque *M. haemolytica* est la seule bactérie impliquée. Cependant, dans certains épisodes de BPI, *M. haemolytica* semble néanmoins se transmettre horizontalement. Il faudrait donc définir les facteurs expliquant cette transmission (facteurs de virulence particuliers, réceptivité des bovins, etc.) afin de la prédire précocement ce qui pourrait *in fine* justifier, dans certaines situations, la mise en place d'un traitement antibiotique de l'ensemble du lot. A l'inverse de *M. haemolytica*, nous avons vu que *M. bovis* se transmettait fréquemment entre bovins au contact. La protection des bovins sains et réceptifs présents dans le lot *via* la mise en place d'une couverture antibiotique de longue durée présenterait donc un intérêt (à condition d'utiliser des antibiotiques actifs contre *M. bovis*). Nagatomo et al. (1996) ont, en effet, montré que le traitement antibiotique avec de la leucomycine (macrolide) de l'ensemble d'un lot de veaux au contact de veaux infectés par *M. bovis* avant toute manifestation clinique de la maladie retardait la seroconversion, évitait les morts et réduisait la morbidité par rapport à d'autres lots où seuls les veaux atteints de BPI détectés par examen visuel étaient traités. Cependant, pour être efficace, Nagatomo et al. (1996) suggèrent que ce traitement doit être initié très tôt voire préventivement, ce que ne permet pas le recours à la métaphylaxie telle qu'elle est pratiquée à l'heure actuelle. Ce constat renforce l'intérêt des systèmes d'alerte

permettant une détection précoce des animaux infectés par des bactéries transmissibles telles que *M. bovis*.

### 3. Perspectives

Les stratégies de traitements des BPI des bovins à l'engrais devront être développées conjointement et adaptées aux sensibilités et précocités de détection des systèmes d'alerte qui sont de plus en plus proposés. L'évolution technologique permanente des outils de mesure de l'état de santé et du comportement des bovins met à la disposition des chercheurs et des professionnels des filières d'engraissement des systèmes qui permettent de s'affranchir de l'examen visuel permettant alors une détection précoce, sensible et objective des bovins à examiner. Parmi les systèmes disponibles dès aujourd'hui, nous avons vu que ceux basés sur le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle tel que le thermobolus étaient prometteurs. Cependant, d'autres outils de mesure en continu de l'état de santé des bovins existent et mériteraient d'être investigués tels que les podomètres ou les systèmes de suivi en continu du comportement alimentaire des bovins. Récemment, Hanzlicek et al. (2010) ont montré, chez 14 veaux (poids vifs moyen = 199,2 kg) infectés expérimentalement par inoculation intra-bronchique de *M. haemolytica*, que le comportement était rapidement modifié post-infection. En effet, ils ont observé, à l'aide de podomètres, une diminution significative du nombre de pas par jour post-infection ( $10\,986 \pm 693$  pré-infection *versus*  $6\,280 \pm 693$  post-infection) et ce, dès le jour de l'infection. Leurs résultats indiquent donc que l'utilisation de podomètres permettrait une détection précoce des bovins à l'engrais atteints de BPI. De plus, l'utilisation de podomètres en parallèle avec un système de suivi en continu de l'évolution de la température corporelle permettrait de différencier les phases d'hyperthermies dues à une augmentation de l'activité des animaux (*i.e.* comportement agonistique) de celles dues à une infection (*i.e.* fièvre). Le suivi du comportement alimentaire (temps passé à l'auge et nombre de buvée) semble aussi prometteur pour la détection des animaux atteints de BPI. Il permettrait, en plus de la détection des troubles de santé associés à de la dysorexie, de différencier lors de BPI (ou d'hyperthermie), une diminution du GMQ due à une diminution de l'ingestion, d'une diminution du GMQ due à une augmentation de catabolisme ou une diminution de l'efficacité alimentaire. Pour donner un exemple de la rapidité des évolutions technologiques, le système Grow safe Beef commercialisé aux Etats-Unis permet, dès à présent, de suivre en continu le nombre de buvées de chaque bovin à l'engrais et l'évolution journalière de son poids vif (pesée systématique lors de chaque buvée). De plus, il marque

automatiquement par de la peinture les animaux ayant une diminution de GMQ ou un profil des buvées indiquant potentiellement une maladie.

Ces systèmes d'alerte sont néanmoins tous non-spécifiques des BPI. Il est donc nécessaire d'associer aux alertes produites par ces systèmes, d'une part, des techniques permettant de confirmer la présence et la nature exacte de la maladie (examen clinique et/ou examens complémentaires) et, d'autre part, des traitements associés à chaque détection (pas de traitement, traitement avec des anti-inflammatoires seulement, traitements avec des antibiotiques seulement et traitement avec des anti-inflammatoires et des antibiotiques). Parmi les techniques permettant de confirmer la présence de BPI, on retrouve l'examen clinique des bovins, en particulier, l'auscultation pulmonaire qui autorise la détection de modifications de bruits pulmonaires. L'auscultation pulmonaire nécessite néanmoins de l'expérience, ne permet pas de différencier une BPI d'origine virale, d'une BPI d'origine bactérienne et peut, dans certains cas, manquer de sensibilité (Radostits et al., 2007). Parmi les examens complémentaires envisageables, le dosage de la concentration sérique (ou plasmatique) de haptoglobine (protéine majeure de l'inflammation chez les bovins) a montré une bonne aptitude à identifier précocement les animaux nécessitant un traitement anti-inflammatoire (Humblet et al., 2004). Malheureusement, on ne dispose pas à l'heure actuelle de test rapide permettant de doser l'haptoglobine « au chevet » du malade. On pourrait aussi imaginer des tests rapides permettant de mettre en évidence la présence de bactéries pathogènes sur des prélèvements des voies respiratoires basses (aspiration transtrachéale [ATT] ou lavage broncho-alvéolaire [LBA]). Néanmoins, d'après nos résultats (Cf. Chapitre 3) et ceux d'Allen et al. (1991), il semblerait que le poumon des bovins à l'engrais, même lorsque ces bovins sont cliniquement sains, ne soient pas stériles durant les premières semaines qui suivent la mise en lot. La décision d'administrer un traitement antibiotique ne pourra donc pas être basée sur la seule présence de bactéries pathogènes mais aussi sur la quantité de bactéries présentes. L'utilisation de cultures bactériennes quantitatives des échantillons prélevés au niveau du poumon par ATT ou LBA permettrait de différencier une colonisation, d'une infection bactérienne. Ces cultures sont d'ailleurs déjà utilisées depuis plusieurs années en médecine humaine lors de pneumonies associées à la ventilation assistée afin de décider de la mise en place d'un traitement antibiotique (Rello et al., 2001). En effet, seules les pneumonies où la concentration bactérienne sur les liquides de LBA est  $\geq 10^4$  Unité formant Colonie par millilitre sont traitées à l'aide d'antibiotique (Rello et al., 2001) (NB : afin de prendre en compte la dilution liée au prélèvement, la concentration bactérienne du prélèvement est

interprétée en parallèle du ratio  $[\text{urée}]_{\text{plasmatique}} / [\text{urée}]_{\text{prélèvement}}$  (Rennard et al., 1986)). Concernant les traitements antibiotiques des bovins malades, la quantité d'antibiotique administrée pourrait être réduite avec l'utilisation de système de détection précoce qui permettrait la mise en place d'un traitement antibiotique au stade où l'inoculum bactérien est encore de petite taille (Ferran et al., 2010). De plus, avec ces systèmes de détection précoce, on pourrait imaginer des traitements alternatifs aux antibiotiques. Schaeffer et al. (2006) ont, en effet, montré que l'oxyde nitrique par inhalation, dont les propriétés antimicrobiennes ont été démontrées en médecine humaine (Miller et al., 2009), permettait de prévenir la survenue de BPI s'il était mis en place précocement dans le processus infectieux.

Des travaux de recherche devraient être menés pour développer des méthodes permettant de prédire la probabilité de la transmission horizontale de bactéries pathogènes au sein d'un lot de bovins à l'engrais. Le recours à un traitement antibiotique de l'ensemble du lot dans le seul objectif de protéger les bovins sains et réceptifs serait plus rationnel s'il n'était réalisé qu'en cas de forte probabilité de transmission de bactéries pathogènes. Cette prédiction devrait de plus être précoce dans l'évolution du processus infectieux au niveau du lot. En effet, plus cette prédiction est précoce et, potentiellement, plus le nombre de bovins sains et réceptifs à protéger est important renforçant l'intérêt de la métaphylaxie. Les étapes de cette prédiction dépendront de la transmissibilité supposée de la bactérie. Si la transmissibilité semble varier entre souches d'une même espèce bactérienne comme pour *M. haemolytica*, dont la transmission ne semble pas être systématique, il faudra, tout d'abord, (i) développer des méthodes permettant de détecter précocement la présence de cette bactérie dans le lot (écouvillonnage nasal [EN] à la mise en lot ?) puis, (ii) étudier sa « transmissibilité » c'est-à-dire investiguer la présence, chez les isolats obtenus, de facteurs de virulence favorisant l'attachement et la colonisation des voies respiratoires des bovins (adhésines, polysaccharides de capsule, *fimbriae*, sialoglycoprotéase, neuraminidases, etc.) et/ou la survie de la bactérie dans les voies respiratoires basses (leucotoxine) (Rice et al., 2007) et, enfin, (iii) investiguer les facteurs favorisant la réceptivité de l'hôte à la bactérie (immunité, présence de facteurs de stress non-infectieux, co-infection virale). L'étude des facteurs de virulence pourrait, de plus, permettre de prédire la maladie, c'est-à-dire discriminer les souches très virulentes (avec, par exemple, un grand nombre de promoteurs du gène de la leucotoxine) des souches moins virulentes. Si la transmissibilité semble fréquente comme pour *M. bovis*, la prédiction de la transmission pourrait reposer exclusivement sur la détection précoce chez au moins un bovin du lot de cet agent pathogène. Néanmoins, il est à noter qu'à l'heure actuelle, la faisabilité sur

le terrain de la prédiction de la transmission de bactéries pathogènes dans un lot de bovins est faible. Un premier verrou consistera, par exemple, à détecter précocement la présence d'une bactérie potentiellement transmissible dans le lot (par exemple, *M. bovis*) : quel prélèvement faudra-il réaliser (EN, LBA, ATT) et quand (mise en lot, 1<sup>er</sup> bovin en hyperthermie, etc.) ? Quels animaux faudra-il prélever (tout le lot, juste les animaux en hyperthermie, etc.) ? Etc.

L'efficacité des traitements antibiotiques pour protéger les animaux sains et réceptifs présents au sein d'un lot de bovins à l'engrais devrait être évaluée en parallèle des méthodes permettant de prédire la probabilité de la transmission de bactéries pathogènes. En effet, si l'efficacité des antibiotiques pour réduire la colonisation du nasopharynx et des poumons des bovins par les *Pasteurellaceae* a été démontrée (Frank et al., 2000), l'efficacité d'un traitement antibiotique pour protéger les bovins sains au contact de bovins infectés par *M. bovis* reste à confirmer (Maunsell et al., 2011).

#### 4. Conclusion

Deux domaines principaux de besoin de connaissances pour le choix rationnel d'une stratégie de traitement antibiotique des BPI survenant dans des lots de bovins à l'engrais ont fait l'objet de travaux : (i) l'évaluation de la sous-détection (*i.e.* à la fois retard à la détection et non-détection) par examen visuel des bovins atteints de BPI et l'estimation de l'impact de cette sous-détection sur les performances de croissance des bovins, et (ii) l'étude de la transmission horizontale de *Mannheimia haemolytica* et de *Mycoplasma bovis* au sein de lots lors d'épisodes de BPI.

Pour investiguer la sous-détection, nous avons dans un premier temps évalué un système d'alerte basée sur le suivi en continu de l'évolution de la température corporelle par un thermobolus intraruminal. *Via* ce système de détection sensible, nous avons ensuite montré la présence de nombreux retards et défauts de détection des bovins atteints de BPI par le seul examen visuel. Ces retards et défauts de détection étaient associés à une diminution des performances de croissance. Ces résultats indiquent que le traitement des seuls bovins détectés malades par examen visuel ne suffit pas pour assurer les meilleures performances de croissance et le bien-être des bovins à l'échelle du lot.

Le typage par électrophorèse sur champs pulsés a montré une forte variabilité génétique intra-lot des isolats de *M. haemolytica*, ce qui est en faveur d'une transmission

horizontale peu fréquente de cette bactérie. A l'inverse, un seul clone de *M. bovis* était présent par épisode de BPI, ce qui est en faveur d'une transmission horizontale fréquente. Ces résultats indiquent que le traitement de l'ensemble des bovins d'un lot dans le seul objectif de protéger les animaux sains et réceptifs apparaît justifié en cas d'implication de *M. bovis* et plus discutable en cas d'implication exclusive de *M. haemolytica*. Néanmoins, le caractère généralisable de ces conclusions est à confirmer, notamment pour *M. haemolytica*.

Au final, à l'avenir, des systèmes d'alerte permettant une détection précoce et sensible des bovins affectés devraient être mis en œuvre. De plus, des méthodes adaptées pour détecter précocement la présence ou non de bactéries pathogènes transmissibles au sein de lots de bovins à l'engrais devraient aussi être développées afin de décider rationnellement la mise en place du traitement antibiotique de l'ensemble du lot.

## 5. Références bibliographiques

- Allen, J., L. Viel, K. Bateman, S. Rosendal, P. Shewen, et P. Physick-Sheard. 1991. The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves: associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage cultures. *Canadian journal of veterinary research* 55: 341-346.
- Arcangioli, M. A., H. Aslan, F. Tardy, F. Poumarat, and D. Le Grand. 2011. The use of pulsed-field gel electrophoresis to investigate the epidemiology of *Mycoplasma bovis* in French calf feedlots. *Veterinary Journal In press*. doi:10.1016/j.tvjl.2011.05.004
- Arcangioli, M. A., A. Duet, G. Meyer, A. Dernburg, P. Bezille, F. Poumarat, et D. Le Grand. 2008. The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *Veterinary Journal* 177: 89-93.
- Bateman, K., S. Martin, P. Shewen, et P. Menzies. 1990. An evaluation of antimicrobial therapy for undifferentiated bovine respiratory disease. *The Canadian Veterinary Journal* 31: 689-696.
- Briggs, R., G. Frank, C. Purdy, E. Zehr, et R. Loan. 1998. Rapid spread of a unique strain of *Pasteurella haemolytica* serotype 1 among transported calves. *American Journal of Veterinary Research* 59: 401-405.
- Butler, J., C. Pinnow, J. Thomson, S. Levisohn, et R. Rosenbusch. 2001. Use of arbitrarily primed polymerase chain reaction to investigate *Mycoplasma bovis* outbreaks. *Veterinary Microbiology* 78:175-181.
- Cole, N., J. McLaren, et M. Irwin. 1979. Influence of pretransit feeding regimen and post-transit B-vitamin supplementation on stressed feeder steers. *Journal of Animal Science* 49: 310-317.
- Duff, G., et M. Galyean. 2007. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 85: 823-840.

- Ferran, A., A. Kesteman, P. Toutain, et A. Bousquet-Melou. 2009. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic analysis of the influence of inoculum size on the selection of resistance in *Escherichia coli* by a quinolone in a mouse thigh bacterial infection model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53: 3384-3390.
- Ferran, A., P. Toutain, et A. Bousquet-Melou. 2011. Impact of early versus later fluoroquinolone treatment on the clinical; microbiological and resistance outcomes in a mouse-lung model of *Pasteurella multocida* infection. *Veterinary Microbiology* 148 :292-297.
- Frank, G., R. Briggs, R. Loan, C. Purdy, et E. Zehr. 2000. Effects of tilmicosin treatment on *Pasteurella haemolytica* organisms in nasal secretion specimens of calves with respiratory tract disease. *American Journal of Veterinary Research* 61: 525-529.
- Frank, G., R. Briggs, G. Duff, R. Loan, et C. Purdy. 2002. Effects of vaccination prior to transit and administration of florfenicol at time of arrival in a feedlot on the health of transported calves and detection of *Mannheimia haemolytica* in nasal secretions. *American Journal of Veterinary Research* 63: 251-256.
- Hanzlicek, G., B. White, D. Mosier, D. Renter, et D. Anderson. Serial evaluation of physiologic, pathological, and behavioral changes related to disease progression of experimentally induced *Mannheimia haemolytica* pneumonia in postweaned calves. *American Journal of Veterinary Research* 71: 359-369.
- Humblet, M., J. Coghe, P. Lekeux, et J. Godeau. 2004. Acute phase proteins assessment for an early selection of treatments in growing calves suffering from bronchopneumonia under field conditions. *Research in Veterinary Science* 77: 41-47.
- Jensen, R., et D. Mackey. 1979. *Diseases of feedlot cattle*. 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Kesteman, A., A. Ferran, A. Perrin-Guyomard, M. Laurentie, P. Sanders, P. L. Toutain, et A. Bousquet-Melou. 2009. Influence of inoculum size and marbofloxacin plasma exposure on the amplification of resistant subpopulations of *Klebsiella pneumoniae* in a rat lung infection model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53: 4740-4748.
- Maunsell, F., A. Woolums, D. Francoz, R. Rosenbusch, D. Step, D. Wilson, et E. Janzen. 2011. *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25: 772-783.
- McMillan, F. 1985. Fever: pathophysiology and rational therapy. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 7: 845-85.
- Miller, C., B. McMullin, A. Ghaffari, A. Stenzler, N. Pick, D. Roscoe, A. Ghahary, J. Road, et Y. Av-Gay. 2009. Gaseous nitric oxide bactericidal activity retained during intermittent high-dose short duration exposure. *Nitric Oxide* 20: 16-23.
- Mounier, L., I. Veissier, et A. Boissy. 2005. Behavior, physiology, and performance of bulls mixed at the onset of finishing to form uniform body weight groups. *Journal of Animal Science* 83: 1696-1704.

- Nagatomo, H., T. Shimizu, Y. Higashiyama, Y. Yano, H. Kuroki, et K. Hamana. 1996. Antibody response to *Mycoplasma bovis* of calves introduced in a farm contaminated with the organism. *Journal of Veterinary Medicine Science* 58: 919-920.
- Radostits, O., C. Gay, K. Hinchcliff, et P. Constable. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs, and goats*. 10th ed. W.B. Saunders Ltd, London.
- Rello, J., J. Paiva, J. Baraibar, F. Barcenilla, M. Bodi, D. Castander, H. Correa, E. Diaz, J. Garnacho, M. Llorio, M. Rios, A. Rodriguez, et J. Sole-Violan. 2001. International Conference for the Development of Consensus on the Diagnosis and Treatment of Ventilator-associated Pneumonia. *Chest* 120: 955-970.
- Rennard, S., G. Basset, D. Lecossier, K. O'Donnell, P. Pinkston, P. Martin, et R. Crystal. 1986. Estimation of volume of epithelial lining fluid recovered by lavage using urea as marker of dilution. *Journal of Applied Physiology* 60:532-538.
- Rice, J., L. Carrasco-Medina, D. Hodgins, et P. Shewen. 2007. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews* 8:117-128.
- Schaefer, A., B. Perry, N. Cook, C. Miller, J. Church, A. Tong, et A. Stenzler. 2006. Infrared detection and nitric oxide treatment of bovine respiratory disease. *Online Journal of Veterinary Research* 10: 7-16.
- Smith, R. 1998. Impact of disease on feedlot performance: a review. *Journal of Animal Science* 76: 272-274.
- Thompson, P., A. Stone, et W. Schultheiss. 2006. Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 84: 488-498.
- Weary, D., J. Huzzey, et M. von Keyserlingk. 2009. Board-invited review: Using behavior to predict and identify ill health in animals. *Journal of Animal Science* 87: 770-777.



# Annexes

- **Annexe 1 :** Assié, S., E. Timsit, et N. Bareille. 2009. Métaphylaxie et antibioprévention lors de maladies respiratoires des jeunes bovins élevés en lots. *Nouveau Praticien Vétérinaire : Elevages et Santé* 11, 29-34.
- **Annexe 2 :** Timsit, E., S. Assié, et N. Bareille. 2009. Failure to detect bovine respiratory disease by visual appraisal in young beef cattle. *Proceedings of the 12th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE)*, Durban, RSA, 9-14 août, 683.

## Annexe 1

# métaphylaxie et antibioprévention lors de maladies respiratoires des jeunes bovins élevés en lots

La métaphylaxie est un terme compliqué car il recouvre des définitions différentes selon les pays, donc selon les publications. Afin de comparer les résultats des essais menés depuis 10 ans sur celle-ci ou sur l'intérêt de la prévention systématique *versus* au cas par cas, un rappel précis des définitions de la métaphylaxie et de l'antibioprévention ou de l'antibioprophylaxie permet d'apprécier ces résultats et leurs limites.

Les troubles respiratoires représentent 75 p. cent des troubles de santé des jeunes bovins élevés en lots [3]. Les mesures préventives sont très développées mais insuffisantes à elles seules pour maîtriser ces troubles.

- Elles sont alors associées à des mesures curatives principalement fondées sur l'utilisation d'antibiotiques. Ces traitements antibiotiques sont principalement mis en œuvre au cas par cas, chez les seuls animaux détectés malades.

Cependant, sous certaines conditions, ces traitements concernent parfois l'ensemble des jeunes bovins d'un lot, et correspondent alors à des traitements métaphylactiques.

- L'objectif de cet article est de définir le concept de métaphylaxie, de présenter les objectifs poursuivis et sa mise en œuvre lors de maladies respiratoires des jeunes bovins mais aussi de mettre l'accent sur les principaux manques de connaissances scientifiques concernant cette pratique.

### LE CONCEPT DE MÉTAPHYLAXIE

#### Définitions

- Une acception fréquente du terme métaphylaxie, retrouvée dans la plupart des publications anglo-saxonnes, est une antibiothérapie systématique, à un moment stratégique pour prévenir les symptômes cliniques [23]. Ces antibiotiques peuvent être administrés avant ou après le transport



En France, la métaphylaxie correspond au traitement d'un groupe d'animaux au sein duquel se développe une maladie (photo S. Assié...)

et le rassemblement des animaux [12, 14], de manière indifférenciée [16] ou sélectivement, en fonction de la température rectale de l'animal [26].

Très souvent, les jeunes bovins à plus de 39,7°C de température rectale (parfois 40°C dans certains *feedlots*) sont traités de manière systématique [15].

- L'acception la plus largement admise en France, et retenue dans certaines publications anglo-saxonnes, diffère sensiblement.

- Le terme métaphylaxie désigne alors l'administration d'antibiotiques à la totalité d'un lot (malades, sains, en incubation) au-dessus d'un certain seuil de morbidité [21].

- La métaphylaxie correspond alors au traitement d'un groupe d'animaux au sein duquel se développe une maladie [13] (photo 1).

- Ainsi, en France, on différencie la métaphylaxie de l'antibioprévention ou de l'antibioprophylaxie.

- L'antibioprophylaxie est un traitement préventif, mis en place dès l'arrivée des bovins dans l'élevage, avant toute expression clinique de la maladie.

- La métaphylaxie est un traitement précoce associant le traitement des animaux déjà atteints, et la prévention chez ceux qui sont exposés [28].

Sébastien Assié  
Édouard Timsit  
Nathalie Bareille

UMR Bioagression Epidémiologie  
et Analyse de Risques  
ENVN-INRA  
Atlanpole-Chantrerie - BP 40706  
44307 Nantes

### Objectifs pédagogiques

- Connaître les définitions de la métaphylaxie et savoir comment elle est mise en œuvre.
- Connaître les essais terrain publiés depuis 10 ans et leurs résultats.
- Savoir relativiser ces résultats compte tenu des limites et des essais.

### Définitions

- Dans la plupart des publications anglo-saxonnes, la métaphylaxie est une antibiothérapie systématique à un moment stratégique pour prévenir les symptômes cliniques.

- En France (et dans certaines publications anglo-saxonnes), la métaphylaxie désigne l'administration d'antibiotiques à la totalité d'un lot (malades, sains, en incubation) au-dessus d'un certain seuil de morbidité.

- L'antibioprophylaxie est un traitement préventif mis en place dès l'arrivée des bovins dans l'élevage avant toute expression clinique de la maladie.

- La métaphylaxie est un traitement précoce associant le traitement des animaux déjà atteints et la prévention chez ceux qui sont exposés.

RUMINANTS





2 La prévision de la rentabilité économique est difficile et très variable selon les cas, elle semble d'autant plus probable que l'incidence des troubles respiratoires est élevée (photo S. Assié).

### Essentiel

■ L'objectif opérationnel de la métaphylaxie est d'empêcher l'apparition de nouveaux malades dans un lot.

■ La rentabilité économique paraît a priori d'autant plus probable que l'incidence des troubles respiratoires est élevée.

■ Deux paramètres sont pris en compte sur le terrain pour décider la mise en place d'une métaphylaxie :

- le nombre d'animaux malades ;
- et le nombre de nouveaux cas par jour.

### Objectifs théoriques de la métaphylaxie

#### Objectifs médicaux

● L'objectif opérationnel de la métaphylaxie est d'empêcher l'apparition de nouveaux malades dans un lot [9, 8].

● La métaphylaxie permettrait cela en limitant le développement de l'infection bactérienne chez les animaux en incubation, et en limitant la contamination bactérienne des animaux encore sains.

● Les preuves scientifiques de ce mode d'action sont encore à apporter.

#### Objectifs de maîtrise du temps de travail

● Sur le terrain, cependant, la mise en place de la métaphylaxie ne suit pas forcément une logique uniquement médicale.

● La métaphylaxie est souvent simplement utilisée face à la difficulté qu'ont les éleveurs à détecter les animaux malades (variabilité des tableaux cliniques, insuffisance des systèmes de contention, technicité des éleveurs, ...) et l'impossibilité qu'ils ont parfois à traiter au cas par cas les animaux malades, et à parvenir à éteindre une épidémie en cours. Dans les élevages où la main d'œuvre disponible est faible, cela peut devenir crucial.

#### Objectif économique

● Diminuer l'impact économique des troubles respiratoires justifie principalement l'utilisation d'un traitement métaphylactique par rapport aux traitements individuels au cas par cas.

● La prévision de la rentabilité économique est difficile et très variable selon les cas, mais paraît a priori d'autant plus probable que l'incidence des troubles respiratoires est

élevée [21] et que l'intervention des éleveurs est tardive par rapport au début de la maladie (photo 2).

### LA MISE EN ŒUVRE SUR LE TERRAIN

#### Prise de décision

● Deux paramètres sont pris en compte sur le terrain pour décider la mise en place d'une métaphylaxie :

- le nombre d'animaux malades ;
- et le nombre de nouveaux cas par jour.

Les seuils proposés en Amérique du Nord sont de 10 p. cent d'animaux malades et de 5 p. cent de nouveaux cas par jour [16].

Ces pourcentages sont modifiés en fonction de l'historique de l'élevage.

Les antécédents d'affections respiratoires collectives dans l'élevage considéré incitent à un recours rapide à la métaphylaxie.

● S'ils peuvent avoir du sens dans des *feed-lots* à grands effectifs, ces seuils de morbidité perdent de leur valeur lorsqu'ils sont appliqués à des petits lots (10 p. cent : un jeune bovin malade dans un lot de 10 !).

● La prise de décision est modulée intuitivement, au cas par cas, à partir de paramètres zootechniques [7]. Même si les seuils de morbidité précédemment définis ne sont pas atteints, la métaphylaxie peut être mise en œuvre si certains paramètres laissent supposer une extension importante des phénomènes morbides au sein du lot :

- caractéristique et origine des animaux ;
- mauvaise ambiance du bâtiment ;
- facteurs climatiques défavorables ;
- facteurs humains (anxiété, surcharge de travail, ...).

● Plus l'expérience du vétérinaire est grande, mieux il intègre ces facteurs pour infléchir sa prise de décision [13].

#### Molécules utilisées












● La priorité est donnée à l'utilisation d'un antibiotique efficace contre les pasteurelles [10, 2]. Selon le contexte de l'élevage, il peut être nécessaire d'utiliser un antibiotique ayant une activité contre *Mycoplasma bovis* fréquemment impliqué dans les troubles respiratoires des jeunes bovins.

● La couverture antibiotique mise en place doit être suffisamment longue, plusieurs jours, pour permettre de limiter le développement de l'infection bactérienne chez les animaux en incubation et la contamination des animaux sains, et ainsi, d'enrayer une épidémie. De plus, il est primordial que les antibiotiques soient toujours utilisés à dose thérapeutique [1].

## RUMINANTS



**Tableau 1 - Études comparant des traitements métaphylactiques pour les maladies respiratoires des veaux et des jeunes bovins : types d'élevage, caractéristiques des animaux, définitions utilisées**

Référence* Pays Type d'élevage	Caractéristiques des animaux	Durée du suivi	Définition d'un épisode / Détection et définition d'un cas de maladie respiratoire	Définition de la métaphylaxie
 ● Duff et coll. 2000 Nouveau-Mexique Élevage expérimental	- Veaux - Races à viande ou races croisées - Mâles castrés ou non castrés	Non précisé : jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Examen quotidien - Définition d'un cas : Température $\geq 39,7^{\circ}\text{C}$ + signes cliniques de maladie respiratoire	1. Traitement systématique à l'arrivée 2. Traitement systématique avant le transport
 ● Franck et coll. 2002 Nouveau-Mexique Un feedlot	- Veaux sevrés - Races à viandes - Mâles castrés	25 jours	- Détection des cas : Examen quotidien - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 39,7^{\circ}\text{C}$ et signes cliniques de maladies respiratoires	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Schunicht et coll. 2002 Alberta Deux feedlots de 24 000 et de 25 000 places	- Veaux récemment sevrés - Races croisées - Mâles castrés ou non castrés - 228 à 338 kg	Jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Observation 1 à 2 fois / jour par personnel expérimenté - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 40,3^{\circ}\text{C}$ et absence de signes cliniques autres que respiratoires	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Cusack et coll. 2004 Australie 1 feedlot de 7000 places	- Jeunes bovins - Races à viande - Sexe non précisé - Environ 300 kg	75 jours	- Détection des cas : Non précisée - Définition d'un cas : - Pas d'affection autre que respiratoire - Au moins deux signes cliniques parmi : dyspnée/jetage nasal ou buccal, abattement, baisse d'appétit	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Godinho et coll. 2005 France, Allemagne, Italie, Espagne Quatre exploitations	- Animaux âgés de 3 semaines à 12 mois - 60 à 460 kg	60 jours	- Épisode : 10 à 15% d'animaux atteints sur 72 h - Détection des cas : Non précisée - Définition d'un cas : Température $\geq 40^{\circ}\text{C}$ + signes cliniques de maladie respiratoire	- Traitement d'animaux sains au contact d'animaux malades
 ● Booker et coll. 2006 Nebraska Un feedlot	- Veaux sevrés - Races à viande - Mâles castrés et entiers - 248 à 261 kg	Jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Personnel expérimenté Observation 1 à 2 fois / jour - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 40^{\circ}\text{C}$ et absence de signes cliniques autres que respiratoires	- Traitement systématique 8 à 10 jours après l'arrivée
 ● Booker et coll. 2007 Alberta Un feedlot	- Veaux sevrés - Races "exotiques de l'ouest du canada" - Femelles - 245 - 300 kg	Jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Personnel expérimenté Observation 1 à 2 fois / jour - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 40^{\circ}\text{C}$ et absence de signes cliniques autres que respiratoires	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Step et coll. 2007 Mississippi et Oklahoma Deux "stocker units"***	- Veaux - Races à viande croisés - Mâles castrés - 143 à 338 kg	Jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Observation au moins 1 fois / j - Définition d'un cas : Définition de 4 scores cliniques, traitement si $T^{\circ} > 40^{\circ}\text{C}$ ou si score clinique $> 2$	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Catry et coll. 2008 Pays Bas Deux ateliers de veaux de boucherie	- Veaux Prim'Holstein mâles - 9 à 11 semaines lors de l'épisode de maladies respiratoires	20 jours	- Épisode : Plus de 10% d'animaux atteints sur 72 h - Détection des cas : Examen quotidien par un vétérinaire - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 39,8^{\circ}\text{C}$ ; abattement ; FR $> 60$ batt/min ; dyspnée ; toux ou jetage nasal	- Traitement d'animaux sains au contact d'animaux malades
 ● Nickell et coll. 2008 Kansas Un "stocker unit"***	- Veaux justes sevrés - Races à viande - Mâles castrés et non castrés	43 jours	- Détection des cas : Observation 2 fois / jour par personnel - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 40$	- Traitement systématique à l'arrivée
 ● Van Donkersgoed et coll. 2008 Alberta Un feedlot de 25 000 places	- Veaux sevrés - Croisés - Femelles - 259 à 290 kg	Non précisé : jusqu'à l'abattage	- Détection des cas : Examen quotidien par personnel expérimenté (à cheval !) - Définition d'un cas : $T^{\circ} > 40^{\circ}\text{C}$ et absence de signes cliniques autres que respiratoires	- Traitement systématique à l'arrivée

**NOTES**

\* Articles relatifs à la métaphylaxie (dans son acception la plus large) publiés dans des revues internationales à comité de lecture entre 1998 et 2009 avec une partie matériels et méthodes suffisamment décrite, une randomisation des traitements et une étude menée à l'aveugle.

\*\* Les "stocker calves" sont des veaux légers, juste sevrés, élevés en lots, nourris avec une ration à base de fourrage et de concentrés avant leur entrée dans les ateliers d'engraissement ou "feedlots".



**Tableau 2 - Traitements métaphylactiques testés et principaux résultats dans des études portant sur les maladies respiratoires des veaux et des jeunes bovins**

Référence Pays Type d'élevage	Métaphylaxies utilisées			Effectif	Principaux résultats
	Antibiotiques utilisés	Dose / Voie / Fréquence	Moment de l'injection		
● Duff et coll. 2000 Nouveau-Mexique Élevage expérimental	TILMpost : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	112 en 2 lots (32 + 80)	<b>Lot 1 (95 animaux) :</b> - Pourcentage de traitement dans les groupes TILMpost (46,9%) et TILMante (45,2%) par rapport au groupe TEM (71,9%) significativement plus faible <b>Lot 2 (240 animaux) :</b> - Pourcentage de traitement dans les groupes TILMpost (7,5%) TILMante (18,7%) par rapport au groupe TEM (40,0%) significativement plus faible - Pourcentage de traitement dans le groupe TILMpost par rapport au groupe TILMante significativement plus faible
	TILMante : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- Avant le transport	111 en 2 lots (31 + 80)	
	TEM : témoin	-	-	112 en 2 lots (32 + 80)	
● Franck et coll. 2002 Nouveau-Mexique Un feedlot	FLOR : Florfenicol	40 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	102	- L'administration de FLOR diminue l'incidence : 47 cas / 102 et 73 cas / 103 et retarde le moment d'apparition des cas
	TEM : témoin	-	-	103	
● Schunicht et coll. 2002 Alberta Deux feedlots de 24 000 et de 25 000 places	OXY : Oxytétracycline à action prolongée***	30 mg/kg I.M. 1 fois	- À l'arrivée	5495	- Pourcentage de traitement dans le groupe OXY (22,55%) par rapport au groupe TILM (19,36%) significativement plus élevé - Pas de différence significative en terme de mortalité et de performances de croissance
	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	5494	
● Cusack et coll. 2004 Australie 1 feedlot de 7000 places	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg I.M. 1 fois	- À l'arrivée	211	<b>Incidence des cas :</b> - TILM : - 8% de cas par rapport aux non traités - OXY : Pas significatif par rapport aux non traités <b>Croissance :</b> - + 0,08 kg/ j pour TILM par rapport à OXY - Pas de différence significative entre OXY et TEM
	OXY : Oxytétracycline LA	20 mg/kg I.M. 1 fois	- À l'arrivée	210	
	TEM : aucun	-	-	209	
● Godinho et coll. 2005 France, Allemagne, Italie, Espagne Quatre exploitations	TULA : Tulathromycine	2,5 mg/kg S.C. 1 fois	- Quand des cas sont détectés	492	<b>Dans les 14 premiers jours :</b> - Significativement plus de cas dans le groupe TILM (16,3%) et dans le groupe TEM (36,3%) par rapport au groupe TULA (7,6%) <b>Dans les 60 premiers jours :</b> - Significativement plus de cas dans le groupe TILM (24,9%) et dans le groupe TEM (43,8%) par rapport au groupe TULA (14,6%)
	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- Quand des cas sont détectés	494	
	TEM : Sérum physiologique	0,025 ml/kg S.C. 1 fois	- Quand des cas sont détectés	265	
● Booker et coll. 2006 Nebraska Un feedlot	CEFT3 : Ceftiofur**	6,6 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	3869	<b>En comparaison avec groupe TILM :</b> - Taux de mortalité (CEFT3 : 11,53 / CEFT6 : 11,90 / TILM : 15,90) significativement < pour les groupes CEFT3 et CEFT6 <b>En comparaison avec groupe TILM :</b> - Taux de croissance significativement < pour les groupes CEFT3 et CEFT6
	CEFT6 : Ceftiofur**	6,6 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	3866	
	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	3870	
● Booker et coll. 2007 Alberta Un feedlot	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	3306	<b>Pour le groupe TULA :</b> - Taux de morbidité (TILM : 14,04/ OXY : 17,02/ TULA : 3,42) - Taux de mortalité (4,90 / 6,03 / 2,27) significativement (P < 0,05) < par rapport aux groupes TILM et OXY
	OXY : Oxytétracycline	30 mg/kg I.M. 1 fois	- À l'arrivée	3303	
	TULA : Tulathromycine	2,5 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	3306	
● Step et coll. 2007 Mississippi et Oklahoma Deux "stocker units"***	CEFT/TULA : Ceftiofur** + tulathromycine 8 jours après	6,6 mg/kg S.C. 2,5 mg/kg S.C. 8 jours après	- À l'arrivée	299 en 2 lots (lot 1 : 102 ; lot 2 : 197)	<b>Lot 1 :</b> - Pourcentage de traitement significativement < pour groupe CEFT/TULA (52%) par rapport aux groupes CEFT (76,3%) et TILM (78,4%) <b>Lot 2 :</b> - Pourcentage de traitement significativement < pour groupe CEFT/TULA (2,6%) par rapport aux groupes CEFT (9,4%) et TILM (7,2%)
	CEFT : Ceftiofur	6,6 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	298 en 2 lots (102 / 196)	
	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	297 en 2 lots (102 / 195)	

➤ Suite p. 33

**NOTES \***

Articles relatifs à la métaphylaxie (dans son acception la plus large) publiés dans des revues internationales à comité

de lecture entre 1998 et 2009 avec une partie matériels et méthodes suffisamment décrite, une randomisation des traitements et une étude menée à l'aveugle.

\*\* Excede® : non commercialisé en France.  
\*\*\* Tetradure LA 300® : non commercialisé en France



**Tableau 2 (suite) - Traitements métaphylactiques testés et principaux résultats dans des études portant sur les maladies respiratoires des veaux et des jeunes bovins (suite)**

Référence Pays Type d'élevage	Métaphylaxies utilisées			Effectif	Principaux résultats
	Antibiotiques utilisés	Dose / Voie / Fréquence	Moment de l'injection		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Catry et coll. 2008</li> <li>Pays Bas</li> <li>Deux ateliers de veaux de boucherie</li> </ul>	FLOR : florfenicol	40 mg/kg S.C. 1 fois	- Lorsque des malades sont détectés	224	Incidence des cas : - Significativement moins de traitement pour le groupe avec FLOR (IC : [0,007-0,051] par rapport au groupe TILM/DOX (IC : [0,11 - 0,23]) et TEM Croissance : - Gain de poids à 20 j significatif (P = 0,003) pour le groupe avec FLOR (20,90 +/- 0,23 kg) par rapport au groupe TILM/DOX (19,82 +/- 0,22) et TEM
	TILM/DOX : Tilmicosine ou doxycycline	12,5 mg/kg P.O. 1 fois par jour 5 jours	- Lorsque des malades sont détectés	236	
	TEM : aucun	-	-	233	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Nickell et coll. 2008</li> <li>Kansas</li> <li>Un "stocker unit"***</li> </ul>	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	147	- Pourcentage de traitements / de morts significativement < pour groupe TULA (32,8% / 3,6%) par rapport au groupe TILM (68,0% / 13,5%) Croissance : - Performances de croissances significativement > pour le groupe TULA (2,5 lb/j) par rapport au groupe TILM (2,0 lb/j)
	TULA : Tulathromycine	2,5 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	146	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● Van Donkersgoed et coll. 2008</li> <li>Alberta</li> <li>Un feedlot de 25 000 places</li> </ul>	TILM : Tilmicosine	10 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	2250	- Significativement moins de cas dans le groupe TULA (3%) par rapport au groupe TILM (13%) - Pas de différence significative pour le taux de rechute et les taux de mortalité
	TULA : Tulathromycine	2,5 mg/kg S.C. 1 fois	- À l'arrivée	2244	

**En pratique :**

- pour traiter parfois un grand nombre d'animaux, on privilégie les antibiotiques faciles à injecter. Cela permet de se prémunir d'une mauvaise observance du traitement.
- Une bonne seringuabilité de l'antibiotique est nécessaire. Les volumes à injecter ne doivent pas être trop importants.
- La couverture antibiotique de plusieurs jours doit être obtenue avec un minimum d'injections, par voie sous-cutanée ou intramusculaire, pour limiter les manipulations des animaux. De ce fait, les antibiotiques ayant une durée d'action longue ont un avantage pratique par rapport aux antibiotiques à action courte.

- En tenant compte de ces éléments, de nombreuses molécules sont donc utilisables même si seules certaines des molécules récemment commercialisées ont dans leur A.M.M. une indication traitement et prévention des pathologies respiratoires bovines (tulathromycine et gamithromycine par exemple).
- Une synthèse des essais terrains publiés ces 10 dernières années dans des revues internationales à comité de lecture est présentée dans les tableaux 1 et 2.
- Ces essais comparent l'utilisation métaphylactique lors de troubles respiratoires de deux ou trois antibiotiques en terme de morbidité, de mortalité et parfois, d'impact sur la croissance des animaux.

- Certaines de ces études contiennent en plus une évaluation des conséquences économiques de la métaphylaxie avec les différentes molécules testées [5, 6, 27, 22].

- Cependant, ces études ayant été réalisées dans des systèmes très différents des systèmes d'élevage français, ces données économiques sont peu applicables à nos élevages (de ce fait, ces données non présentées dans les tableaux).

- L'acceptation française du mot métaphylaxie n'est reprise que dans les études de Godinho et coll. (2005) et de Catry et coll. (2008).

- Les critères de détection et de définition des cas varient d'une étude à l'autre, limitant les possibilités de synthèse.

- La plupart de ces études ont bénéficié d'un support financier d'une firme pharmaceutique, ce qui, comme il se doit, est clairement mentionné dans les articles correspondant. Nous n'avons ainsi trouvé aucun article mentionnant un essai avec des résultats négatifs pour le sponsor.

- Ces résultats négatifs n'étant que rarement publiés, il est difficile de se faire une idée d'ensemble [21].

**DES CONNAISSANCES SCIENTIFIQUES INSUFFISANTES**

- La totalité des études porte sur l'utilisation d'un antibiotique particulier en comparaison ou non à un autre.

**Références**

1. Apley M. Antimicrobial therapy of bovine respiratory disease. Vet. Clin. North Am. : Food Anim. Pract. 1997;13:549-74.
2. Ayling RD, Baker SE, Nicholas RA, coll. Comparison of the minimum inhibitory concentrations and mycoplasmaicidal activities of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma mycoides* small colony type. Proc XX World Buiatrics Congress, Sydney, 1998;2:1136.
3. Bareille N, Assié S, Fanuel P, coll. Incidence et impact économique des troubles de santé des jeunes bovins lors de l'engraissement en Pays de la Loire. Journée Bovine Nantaise, France, 2007;30-5.
4. Barrett DC. Cost-effective antimicrobial drug selection for the management and control of respiratory disease in European cattle. Vet. Rec., 2000;545-50.
5. Booker CW, Schunicht OC, Guichon PT, coll. An Evaluation of the Metaphylactic Effect of Cefiofur Crystalline Free Acid in Feedlot Calves. Vet. Therap. 2006;7:257-73.
6. Booker CW, Abutarbush SM, Schunicht OC, coll. Evaluation of the Efficacy of Tulathromycin as a Metaphylactic Antimicrobial in Feedlot Calves. Vet. Therap., 2007;8:183-200.
7. Caldow GL. Pneumonia your chances of diagnosis. Cattle Practice. 2004;12:129-32.
8. Callan RJ, Garry FB. Biosecurity and bovine respiratory disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2002;18:57-77.

► Suite p. 34

**RUMINANTS**



Références (suite)

9. Catry B, Duchateau L, Van de Ven J, coll. Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease J Vet Pharmacol Ther. 2008;31:479-87.  
 10. Clarke CR, Burrows GE, Ames TR. Therapy of bovine bacterial pneumonia. Vet. Clin. North Am. : Food Anim.Pract. 1991;7:669-94.  
 11. Cusack PMV. Effect of mass medication with antibiotics at feedlot entry on the health and growth rate of cattle destined for the Australian domestic market. Aust. Vet. J. 2004;82:154-6.  
 12. Duff GC, Walker DA, Malcolm-Callis KJ, coll. Effects of preshipping vs. arrival medication with tilmosin phosphate and feeding chlortetracycline on health and performance of newly received beef cattle. J Anim Sci. 2000;78(2):267-74.  
 13. Fanuel P, Assié S, Gasnier R, coll. Métaphylaxie : que savoir pour progresser. Buiatrie Paris, 2005;:62-8.  
 14. Frank GH, Briggs RE, Duff GC, coll. Effects of vaccination prior to transit and administration of florfenicol at time of arrival in a feedlot on the health of transported calves and detection of Mannheimia haemolytica in nasal secretions. Am. J. Vet. Research. 2002;63:251-6.  
 15. Galyean ML, Gunter SA, Malcolm-Callis KJ. Effects of arrival medication with tilmosin phosphate on health and performance of newly received beef cattle. J Anim Sci. 1995;73(5):1219-26.  
 16. Godinho KS, Wolf RM, Sherington J, coll. Efficacy of tulathromycin in the treatment and prevention of natural outbreaks of bovine respiratory disease in European cattle. Vet Therapeutics, 2005;6:122-35.  
 17. Janzen ED, Mc Manus RF. Observations on the use of a long acting oxytetracycline for In-contact Prophylaxis of Undifferentiated Bovine Respiratory Disease in Feedlot Steers under Canadian Conditions. Bov. Pract. 1980;1:87-90.  
 18. Lauridsen BH, Jørgensen J, Olesen L, coll. Metaphylactic treatment of calves. Proc the XIX World Buiatrics Congress, Bologne, 1994;1:713-6.  
 19. Nickell JS, White BJ, Larson RL, coll. Comparison of short-term health and performance effects related to prophylactic administration of tulathromycin versus tilmosin in long-hauled, highly stressed beef stocker calves. Vet. Ther. 2009;9:147-56.  
 20. Pollreis JH, Bechtol DT, Upson DW. Problems and practice in mass medication of beef cattle. Vet. Clin. North Am. : Food Anim.Pract. 1991;7:659-68.  
 21. Schelcher F, Valarcher JF. Bronchopneumonies infectieuses des bovins. Renc. Rech. Ruminants. 1999;6:177-82.  
 22. Schunicht OC, Guichon PT, Booker CW, coll. A comparison of prophylactic efficacy of tilmosin and a new formulation of oxytetracycline in feedlot calves. Can. Vet. J. 2002;43:355-62.  
 23. Smith BP. Large animal internal medicine : diseases of horses, cattle, sheep, and goats (2nd ed). Mosby-Year Book, St Louis, USA, 1996;2039 pp.  
 24. Step DL, Engelken T, Romano C, coll. Evaluation of three antimicrobial regimens used as metaphylaxis in stocker calves at high risk of developing bovine respiratory disease. Vet Ther. 2007;8:136-47.  
 25. Timsit E, Assié S, Chanteranne F, coll. Monitoring de la température ruminale pour la détection des troubles respiratoires des jeunes bovins en atelier d'élevage. Journée Bovine Nantaise, 2008;25-31.  
 26. Vogel GJ, Laudert SB, Zimmermann A, coll. Effects of tilmosin on acute undifferentiated respiratory tract disease in newly arrived feedlot cattle. J Am Vet Med Assoc. 1998;212(12):1919-24.  
 27. Van Donkersgoed J, Merrill J, Hendrick S. Comparative efficacy of tilmosin versus tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot calves at moderate risk for respiratory disease. Vet. Ther. 2008; 9:291-7.  
 28. Young C. Antimicrobial Metaphylaxis for Undifferentiated Bovine Respiratory Disease. The Compendium. 1995;133-42.



3 Les connaissances scientifiques concernant la métaphylaxie sont très insuffisantes sur l'évaluation de son intérêt économique, et sur les critères de prise de décision (photo S. Assié).

● Les connaissances scientifiques concernant la métaphylaxie sont donc très insuffisantes en particulier sur deux points : l'évaluation de son intérêt économique, et sur les critères de prise de décision (photo 3).

Évaluation de l'intérêt économique de la métaphylaxie

● L'intérêt économique de la métaphylaxie doit encore être étudié. Il semblerait que cette pratique diminue le nombre total de traitements nécessaires, et ainsi, le coût global lié aux traitements [18]. Elle pourrait aussi avoir un impact positif sur la croissance des animaux (tableau 2) [9].

● Mais, ces quelques données technico-économiques non représentatives de l'ensemble des situations rencontrées sur le terrain ne permettent pas de choisir entre un traitement métaphylactique ou un traitement individuel au cas par cas.

En effet, selon la gravité de la situation, les coûts directs (mortalité, coût de traitement, main d'œuvre, ...) et indirects (diminution de gain moyen quotidien, déclassement de carcasse, ...) des troubles respiratoires peuvent entraîner une diminution de 11 à 26 p. cent du revenu des exploitations spécialisées dans la production de jeunes bovins [3].

● En conclusion, les situations où la rentabilité et l'efficacité de la métaphylaxie sont réelles ne sont pas connues [21, 4].

Critères de prise de décision

● La prise de décision est fondée sur des pourcentages de morbidité. Cependant, il est maintenant bien acquis que de tels pourcentages sont très variables en fonction des outils utilisés pour détecter des troubles respiratoires dans des lots [19]. Ainsi, lorsqu'est annoncé 10 p. cent d'animaux détectés malades comme critère de mise en place de la métaphylaxie, il n'est pas possible de savoir à quoi ce pourcentage correspond en terme de morbidité réelle.

● Un pré-requis à la définition de critères fiables de prise de décision est ainsi la mise au point d'outils permettant de détecter finement les troubles respiratoires dans des lots.  
 ● De plus, pour l'instant, sur le terrain, la prise de décision est modulée intuitivement au cas par cas, en se fondant sur des paramètres zootechniques. Or, les poids de ces paramètres sur l'apparition et l'évolution (incidence et gravité) des troubles respiratoires dans les lots ne sont pas connus.

Des paramètres facilement accessibles (poids et âge à la mise en lot, passage sur un marché, race, historique des troubles dans l'élevage, ...) doivent donc être définis afin de permettre :

- de choisir dès la détection des premiers cas ;
- de réévaluer en début d'épisode, la stratégie de traitement la plus adaptée d'un point de vue médical et économique.

CONCLUSION

● La métaphylaxie est potentiellement un moyen utile pour lutter contre les maladies respiratoires des jeunes bovins. Mais, sa mise en œuvre repose essentiellement sur l'expérience des vétérinaires.

● L'attente des professionnels est de disposer au final d'outils d'aide à la décision qui soient fondés sur des connaissances scientifiques. □

formation continue

1. La métaphylaxie au sens strict peut être mise en place le jour de l'arrivée des jeunes bovins dans l'atelier :  oui  non
2. Une métaphylaxie est instaurée dès que 10 p. cent des animaux d'un lot sont malades :  oui  non
3. Les données technico-économiques rencontrées permettent de choisir entre un traitement métaphylactique ou un traitement individuel au cas par cas :  oui  non

## Annexe 2

# Failure to detect bovine respiratory diseases by visual appraisal in young beef cattle



Timsit E., Assié S., Bareille N.

UMR Bio-aggression, Epidemiology and Risk Analysis, ONIRIS, INRA, Nantes, France



### Objectives

- Investigate the **sensitivity of bovine respiratory disease (BRD) detection by visual appraisal** in comparison to clinical examination combined with assessment of acute phase proteins (APPs).
- Investigate the **use of rumen temperature boluses** for the detection of BRD.

### Materials and methods

- 112 young beef cattle were allocated in 3 farms (Farm 1: 40, Farm 2: 36 and Farm 3: 36).
- Each animal received a rumen bolus containing a temperature sensor at farm entry to measure and record rumen temperature.
- Visual appraisal was performed twice daily by owners. At the first detection of BRD, clinical examinations were performed by a veterinarian on each animal in the pen.
- Fibrinogen (Fb) and haptoglobin (Hp) concentrations were determined. Cut-off values for Fb (4.2 g/L Se=57%, Sp=94%) and Hp (0.25g/L Se=76%, Sp=94%) were set using ROC curves.
- 5 health status were defined from results of clinical examinations and assessment of APPs. (Fig. 1)
- Rumen hyperthermia was defined as a 1°C increase of the rumen temperature in comparison to the mean rumen temperature of the three days before. (Fig. 2)

### Results

- The sensitivity of BRD detection based on visual appraisal was 6/32 (Se=19%) in farm 1, 9/29 (Se=31%) in farm 2 and 6/27 (Se=22%) in farm 3. (Fig. 3)
- Among healthy cattle, 2/24 cattle had rumen hyperthermia prior to clinical examination (Tab.1), *i.e.* a specificity of BRD detection by rumen temperature bolus of 92%.
- Among non healthy cattle, 62/88 cattle had rumen hyperthermia prior to and/or during clinical examination (Tab.1), *i.e.* a sensitivity of 70%.
- These rumen hyperthermia had been ongoing for 1:48 h to 166:39 h (mean=47:00 h) prior to clinical examination.

### Conclusions

- **Sensitivity of BRD detection** based on **visual appraisal** performed by owners was **very low (Se<31%)** relative to clinical examination combined with assessment of APPs.
- The monitoring of rumen temperature using **rumen temperature boluses** improved **BRD detection (Se=70%;Sp=92%)** in comparison to visual appraisal. Furthermore, it allowed an **early detection of BRD** often several days prior to the onset of clinical signs.

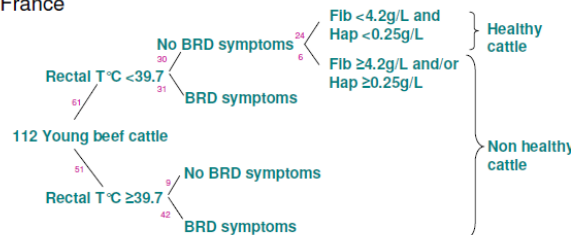


Figure 1: health status defined by clinical examination combined with APPs

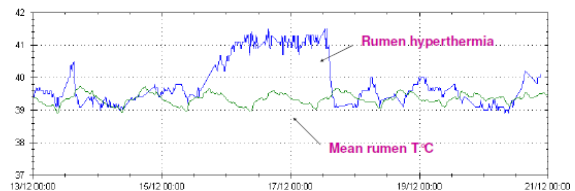


Figure 2: example of a rumen hyperthermia

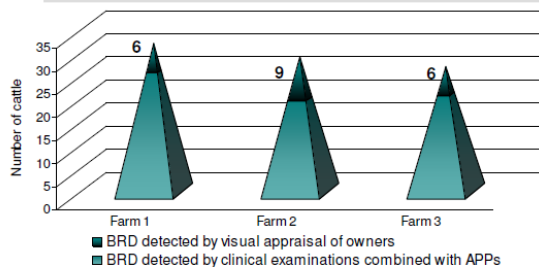


Figure 3: detection of BRD by visual appraisal compared to clinical examination combined with APPs

Table 1: detection of BRD by the use of rumen temperature boluses

	Cattle with rumen hyperthermia		Cattle without rumen hyperthermia
	Prior to clinical examination	prior to and during clinical examination	
Healthy cattle	2	0	22
Non healthy cattle	rectal T°C <39.7	12	21
	rectal T°C ≥39.7		5





---

**RESUME** : Bases pour rationaliser le choix d'une stratégie de traitement antibiotique des bronchopneumonies infectieuses des bovins nouvellement mis en place dans un atelier d'engraissement

Les bronchopneumonies infectieuses (BPI) sont les maladies les plus fréquentes des jeunes bovins à l'engrais (JB). Les connaissances actuelles sont insuffisantes pour, lors d'épisodes de BPI survenant dans des lots de JB, choisir entre le traitement des seuls malades détectés par examen visuel ou de l'ensemble du lot. L'objectif était (i) d'évaluer la sous-détection des malades par examen visuel et d'en estimer l'impact sur la performance de croissance et (ii) d'étudier la transmission horizontale de *Mannheimia haemolytica* et *Mycoplasma bovis* au sein de lots de JB. Le suivi en continu de la température corporelle a révélé de nombreux retards et défauts de détection associés à une diminution des performances de croissance des JB. Le typage par électrophorèse sur champs pulsés a montré une forte variabilité génétique intra-lot des isolats de *M. haemolytica*, ce qui est en faveur d'une transmission peu fréquente, et un clone unique de *M. bovis* par épisode, ce qui est en faveur d'une transmission fréquente. Nos résultats quant à la sous-détection indiquent que le traitement des seuls malades détectés ne suffit pas pour assurer les meilleures performances de croissance à l'échelle du lot. Nos résultats quant à la transmission indiquent que le traitement collectif pour protéger les bovins sains et réceptifs apparaît justifié en cas d'implication de *M. bovis* et plus discutable en cas d'implication de *M. haemolytica*. Au final, à l'avenir, des systèmes d'alerte permettant une détection sensible des bovins malades ainsi que des méthodes adaptées pour identifier la présence d'une bactérie pathogène hautement transmissible au sein de lots de JB devraient être mis en oeuvre.

**Mots-clés** : Bovin, Bronchopneumonie infectieuse, Monitoring de la température, Epidémiologie moléculaire.

---

**ABSTRACT**: Background knowledge for rational decision making on the antimicrobial strategy to control respiratory disease in newly-received feedlot cattle

Bovine respiratory disease is the most frequent disease in newly-received feedlot cattle. Current knowledge is too limited to make a choice, during BRD outbreaks, between individual treatment of visually detected sick cattle or mass medication. The objective of this study was to assess the under detection of sick cattle by visual appraisal and further estimate its impact on growth performance, and to study the horizontal transmission of *Mannheimia haemolytica* and *Mycoplasma bovis* within pens. Continuous monitoring of body temperature revealed numerous delays and defects in the detection of sick animals associated with decreased growth performance. Pulsed-field gel electrophoresis typing revealed for *M. haemolytica* isolates, a high within pen genetic variability, which is in favour of a low occurrence of transmission, and a unique clone of *M. bovis* per BRD outbreak, which is in favour of a frequent transmission. Concerning under detection, our results suggest that individual treatment of only visually detected sick animals is not optimal when considering the best growth performance at the pen level. Concerning transmission, our results suggest that mass medication appears justified in cases of *M. bovis* implication and more disputable in cases of *M. haemolytica* implication. Finally, in the future, alert systems providing a sensitive detection of sick cattle should be implemented as well as methods enabling to detect a highly contagious bacterium within a pen.

**Key-words**: Cattle, Respiratory disease, Temperature monitoring, Molecular epidemiology.

---