



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 14462

To cite this version :

Cornille, Manon. *Performances diagnostiques d'outils pratiques pour l'évaluation de la qualité du colostrum et du transfert d'immunité passive chez les bovins*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 128 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES D'OUTILS PRATIQUES POUR L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DU COLOSTRUM ET DU TRANSFERT D'IMMUNITÉ PASSIVE CHEZ LES BOVINS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

CORNILLE Manon

Née, le 19 décembre 1989 à Aix-en-Provence (13)

Directeur de thèse : M. Fabien CORBIERE

JURY

PRESIDENT :

M. Hervé ROUSSEAU

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Fabien CORBIERE

M. Renaud MAILLARD

Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Rousseau

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Chef de service de radiologie, CHU Rangueil

Mes remerciements les plus sincères pour avoir accepté la présidence de ce jury

Hommage respectueux

A Monsieur le Docteur Fabien Corbière

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Pathologies des ruminants

Qui a initié ce projet et m'a aidé pour sa réalisation

Sincères remerciements

A Monsieur le Docteur Renaud Maillard

Maitre de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Pathologies des ruminants

Qui a accepté de prendre part à ce jury

Sincères remerciements

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ABREVIATIONS.....	14
TABLE DES FIGURES.....	15
TABLE DES TABLEAUX	17
INTRODUCTION.....	20
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	22
1. LE COLOSTRUM.....	23
1.1. DEFINITION DU COLOSTRUM	23
<i>1.1.1. Définition légale.....</i>	<i>23</i>
<i>1.1.2. Définition biologique et immunologique.....</i>	<i>23</i>
1.2. L'IMPORTANCE DU COLOSTRUM.....	23
1.3. COMPOSITION DU COLOSTRUM.....	24
<i>1.3.1. Composition de base</i>	<i>24</i>
<i>1.3.2. Composition protéique spécifique du colostrum.....</i>	<i>25</i>
<i>1.3.3. Les immunoglobulines colostrales.....</i>	<i>26</i>
<i>1.3.4. Composition en leucocytes et autres facteurs antimicrobiens non spécifiques.....</i>	<i>27</i>
<i>1.3.5. Variabilité de sa composition</i>	<i>27</i>
1.4. EVALUER LA QUALITE DU COLOSTRUM	29
<i>1.4.1. Les niveaux de qualité</i>	<i>29</i>
<i>1.4.2. Les outils</i>	<i>29</i>
<i>1.4.2.1. Immunodiffusion radiale.....</i>	<i>30</i>
<i>1.4.2.2. Pèse colostrum ou colostromètre.....</i>	<i>30</i>
<i>1.4.2.3. Colotest ou réfractomètre optique</i>	<i>33</i>
<i>1.4.2.4. Réfractomètre numérique.....</i>	<i>35</i>
<i>1.4.2.5. Comparaison des outils.....</i>	<i>36</i>
2. TRANSFERT DE L'IMMUNITE PASSIVE	38
2.1. DEFINITION.....	38
2.2. IMPORTANCE DU TRANSFERT DE L'IMMUNITE PASSIVE	39
2.3. FACTEURS DE VARIATION LIES A LA DISTRIBUTION DU COLOSTRUM.....	40
<i>2.3.1. Conservation du colostrum.....</i>	<i>40</i>
<i>2.3.2. Type de distribution.....</i>	<i>41</i>
<i>2.3.3. Délai de distribution.....</i>	<i>41</i>
<i>2.3.4. Quantité à distribuer</i>	<i>42</i>
2.4. FACTEURS DE VARIATION LIES A L'ABSORPTION PAR LE VEAU	43
<i>2.4.1. Mécanisme de l'absorption intestinale des immunoglobulines.....</i>	<i>43</i>
<i>2.4.2. Evolution de la perméabilité intestinale du veau.....</i>	<i>43</i>

2.5.	DU TRANSFERT DE L'IMMUNITE PASSIVE AU SYSTEME IMMUNITAIRE ACTIF	44
2.6.	EVALUER LA QUALITE DU TRANSFERT DE L'IMMUNITE PASSIVE	44
2.6.1.	<i>Les niveaux de qualité</i>	45
2.6.2.	<i>Les outils</i>	45
2.6.2.1.	<i>Dosage des immunoglobulines par immunodiffusion radiale</i>	45
2.6.2.2.	<i>Dosage des protéines totales par analyseur biochimique</i>	45
2.6.2.3.	<i>Evaluation des protéines totales par réfractométrie optique</i>	46
2.6.2.4.	<i>Evaluation des protéines totales par réfractométrie numérique</i>	48
2.6.2.5.	<i>Mesure de l'activité de la γ-glutamyl-transférase (γ-GT)</i>	50
2.6.2.6.	<i>Comparaison des outils</i>	52
SECONDE PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE		55
1.	MATERIEL ET METHODES	56
1.1.	CABINETS VETERINAIRES, ELEVAGES ET ANIMAUX	56
1.2.	PRELEVEMENTS ET INFORMATIONS RECUEILLIES	57
1.3.	ANALYSES BIOLOGIQUES	60
1.3.1.	<i>Concentration en IgG du colostrum</i>	60
1.3.2.	<i>Qualité du transfert d'immunité passive</i>	61
1.4.	ANALYSE STATISTIQUE	62
1.4.1.	<i>Gestions des données</i>	62
1.4.2.	<i>Analyses descriptives</i>	62
1.4.3.	<i>Evaluation des performances diagnostiques des outils indirects</i>	62
1.4.4.	<i>Application en médecine de population et en audit d'élevage</i>	65
2.	RESULTATS	67
2.1.	DESCRIPTION DES RESULTATS	67
2.1.1.	Paramètres colostraux	67
2.1.1.1.	<i>Concentrations en IgG colostrales (IDR)</i>	67
2.1.1.2.	<i>Températures des mesures</i>	69
2.1.1.3.	<i>Résultats des mesures au pèse colostrum (colostromètre)</i>	70
2.1.1.4.	<i>Résultats des mesures au colotest (réfractomètre optique)</i>	71
2.1.1.5.	<i>Résultats du réfractomètre numérique</i>	72
2.1.2.	Paramètres sanguins	73
2.1.2.1.	<i>Concentrations en IgG sériques</i>	73
2.1.2.2.	Températures des mesures	74
2.1.2.3.	<i>Concentrations en protéines sériques totales</i>	75
	<i>Mesurées par le laboratoire ISAE 35</i>	75
	<i>Mesurées par les vétérinaires</i>	76
2.1.2.4.	<i>Résultats du réfractomètre optique</i>	76
2.1.2.5.	<i>Résultats du réfractomètre numérique</i>	77
2.1.2.6.	Concentrations en γ-GT	78
2.2.	ANALYSES STATISTIQUES DES RESULTATS	79
2.2.1.	<i>Etude des paramètres colostraux</i>	79

2.2.1.1.	<i>Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au pèse colostrum</i>	79
2.2.1.2.	<i>Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au colotest</i>	80
2.2.1.3.	<i>Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au réfractomètre numérique</i>	81
2.2.1.4.	<i>Relation entre les niveaux de concentration en IgG1 colostrales et les indicateurs indirects</i>	82
2.2.1.5.	<i>Corrélations entre les indicateurs indirects colostraux</i>	83
2.2.2.	<i>Etude des paramètres sanguins</i>	84
2.2.2.1.	<i>Relation entre les concentrations sériques en IgG1 et en protéines totales</i>	84
	<u>Mesurées par le laboratoire ISAE 35</u>	84
	<u>Mesurées par les vétérinaires</u>	85
2.2.2.2.	<i>Relation entre les concentrations sériques en IgG1 et les mesures au réfractomètre optique</i>	86
2.2.2.3.	<i>Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre numérique</i>	87
2.2.2.4.	<i>Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en γ-GT</i>	88
2.2.2.5.	<i>Relation entre les niveaux de concentration en IgG1 sériques et les indicateurs indirects sanguins</i>	89
2.2.2.6.	<i>Corrélations entre les indicateurs sanguins indirects</i>	90
2.2.3.	<i>Effet vétérinaire</i>	91
2.2.4.	<i>Performances des outils indirects</i>	94
2.2.4.1.	<i>Détection des défauts de TIP</i>	94
2.2.4.2.	<i>Détection des colostrums de faible concentration en IgG1</i>	99
2.2.4.3.	<i>Utilisation pratique</i>	105
3.	DISCUSSION	109
3.1.	PROTOCOLE D'ETUDE	109
3.2.	EVALUATION DE LA QUALITE DU COLOSTRUM	110
3.2.1.	<i>Corrélations entre concentration colostrale en IgG et valeurs des mesures indirectes</i>	110
3.2.2.	<i>Performances diagnostiques des outils indirects</i>	112
3.3.	EVALUATION DE LA QUALITE DU TRANSFERT D'IMMUNITE PASSIVE	115
3.3.1.	<i>Corrélations entre concentration sérique en IgG1 et valeurs des mesures indirectes</i>	115
3.3.2.	<i>Performances diagnostiques des outils indirects</i>	117
3.4.	UTILISATION EN ELEVAGE	120
	CONCLUSION	122
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	123

TABLE DES ABREVIATIONS

IgG1 : Immunoglobuline G 1

γ -GT : γ -glutamyl-transférase

TIP : Transfert d'immunité passive

TP : Taux protéique

IDR : Immunodiffusion radiale

IC95% : Intervalle de confiance à 95%

Se : Sensibilité

Sp : Spécificité

VP : Vrai positif

VN : Vrai négatif

ROC : Receiver Operating Characteristic

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Distribution du nombre de couple mère-veau par élevage inclus dans l'étude	57
Figure 2 : Départements des différents cabinets vétérinaires et nombre de veaux par département	57
Figure 3 : Répartition des délais entre le vêlage et le prélèvement du colostrum (en heures) .	59
Figure 4 : Répartition des âges des veaux lors du prélèvement sanguin (en jours)	59
Figure 5 : Répartition des concentrations en IgG1 colostrales selon les types raciaux	67
Figure 6 : Répartition des températures de mesures	69
Figure 7 : Répartition des mesures au pèse colostrum	70
Figure 8 : Répartition des mesures au colotest.....	71
Figure 9 : Répartition des mesures au réfractomètre numérique	72
Figure 10 : Répartition des concentrations sériques en IgG1	73
Figure 11 : Répartition des concentrations en protéines sériques totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 (deux points aberrants sont entourés).....	75
Figure 12 : Répartition des concentrations en protéines sériques totales mesurées par les vétérinaires	76
Figure 13 : Répartition des mesures au réfractomètre optique.....	77
Figure 14 : Répartition des mesures au réfractomètre numérique	77
Figure 15 : Répartition des concentrations en γ -GT	78
Figure 16 : Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au pèse colostrum.....	79
Figure 17 : Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et la mesure au colotest	80
Figure 18 : Relation entre la concentration en IgG1 colostrales et les mesures au réfractomètre numérique.....	81
Figure 19 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en protéines totales sériques mesurées par le laboratoire ISAE 35.....	84
Figure 20 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en protéines totales mesurées par les vétérinaires (VetTest)	85
Figure 21 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre optique.....	86
Figure 22 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre numérique Milwaukee MA882.	87
Figure 23 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et l'activité γ -GT mesurée par les vétérinaires (VetTest)	88

Figure 24 : Concentrations sériques en protéines totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 et par les vétérinaires.....	91
Figure 25 : Répartition des différences entre les concentrations sériques en protéines totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 et par les vétérinaires.....	92
Figure 26 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects d'un défaut de TIP (seuil IgG1 <10 g /L).....	95
Figure 27 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects d'un défaut de TIP (seuil IgG1 <10 g /L, 24 échantillons compris en 9 et 11 g/L IgG1 exclus).....	97
Figure 28 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <50 g /L)...	100
Figure 29 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <100 g /L, 7 échantillons compris en 45 et 55 g/L IgG1 exclus).....	102
Figure 30 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <100 g /L).	103
Figure 31 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <150 g /L, 88 échantillons compris en 85 et 115 g/L IgG1 exclus).....	105
Figure 32 : Probabilité (P) que la prévalence vraie soit inférieure à la prévalence "s" en fonction de l'outil indirect, pour 0 veau « positif ».....	107
Figure 33 : Probabilité (P) que la prévalence vraie soit inférieure à la prévalence 's' en fonction de l'outil diagnostique, pour 1 veau « positif »	108

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Evolution de la composition du colostrum de vache après la mise-bas (Foley 1978).....	25
Tableau 2 : Evolution des principales fractions protéiques du colostrum de vache après la mise-bas (Foley 1978).....	26
Tableau 3 : Composition en immunoglobulines du colostrum et du lait (Butler 1973).....	27
Tableau 4 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la densité mesurée au colostromètre et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR) .	31
Tableau 5 : Sensibilité et spécificité des colostromètres aux différents seuils de décision pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L	32
Tableau 6 : Comparaison des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie optique et la concentration en IgG mesurée pas la méthode de référence (IDR).....	34
Tableau 7 : Sensibilité et spécificité du réfractomètre optique pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L	34
Tableau 8 : Comparaison des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie numérique et la concentration en IgG1 mesurée pas la méthode de référence (IDR).....	35
Tableau 9 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres numériques pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L.....	36
Tableau 10 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la concentration en IgG1 mesurée en immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum (pèse colostrum, réfractomètre optique et numérique).....	37
Tableau 11 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum	38
Tableau 12 : Comparaison des coefficients de corrélation entre le taux de protéines mesuré par réfractométrie optique et la concentration en IgG mesurée pas la méthode de référence (IDR)	47
Tableau 13 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres optiques aux différents seuils de décision pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieure à 10 g/L.....	48
Tableau 14 : Comparaison des coefficients de corrélation entre le taux de protéines mesuré au réfractomètre numérique et la concentration en IgG1 mesurée pas la méthode de référence (IDR)	49
Tableau 15 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres numériques aux différents seuils de décision pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieures à 10 g/L	49

Tableau 16 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la concentration sérique en γ -GT et la concentration en IgG mesurée pas la méthode de référence	51
Tableau 17 : Sensibilité et spécificité de la mesure des γ -GT pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieure à 10 g/L.....	52
Tableau 18 : Comparaison des coefficients de corrélation avec la concentration en IgG1 mesurée en immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum (réfractomètre optique, réfractomètre numérique, γ -GT).....	53
Tableau 19 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du transfert d'immunité passive	54
Tableau 20 : Cabinets vétérinaires, vétérinaires, nombre de prélèvements colostraux et sanguins et nombre d'élevages.....	56
Tableau 21 : Concentration en IgG1 colostrales en fonction du type racial (les pourcentages par ligne sont entre parenthèses, 7 données manquantes pour la race sont exclues)	68
Tableau 22 : Concentration en IgG1 sériques en fonction du type racial (les pourcentages par ligne sont entre parenthèses)	74
Tableau 23 : Indicateurs indirects colostraux en fonction du niveau de concentration en IgG1 colostrales.....	82
Tableau 24 : Corrélation de Pearson entre les indicateurs indirects colostraux (les effectifs sont précisés en italique)	83
Tableau 25 : Les indicateurs indirects sanguins en fonction des niveaux de concentrations en IgG1 sériques.....	89
Tableau 26 : Coefficient de corrélation de Pearson entre les indicateurs sanguins indirects... 90	
Tableau 27 : Différence entre les valeurs en protéines sériques mesurées au laboratoire ISAE 35 et celle obtenue par les vétérinaires.....	93
Tableau 28 : Précision et exactitude des vétérinaires.....	94
Tableau 29 : Sensibilité (%) et spécificité (%) des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 10 g/L).....	95
Tableau 30 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 10 g/L) en excluant les échantillons compris entre 9 et 11 g/L IgG1	96
Tableau 31 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 15 g/L)	98
Tableau 32 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 15 g/L) en excluant les échantillons compris entre 14 et 16 g/L IgG1	99

Tableau 33 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 50 g/L.	100
Tableau 34 : Sensibilité et spécificité outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 50 g/L, en excluant les échantillons compris entre 45 et 55 g/L IgG1	101
Tableau 35 : Sensibilité et spécificité des indicateurs indirects colostraux outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 100 g/L.....	102
Tableau 36 : Sensibilité et spécificité outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 100 g/L, en excluant les échantillons compris entre 85 et 115 g/L IgG1	104
Tableau 37 : Comparaison des corrélations entre les concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale et mes méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum.....	112
Tableau 38 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes pour la détection des colostrums de concentrations inférieures à 50 g/L d'IgG1	114
Tableau 39 : Comparaison des corrélations entre les concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du TIP .	117
Tableau 40 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du TIP	119

INTRODUCTION

Les premières heures de la vie d'un veau sont décisives. La placentation épithéliochoriale chez les bovins empêche le transfert d'immunoglobulines maternelles *in utero* et le veau, à la naissance, est quasiment a- γ globulinémique. Ainsi, le colostrum, première sécrétion de la glande mammaire post-partum, doit permettre à lui seul le transfert d'immunité passive qui peut protéger le veau tant qu'il n'a pas développé sa propre immunité au contact des pathogènes de son environnement.

En cas d'échec de ce transfert d'immunité passive, le risque de morbidité et de mortalité du veau nouveau-né est augmenté (Wittum et al. 1995). Pourtant sur le terrain la prise colostrale demeure souvent négligée et un défaut de TIP est souvent observé, jusqu'à 25 à 60% des veaux (Maillard 2000).

De nombreux outils permettent d'évaluer la qualité du colostrum ou la qualité du transfert d'immunité passive du veau. Les techniques de référence, évaluant de manière directe la concentration en immunoglobulines sériques ou du colostrum, nécessitent le recours au laboratoire et sont d'un coût relativement élevé. Dans ce contexte, leur utilisation dans le cadre du dépistage et de la maîtrise, à l'échelle individuelle ou collective, des défauts de transfert de l'immunité passive est difficilement possible sur le terrain et est rarement mise en œuvre par les praticiens vétérinaires ou les éleveurs. D'autres approches de mesure, indirectes, utilisables au pied de l'animal et de moindre coût, sont cependant possibles et ont largement été décrites dans la littérature. Pour autant l'évaluation de leur performances diagnostiques a été réalisée dans des cadres académiques très contrôlés et ne reflète pas nécessairement les performances qu'on peut en attendre en pratique courante sur le terrain. . Par ailleurs, ces outils indirects n'ont pas fait l'objet, à notre connaissance, d'évaluation simultanée de leurs performances, ce qui rend parfois leur comparaison délicate.

Dans le cadre d'un essai visant à communiquer sur l'importance de la prise colostrale et son évaluation par les vétérinaires ou les éleveurs, nous avons pu recueillir des données permettant l'évaluation simultanée des performances diagnostiques de plusieurs méthodes indirectes de mesure, pour qualifier la qualité du colostrum et du transfert d'immunité passive. A partir de cette évaluation, nous nous sommes aussi intéressés à l'utilisation

pratique de ces outils dans le cadre de la médecine de troupeau, afin d'émettre quelques recommandations quant au nombre d'analyses nécessaires afin d'avoir une vision d'ensemble correcte et précise de la situation en élevage.

La première partie de ce rapport fait un rappel des principales données bibliographiques relative au colostrum, au transfert de l'immunité passive et à leur évaluation chez les bovins. La seconde partie présentera le protocole d'étude et les principaux résultats qui seront discutés dans la dernière partie.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LE COLOSTRUM

1.1. Définition du colostrum

1.1.1. Définition légale

D'après le deuxième article du Décret du 25 mars 1924, modifié et complété par le décret du 4 janvier 1971 :

Le colostrum est défini comme le produit de la traite des 6 premiers jours après la mise bas. Avant ce délai, le produit de la traite « ... sera considéré comme lait impropre à la consommation humaine ».

Cette réglementation répond à des préoccupations d'ordre technologique pour la transformation fromagère. En effet, la composition biologique du colostrum étant différente du lait habituellement utilisé, cela entraîne des pertes économiques, des différences de conservation et d'utilisation.

1.1.2. Définition biologique et immunologique

D'une manière générale, le colostrum est un mélange de sécrétions lactées et de constituants du sérum sanguin qui s'accumulent dans la mamelle avant la mise bas et peuvent être récoltés juste avant ou après la parturition (Foley 1978).

D'un point de vue immunologique, le colostrum est, durant les 48 premières heures suivant la mise bas, un liquide contenant les éléments de l'immunité passive du veau. La composition et la nature de la production mammaire évolue ensuite dans le temps pour se rapprocher de plus en plus de celle du lait (Foley 1978).

1.2. L'importance du colostrum

L'importance immunitaire du colostrum est primordiale chez les ruminants. En effet, la placentation épithéliochoriale des ongulés domestiques ne permet pas le transfert des immunoglobulines du fœtus lors de la gestation. Même si les vaisseaux sanguins maternels et fœtaux sont proches d'après McGovern (1974), il n'y a pas d'érosion des tissus utérins et donc pas d'échange possible des macromolécules.

Le veau naît presque $\alpha\gamma$ -globulinémique, à l'exception d'un faible taux d'anticorps (IgM ou IgG) qu'il a lui-même synthétisé. Son système immunitaire est compétent mais naïf (Straub et al. 1978 ; Barrington et al. 2001). Le transfert d'immunité passive entre la mère et le veau dépend donc essentiellement des anticorps présents dans le colostrum.

Le colostrum a aussi des qualités nutritionnelles importantes pour le bon développement du veau (Foley 1978 ; Halliday et al. 1978).

1.3. Composition du colostrum

1.3.1. Composition de base

Le colostrum de vache se caractérise par un extrait sec et une densité plus élevés que le lait. Les concentrations en matières protéiques et en matières grasses sont plus élevées que dans le lait ; à l'inverse la concentration en lactose est plus faible (tableau 1).

La composition du produit de la sécrétion mammaire évolue au fil des jours post-partum vers celle du lait. Chez les bovins, les concentrations en matières grasses, en protéines totales et les cendres brutes diminuent, alors que le taux de lactose augmente (tableau 1 ; Parrish 1950).

Le colostrum contient aussi des minéraux et des vitamines en plus grande quantité que dans le lait (Foley 1978). Il contient aussi des facteurs et des hormones de croissance qui régulent le métabolisme fondamental du veau (Elfstrand 2002).

Tableau 1 : Evolution de la composition du colostrum de vache après la mise-bas (Foley 1978)

	Colostrum					Lait	Rapport entre (*) et le lait
	1 ^{er} jour post-partum (*)	2 ^{ème} jour post-partum	3 ^{ème} jour post-partum	4 ^{ème} jour post-partum	5 ^{ème} jour post-partum		
Densité	1.056	1.054	1.035	1.033	1.033	1.032	1.023
Matière sèche (%)	23.9	17.9	14.1	13.9	13.6	12.9	1.8
Matière grasse (%)	6.7	5.4	3.9	4.4	4.3	4.0	1.7
Protéines totales (%)	14.0	8.4	5.1	4.2	4.1	3.1	4.5
Lactose (%)	2.7	3.9	4.4	4.6	4.7	5.0	0.5
Cendres brutes (%)	1.11	0.95	0.87	0.82	0.81	0.74	1.5

1.3.2. Composition protéique spécifique du colostrum

La concentration en protéines du colostrum est très élevée. Lors du 1^{er} jour post-partum, elle est deux fois supérieure à celle du lait (Foley 1978). L'évolution des concentrations des principales fractions protéiques du colostrum est présentée dans le tableau 2. La teneur en caséine et le taux d'albumine diminuent. La concentration en immunoglobulines devient quasiment nulle dès le 4^e jour post-partum.

De manière générale, 42% de la matière protéique du colostrum (1^{er} jour post-partum) sont représentées par les immunoglobulines (Foley 1978). La concentration protéique du colostrum étant très liée à la concentration en immunoglobulines, cela explique que beaucoup de mesures indirectes de la qualité du colostrum mesurent en fait la matière protéique (Réfractomètre, pèse colostrum, colotest, Cf. 1.4.2).

Tableau 2 : Evolution des principales fractions protéiques du colostrum de vache après la mise-bas (Foley 1978)

	Colostrum					Lait	Rapport entre (*) et le lait
	1 ^{er} jour post-partum (*)	2 ^{ème} jour post-partum	3 ^{ème} jour post-partum	4 ^{ème} jour post-partum	5 ^{ème} jour post-partum		
Caséine (%)	4.8	4.3	3.8	3.2	2.9	2.5	1.9
Immunoglobulines (%)	6.0	4.2	2.4	0.09	67
Albumine (%)	0.9	1.1	0.9	0.7	0.4	0.5	1.8

1.3.3. Les immunoglobulines colostrales

Trois isotypes d'immunoglobulines sont présents dans le colostrum bovin : IgG, IgM et IgA. Les IgG sont les plus représentées (86%) et elles sont divisées en deux sous-classes :

- les IgG1, les plus abondantes, représentant 94% des IgG, soit 81% des immunoglobulines colostrales,
- les IgG2, représentant 6% des IgG, soit 5% des immunoglobulines colostrales

Ces pourcentages décroissants de concentrations en immunoglobulines indiquent un transfert préférentiel des IgG1 puis des IgA, des IgE et des IgM. La majorité des immunoglobulines est transférée de manière active entre le sérum maternel et le colostrum. Seule une petite proportion d'immunoglobulines est synthétisée localement dans la mamelle par des plasmocytes. L'absorption du colostrum au niveau de l'intestin grêle du veau n'est par contre pas sélective (Butler 1973).

L'étude de Straub et al. (1978) montre l'évolution des concentrations en immunoglobulines du colostrum dans le temps. Dans les 9 premières heures post-partum, les immunoglobulines présentes en plus grande quantité dans le colostrum sont les IgG (85%) puis les IgM (9%) et les IgA (6%). Les IgM et les IgA décroissent très rapidement, alors que les IgG diminuent aussi mais restent abondantes 30h après. La proportion en IgG reste toujours autour de 85%.

Les immunoglobulines sont aussi présentes dans le lait, mais leurs concentrations sont beaucoup plus faibles. A titre d'exemple, la concentration en IgG1 du lait représente moins de 2% des concentrations en IgG1 du colostrum (tableau 3).

Tableau 3 : Composition en immunoglobulines du colostrum et du lait (Butler 1973).

Immunoglobulines	Concentration (mg/mL)		% Immunoglobulines totales	
	Colostrum	Lait	Colostrum	Lait
IgG1	47.60	0.59	81	73
IgG2	2.90	0.02	5	2.5
IgA	3.90	0.14	7	18
IgM	4.20	0.05	7	6.5

1.3.4. Composition en leucocytes et autres facteurs antimicrobiens non spécifiques

Outre les immunoglobulines, d'autres facteurs ou cellules immunitaires sont contenus dans le colostrum : leucocytes, cytokines, interleukines, lysozymes, lactoferrines, composants du complément et autres substances de l'immunité non spécifique. Certains facteurs sont sécrétés par des cellules spécialisées mais d'autres sont directement sécrétés par les cellules épithéliales mammaires (Stelwagen et al. 2009).

Ces cellules et facteurs antimicrobiens font partie intégrante de la protection passive du veau jusqu'à ce que son propre système immunitaire devienne pleinement actif (Butler 1973).

1.3.5. Variabilité de sa composition

La composition du colostrum n'est pas identique pour toutes les vaches et elle évolue dans le temps pour tendre vers la composition du lait (Parrish 1950 ; Pritchett et al. 1991). De nombreux facteurs influent sur sa composition.

Variabilité inter- raciale

Dans l'étude de Parrish (1950), il est montré que l'apport énergétique colostrale est plus important pour les races Holsteins et Guernesey que pour les races Ayrshires et Jerseys. Mais cet apport énergétique est identique si on le ramène à la matière sèche.

A l'inverse, l'étude de Guy (1994) montre que la concentration colostrale moyenne en IgG1 des vaches de race Holstein est de 43 g/L alors qu'elle est de 113 g/L pour des vaches de race charolaise et croisée Hereford, alors que la concentration sérique en IgG1 est moindre chez les vaches de races laitières. Etant donné que les concentrations sériques et colostrales en IgG dépendent de la race des vaches, cela sous-entend que le taux de transfert des IgG sériques vers le colostrum varie selon les races (Parrish 1950 ; Halliday et al. 1978 ; Guy et al. 1994).

Variabilité lié au rang de lactation

D'après Levieux et al. (1999), les vaches laitières en premier rang de lactation produisent significativement moins d'IgG, en concentration et en masse, que les vaches avec un rang de lactation supérieur.

Pritchett et al. (1991) observent que la moyenne des concentrations colostrales en IgG des vaches laitières en premier rang de lactation n'est pas significativement différente des concentrations en IgG des rangs de lactation supérieurs. Ce sont les vaches en deuxième rang de lactation qui auraient un colostrum significativement moins concentré en IgG.

De la même manière, l'étude de Quigley (1994) portant sur des vaches allaitantes, observe que ce sont les vaches de second rang de lactation qui ont des concentrations plus faibles en IgG. Les concentrations en IgA du colostrum des vaches en premier rang de lactation sont plus élevées, même si les IgA ne représentent que 7% des immunoglobulines. Enfin, les IgM augmentent de manière linéaire avec le rang de lactation.

L'effet du volume de colostrum produit, qui influence fortement la concentration finale en IgG du colostrum, n'est que rarement pris en compte dans ces différentes études et pourrait expliquer les différences de résultats observées.

Variabilité lié à la conduite d'élevage

La vaccination des mères conditionne très fortement la composition du colostrum en IgG (Saif et al. 1983 ; Murakami et al. 1985). Elle permet d'augmenter la concentration sérique en anticorps spécifiques d'agents pathogènes (Murakami, et al. 1985).

L'alimentation peut aussi être un facteur de variation de la composition du colostrum. D'après Halliday et al. (1978) et Hough et al. (1990), la concentration en immunoglobulines n'est pas significativement liée au type d'alimentation, mais globalement les vaches ayant une nutrition

restreinte ont un colostrum concentré en immunoglobulines, probablement du fait d'un volume produit plus réduit. Ces résultats sont controversés (Halliday 1978).

1.4. Evaluer la qualité du colostrum

Bien que le colostrum contienne de nombreux facteurs immunitaires, la richesse en immunoglobulines du colostrum est un des principaux paramètres retenus pour évaluer sa qualité. Différentes méthodes permettent de mesurer la concentration colostrale en IgG. Cette évaluation est importante surtout dans les élevages laitiers où la concentration colostrale en immunoglobulines peut être un facteur limitant la qualité du transfert de l'immunité passive (Guy et al. 1994).

1.4.1. Les niveaux de qualité

Les seuils permettant de distinguer un « bon » d'un « mauvais » colostrum sont assez variables selon les études. Les études de Pritchett et al. (1994) et Quigley et al. (2013) ont choisis arbitrairement un seuil de détection par immunodiffusion radiale à 40 g/L. Le seuil de 50 g/L est plus fréquemment choisis (Chigerwe et al. 2008 ; Biemann et al. 2010). En effet, les apports en IgG classiquement recommandés chez le veau nouveau-né sont de 150 à 200 g et en élevage laitier, ces quantités peuvent être atteintes en faisant ingérer au veau 3 à 4 L de colostrum, en se basant sur une concentration en IgG du colostrum d'environ 50 g/L (Quigley et al., 2002). En élevage allaitant, le volume de colostrum à administrer est moindre, de l'ordre de 1.5 à 2 L, car le colostrum des vaches allaitantes contient fréquemment plus de 100 g d'IgG/L (Chigerwe et al., 2005). Le colostrum sera donc considéré comme « mauvais » pour des concentrations sériques en IgG inférieures à 50 g/L, « moyen à bon » entre 50 et 100 g/L, et « excellent » si la concentration en IgG1 est supérieure à 100 g/L.

1.4.2. Les outils

Les outils disponibles en pratique déterminent majoritairement la concentration en IgG1, qui compte tenu de leur part très majoritaire dans le colostrum, constituent un bon indicateur de la concentration totale en immunoglobulines. Certains instruments donnent des résultats pouvant être influencés par la température.

1.4.2.1. Immunodiffusion radiale

C'est la technique de référence, qui sera utilisée comme « Gold Standard » dans notre étude.

L'immunodiffusion radiale (IDR) est une méthode de mesure directe. Il s'agit d'une technique de dosage quantitatif permettant de déterminer la concentration en protéines ou en antigènes dans un échantillon.

Le colostrum à tester est placé à l'intérieur de puits préalablement formés dans un gel d'agarose et chargés en anticorps anti-IgG1. Peu à peu, les immunoglobulines diffusent dans la gélose. Il se forme alors des complexes anti-IgG1-IgG1 dessinant un anneau de précipitation, dont le diamètre au carré est proportionnel à la concentration en IgG1 du colostrum testé. Cette relation de proportionnalité a permis au préalable de tracer une courbe étalon représentant le carré du diamètre de précipitation en fonction de la concentration en IgG1 de l'échantillon. Il suffit alors de mesurer le diamètre de l'anneau, de l'élever au carré et de reporter cette valeur sur la courbe étalon pour connaître la concentration en IgG1 de l'échantillon testé correspondant.

Cette technique est très précise, mais longue (18 à 24 heures), ce qui rend son utilisation difficile au chevet de l'animal. Par ailleurs son coût, entre 8 et 10 euros par analyse, limite son utilisation à grande échelle en élevage.

1.4.2.2. Pèse colostrum ou colostromètre

Le pèse colostrum ou colostromètre est un hydromètre qui mesure la densité relative du colostrum par rapport à l'eau à l'aide d'une bulle de mercure permettant à l'instrument de flotter. La mesure est basée sur le principe d'Archimède : un corps immergé dans un fluide est soumis à une force égale au poids du volume d'eau déplacé. La densité du colostrum est elle-même reliée de façon plus ou moins linéaire à la concentration colostrale en protéines et donc en immunoglobulines. Sur la base de cette relation, le pèse colostrum est une méthode indirecte d'évaluation de la concentration colostrale en immunoglobulines simple et à moindre coût.

La corrélation entre la mesure directe faite avec la méthode de référence (IDR) et avec le pèse colostrum a été calculée par différents auteurs (tableau 4). Les corrélations sont essentiellement moyennes, comprises entre 0.56 et 0.68, mis à part le bon coefficient de

corrélation calculé par Mechor et al. (1992) de 0.87 mais avec seulement 39 échantillons. Cependant, l'étude de Quigley et al. (1994) portant sur des vaches de race jersiaise suggère que l'hydromètre pourrait sous-estimer la concentration en IgG du colostrum des races allaitantes à cause de la variabilité inter-raciale de la composition du colostrum.

Tableau 4 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la densité mesurée au colostromètre et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR)

Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Chigerwe et al. 2008	COL 1 : 0.64 (r ² =0.41)	160	< 0.05
	COL 2 : 0.55 (r ² =0.30)	160	< 0.05
Morin et al. 2001	0.53	40	5.10 ⁻⁴
Pritchett et al. 1994)	0.68 (car r ² =0.47) (mais avec 'log [IgG1]')	915	< 10 ⁻⁴
Imbert 2005	0.56 (car r ² =0.31)	186	10 ⁻⁴
Quigley et al. 1994	0.62 (car r ² =0.38)	88	< 0.05
Mechor et al. 1992	0.87 (car r ² =0,76)	39	< 10 ⁻⁴

La densité mesurée du colostrum dépend de la température. Mechor et al. (1992) proposent une équation permettant de calculer la valeur de la concentration colostrale en IgG à partir de la densité du colostrum obtenue avec l'hydromètre en tenant compte de la température du prélèvement (n=39 ; pour des températures de colostrum de 0 à 40°C, intervalle de 5°C) :

$$[\text{IgG}] \text{ (mg / mL)} = 853 \times \text{Densité} + 0.4 \times \text{Température (}^\circ\text{C)} - 866$$

Plusieurs études ont évalué les performances de cet outil diagnostique. Dans l'étude de Chigerwe et al. (2008), au seuil de mesure de 50 g/L, la sensibilité des deux pese colostrum testés pour détecter les colostrums bovins de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L d'après la méthode de référence (immunodiffusion radiale) a été estimée à 47% (IC95%= 34 – 60 %) et 35% (IC95%= 22 – 47 %), pour une spécificité de 93% (IC95%= 88 – 98 %) et de 94% (IC95%= 90 – 98 %). Pour le premier appareil, la sensibilité optimale a aussi été obtenue au seuil de 70 g/L (Se=75%, IC95%= 63 – 86 %). Pour le second, la sensibilité était optimale

à 76% (IC95%= 65 – 88 %) au seuil de décision de 87,5 g/L, mais au détriment de la spécificité (78 – 66 %) (tableau 5).

D'après Pritchett et al. (1994), pour un seuil de 50 g/L au pèse colostrum, la sensibilité du pèse colostrum n'est que de 32%. Par contre elle est de 63% pour un seuil de 70 g/L, avec une spécificité de 85% (n = 915 ; P < 0,001). Seulement dans cette étude le seuil du test de référence (immunodiffusion radiale) est de 40 g/L d'IgG1 au lieu du seuil de 50 g/L utilisé dans l'étude de Chigerwe et al. (2008) . Cette étude ne présente pas non plus les intervalles de confiance de la sensibilité et de la spécificité (tableau 5).

Les performances de ces tests apparaissent limitées. Le pèse colostrum a donc tendance à surestimer la concentration en immunoglobulines des «mauvais» colostrums (IgG1 < 50 g/L).

Tableau 5 : Sensibilité et spécificité des colostromètres aux différents seuils de décision pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L

Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement	Indice de Youden
Pritchett et al. 1994 n = 915	50	32	97		0.29
	70	63	85	-	0.48
	85	86	63		0.49
Chigerwe et al. 2008 Colostromètre 1 n=171	< 50	47 (34 – 60)	93 (88 – 98)	88	0.40
	< 70	75 (63 – 86)	78 (71 – 86)	70	0.53
	< 80	80 (69 – 91)	66 (58 – 75)	61	0.46
	< 120	100	25 (18 – 34)	20	0.25
Chigerwe et al. 2008 Colostromètre 2 n=171	< 50	35 (22 – 47)	94 (90 – 98)	93	0.29
	< 75	67 (54 – 80)	74 (66 – 82)	79	0.41
	< 87	76 (65 – 88)	66 (58 – 75)	61	0.42
	< 112	91 (86 – 100)	40 (31 – 49)	40	0.31
	< 125	100	0	29	0

1.4.2.3. Colotest ou réfractomètre optique

Le colotest est un réfractomètre optique permettant de mesurer la densité du colostrum en calculant l'indice de déviation d'un faisceau lumineux traversant l'échantillon de colostrum à l'aide d'un prisme de verre. Cette densité est corrélée à la quantité totale de solides, plus particulièrement aux protéines totales et donc à la concentration en immunoglobulines dans celui-ci (et donc principalement aux IgG1). L'instrument doit être préalablement étalonné avec deux gouttes d'eau distillée ou d'eau sucrée en fonction des modèles, déposées sur le prisme en réglant la mesure sur zéro.

Le colotest est basé sur une méthode indirecte d'évaluation du TIP de bonne précision, rapide, pratique et peu onéreuse.

Le tableau 6 présente les coefficients de corrélation obtenus dans différentes études entre la méthode de référence d'immunodiffusion radiale et les mesures de densité du colostrum au colotest. Notons que le coefficient de corrélation présenté par l'étude de Molla (1980) est bien supérieur à ceux de Biemann et al. (2010), Quigley et al. (2013) et Imbert (2005), mais la petite taille de l'échantillon (n=21) rend ce résultat moins fiable.

La technique utilisée dans l'étude de Molla (1980) est plus complexe étant donné que les échantillons de colostrum doivent être préalablement dilués dans une solution saline physiologique.

A contrario, la thèse de Imbert (2005) utilise un réfractomètre optique simple d'utilisation et spécifiquement conçu pour la mesure des immunoglobulines colostrales, le colotest.

Aucune de ces études n'a été réalisée sur des colostrums de vaches allaitantes.

D'après certaines études, les mesures des réfractomètres pourraient être influencées par la température du prélèvement en modifiant l'indice de réfraction du milieu (Quigley 2001 ; Imbert 2005). Mais ces études ne prouvent pas d'influence de la température sur les mesures du réfractomètre lorsqu'il s'agit de mesurer les protéines totales afin d'évaluer la qualité du colostrum. D'après l'étude de Biemann et al. (2008), la mesure de l'indice de réfractométrie en « % Brix » n'est pas différente selon que la température du prélèvement soit à 5°C, 20°C ou 38°C.

Tableau 6 : Comparaison des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie optique et la concentration en IgG mesurée pas la méthode de référence (IDR)

Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Bielmann et al. 2010	0.71 (Spearman)	273	<0.001
Quigley et al. 2013	0.75	183	<0.01
Imbert 2005	0.76 (car $r^2=0.58$)	88	10^{-4}
Molla 1980	0.89	21	<0.001

Dans l'étude de Bielmann et al. (2010), la sensibilité et spécificité du réfractomètre optique pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L ont été évaluées pour quatre seuils de 18, 20, 22 et 24% sr l'échelle de Brix. Les performances optimales (Se= 91.1%, Sp=91.7%) ont été obtenues pour le seuil de décision de 22% Brix. Pour ce même seuil, Quigley et al. (2013) ont obtenus une sensibilité et une spécificité respectivement de 75% et 78% et 85.7% et 79.3% (tableau 7).

Tableau 7 : Sensibilité et spécificité du réfractomètre optique pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L

Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement	Indice de Youden
Bielmann et al. 2010 n = 203, multipares	18	99	33	-	0.32
	20	96	58	-	0.54
	22	91	92	-	0.82
	24	76	100	-	0.76
Quigley et al. 2013 n = 183	19	99 (97-100)	24 (9-40)	87	0.23
	20	99 (97-100)	28 (11-44)	87	0.27
	21	93 (89-97)	65 (48-83)	88	0.58
	22	86 (80-91)	79 (65-94)	85	0.65
	23	72 (65-79)	97 (90-103)	76	0.68

1.4.2.4. Réfractomètre numérique

Le principe est similaire au colotest mais le résultat sur l'échelle Brix est fourni numériquement, avec moins d'erreurs possibles lors de la lecture des résultats sur l'échelle de graduations. Les résultats d'études comparant la méthode IDR et la méthode indirecte au réfractomètre numérique sont données dans le tableau 8. L'étude de Chigerwe et al. (2008) présente le plus faible coefficient de corrélation ($r=0.64$) avec un échantillon de plus petite taille ($n=160$). Les études de Bielmann et al. (2010) et Morrill et al. (2012) obtiennent le même coefficient de corrélation pour des tailles d'échantillon très différentes (respectivement 273 et 823).

L'ajout d'acide caprylique peut améliorer le coefficient de corrélation ($r=0.93$ au lieu de 0.90) mais seulement sur des échantillons de colostrum frais (Morrill et al. 2012). Sinon pour tous les échantillons de l'étude (frais, congelés ou surgelés), l'ajout d'acide donne un coefficient de corrélation de 0.53 ($n=805$) au lieu de 0.73 ($n=823$).

Tableau 8 : Comparaison des coefficients de corrélation entre l'indice de réfractométrie numérique et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR)

Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Chigerwe et al. 2008	0.64 ($r^2=0,41$)	160	-
Bielmann et al. 2010	0.73 (cor. Spearman)	273	<0.001
Morrill et al. 2012	0.73	823	<0.0001

De même que précédemment, l'étude de Bielmann et al. (2010) évalue les performances optimales du réfractomètre numérique pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L. La sensibilité et la spécificité du réfractomètre digital sont respectivement de 92.2% et 83.3% pour un seuil de décision de 22% sur l'échelle Brix (tableau 9). Pour ce même seuil de décision de 22% Brix, des moins bonnes performances ont été obtenues par Chigerwe et al. (2008).

Tableau 9 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres numériques pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieure à 50 g/L

Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement	Indice de Youden
Chigerwe et al. 2008 n=171	< 19	40 (27 – 53)	93 (88 – 98)	82	0.33
	< 20	52 (40 – 66)	92 (87 – 97)	79	0.44
	< 22	75 (63 – 86)	78 (70 – 85)	63	0.53
	< 26	91 (83 – 99)	42 (33 – 51)	32	0.33
Bielmann et al. 2010 n = 203, multipares	18	99.4	33.3	-	0.32
	20	96.7	75.0	-	0.72
	22	92.2	83.3	-	0.75
	24	79.3	91.7	-	0.71

1.4.2.5. Comparaison des outils

Les études de Biemann et al. (2010), Chigerwe et al. (2008) et Imbert (2005) permettent de comparer les différents outils indirects d'évaluation de la qualité du colostrum.

D'après Biemann et al. (2010), les réfractomètres optique ($r=0.71$) et numérique ($r=0.73$) sont équivalents pour un même seuil de décision de 22% Brix (respectivement $Se/Sp=91/92\%$ et $Se/Sp=92/83\%$).

D'après Chigerwe et al. (2008), il n'y a pas de différence significative entre les performances diagnostiques des deux modèles de pese colostrum et du réfractomètre numérique (respectivement $r=0.64$, $r= 0.55$ et $r=0.64$).

Cependant, les seuils de décision pour l'utilisation du pese colostrum ne sont pas fixés. D'après Chigerwe et al. (2008) et Pritchett et al. (1994), il se situerait entre 70 et 88 g/L. La thèse de Imbert (2005) indique que le réfractomètre optique ($r=0.76$) serait la méthode de choix par rapport au pese colostrum ($r=0.56$).

De plus, les mesures au réfractomètre ne semblent pas être influencées par la température du prélèvement d'après Biemann et al. (2008) ce qui n'est pas le cas pour le pese colostrum (Mechor et al. 1992).

L'ensemble des résultats des différents outils sont rappelés dans le tableau 10 et tableau 11.

Tableau 10 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la concentration en IgG1 mesurée en immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum (pèse colostrum, réfractomètre optique et numérique)

Méthodes indirectes	Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Pèse colostrum ou colostromètre	Chigerwe et al. 2008	COL 1 : 0.64	160	<0.05
		COL 2 : 0.55	160	<0.05
	Morin et al. 2001	0.53	40	0.0005
	Pritchett et al. 1994	0.68 (log[IgG1])	915	<0.0001
	Imbert 2005	0.56	186	0.0001
	Quigley et al. 1994	0.62	88	<0.05
	Mechor et al. 1992	0.87	39	< 10 ⁻⁴
Réfractomètre optique ou colotest	Bielmann et al. 2010	0.71 (Spearman)	273	<0.001
	Quigley et al. 2013	0.75	183	<0.01
	Imbert 2005	0.76	88	10 ⁻⁴
	Molla 1980	0.89	21	<0.001
Réfractomètre numérique	Chigerwe et al. 2008	0.64	160	-
	Bielmann et al. 2010	0.73	273	<0.001
	Morrill et al. 2012	0.73	823	<0.0001

Tableau 11 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum

Méthodes indirectes	Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement (%)	Indice de Youden
Pèse colostrum ou colostromètre	Pritchett et al. 1994 n = 915	70	63	85	-	0.48
		85	86	63	-	0.49
	Chigerwe et al. 2008 Col 1, n=171	< 70	75 (63 – 86)	78 (71 – 86)	70	0.53
		< 80	80 (69 – 91)	66 (58 – 75)	61	0.46
	Chigerwe et al. 2008 Col 2, n=171	< 75	67 (54 – 80)	74 (66 – 82)	79	0.41
		< 87	76 (65 – 88)	66 (58 – 75)	61	0.42
Réfractomètre optique ou colotest	Bielmann et al. 2010 n = 203	22	91	92	-	0.83
	Quigley et al. 2013 n = 183	22	86 (80-91)	79 (65-94)	85	0.65
Réfractomètre numérique	Chigerwe et al. 2008 n=171	< 22	75 (63 – 86)	78 (70 – 85)	63	0.53
	Bielmann et al. 2010 n = 203	22	92.2	83.3	-	0.82

2. TRANSFERT DE L'IMMUNITE PASSIVE

2.1. Définition

Le transfert passif de l'immunité est le résultat d'un transport d'immunoglobulines formées par un autre organisme vers un individu donné.

Chez les bovins, ce transfert nécessite que le nouveau-né ingère précocement du colostrum permettant le passage des immunoglobulines du sérum de la mère vers le sérum du veau. L'immunité passive transmise de la mère au veau est à la fois locale (dans le tube digestif du veau) et systémique (dans le sérum du veau). Les mécanismes du transfert des immunoglobulines du colostrum au sérum du veau seront détaillés par la suite (Cf. 2.2.4).

2.2. Importance du transfert de l'immunité passive

Les capacités de résistance du veau à différentes maladies sont permises par le transfert d'immunité passive (TIP) (Barrington et al. 2001). Les veaux privés de TIP présentent un risque important de septicémie causée par *Escherichia Coli*. D'autres maladies néonatales du veau telles que les maladies entéritiques ou respiratoires peuvent être évitées grâce à un transfert d'immunité passive de bonne qualité (Besser et al. 1985b ; Furman-Fratczak et al. 2011).

Plus généralement, la mortalité et la morbidité avant le sevrage sont plus importantes chez les veaux ayant une concentration sérique en immunoglobulines inférieure à 8 g/L que chez les veaux où elle est supérieure à 16 g/L (Wittum et al. 1995 ; Perino, et al., 1993). Les veaux en échec de TIP ont un plus fort taux de mortalité que les veaux ayant une concentration en immunoglobulines plus élevée (Brignole et al. 1980).

L'étude de Poppie et al. (1976) montre l'importance du transfert d'immunité passive en étudiant des veaux atteints de maladie d'immunodéficience combinée (appelés veaux 'CID'). Ces derniers naissent sans immunoglobulines et sans possibilité d'en synthétiser. Cependant, un transfert d'immunité passive efficace leur confère un taux d'immunoglobulines supérieur à celui des veaux non 'CID' avec un défaut de TIP.

En revanche, cette même étude montre que pour un veau 'CID', ce transfert de l'immunité passive ne suffit pas à protéger le veau plus de 60 jours. A ce stade, le système immunitaire des veaux non CID a pris le relais.

Ces résultats indiquent que le transfert d'immunité passive est indispensable pour avoir un taux suffisant en immunoglobulines et pour protéger le veau tant que son système immunitaire n'est pas pleinement actif.

Cependant, toutes les maladies ne sont pas seulement liées à une faible concentration en IgG1 sériques. Dans l'étude de Lomba et al. (1978), les concentrations en IgG1 ne sont pas en rapport avec l'incidence des diarrhées néonatales.

Le transfert d'immunité passive a aussi des effets différés après le sevrage. Ainsi, en élevage laitier, lors d'un défaut de TIP le risque de mortalité reste accru même après le sevrage.

Dans l'étude de Besser (1993a), la mortalité, entre 0 et 180 jours, peut être multipliée par deux si le sérum des veaux se trouve en dessous ou au-dessus du seuil de concentration en immunoglobulines sériques de 12 g/L (3.3% vs 6.8%). Le risque de mortalité dans les 6 premiers mois de vie est multiplié par 3 à 6 en comparant des veaux dont la concentration en protéines totales sériques est inférieure à 50 g/L ou supérieure à 60 g/L (Donovan 1998).

De même pour la quantité de lait produit en première lactation, elle est significativement corrélée à la concentration en IgG à la naissance ($p < 0.05$) mais sans démonstration de l'effet direct ou indirect de cette relation (Bielmann et al. 2010).

Une autre répercussion du transfert de l'immunité passive après le sevrage porte sur l'âge de la première insémination. La première insémination a été faite 30 jours plus tôt pour des génisses dont la concentration en γ -globuline sérique était supérieure à 15 g/L entre 30 et 60h après la naissance, comparée à celle dont la concentration était inférieure à 5 g/L, sachant qu'aucune différence de poids significative n'avait été constatée entre les vaches de niveaux de concentration en γ -globuline sérique différents ($p < 0.01$; Furman-Fratczak et al. 2011).

En élevage allaitant, l'impact du transfert d'immunité passive a aussi été noté à plus long terme après sevrage.

Le risque de morbidité globale et de maladie respiratoire était multiplié par 3 lors d'un défaut de TIP par comparaison avec un TIP satisfaisant, caractérisé par une concentration sérique en protéines évaluée au réfractomètre réciproquement inférieure ou supérieure à 48 g/L à 24h d'âge (Wittum et al. 1995).

Dewell et al. (2006) réfutent un effet différé du transfert d'immunité passive, mais la mortalité post sevrage observée dans son étude est bien inférieure à celle décrite par Wittum et al. (1995) (respectivement 11% contre 53%).

2.3. Facteurs de variation liés à la distribution du colostrum

2.3.1. Conservation du colostrum

Plusieurs types de conservation du colostrum sont utilisables : il peut être stocké de manière réfrigéré pendant une semaine, surgelé, lyophilisé ou même conservé à température ambiante, mais pendant moins de 3 jours (Foley 1978 ; McGuirk et al. 2004). Il peut aussi être chauffé avant la congélation. Cela permet à la fois de détruire des bactéries et de protéger les

immunoglobulines (Elizondo-Salazar et al. 2009). Par contre, les composants cellulaires ne perdurent pas pendant la congélation (McGuirk et al. 2004).

2.3.2. Type de distribution

Les types de distribution du colostrum sont souvent liés aux types de production allaitante ou laitière. En élevage allaitant, le veau est le plus souvent élevé sous la mère alors qu'en élevage laitier, le veau peut être laissé sous la mère pendant les premières 24h seulement, ou être séparé de la mère dès la naissance.

Plusieurs études montrent un taux élevé d'échec de transfert d'immunité passive dans les élevages où la tétée colostrale n'est pas surveillée. Un défaut de TIP des veaux en autonomie peut être à la fois attribué à un défaut d'ingestion volontaire du colostrum en terme de volume (Besser et al. 1991) et/ou à un délai trop long entre la mise bas et l'ingestion (Cf 2.3.3) (Gay 1984).

Le transfert de l'immunité passive est de meilleure qualité lorsque les veaux sont nourris au biberon plutôt qu'en tétée libre (Franklin et al. 2003 ; Besser et al. 1991).

Le sondage œsophagien assure l'ingestion d'une quantité de colostrum optimale mais l'absorption intestinale est modifiée car le colostrum passe d'abord par les pré-estomacs et pas directement par la gouttière œsophagienne. Ce passage étant relativement rapide (<3h), l'absorption intestinale reste suffisante (Lateur-Rowet et al. 1983).

D'après l'étude de Besser et al. (1991) et celle de Chigerwe et al. (2012), la prévalence d'un défaut de TIP est comparable lors d'une buvée colostrale à l'aide du biberon ou par sondage œsophagien, tant que les veaux reçoivent la même quantité d'IgG1 colostrales.

Le choix du type de distribution du colostrum au veau laitier est primordial afin de contrôler le volume distribué étant donné que la concentration en IgG du colostrum de certaines vaches laitières est moyenne à faible (Cf. 2.3.4 ; Guy et al. 1994).

2.3.3. Délai de distribution

Pour un veau en tétée libre, la diminution rapide de sa teneur en IgG pourrait être un facteur limitant pour un transfert d'immunité passive de qualité (Foley 1978 ; Straub et al. 1978).

Mais de manière plus importante, c'est l'existence d'un phénomène de « fermeture de la barrière intestinale » du veau qui limite l'absorption des macromolécules, et parmi elles, les immunoglobulines (Weaver et al. 2000 ; McGuirk et al. 2004). Cette absorption est maximale durant les 4 premières heures (7.30 mg/mL pendant les 4 premières heures), suivant la naissance et diminue rapidement après 12h (3.36mg/mL entre la 8^{ème} et la 12^{ème} heure ; Stott et al. 1979). D'après l'étude de Kruse (1970), le coefficient d'absorption des immunoglobulines (correspondant à la masse total d'immunoglobulines dans le sang du veau 24h après la prise colostrale divisée par la masse d'immunoglobuline ingérée, multipliée par un facteur 100) est de 24 lorsque les veaux boivent le colostrum 2h après la naissance, et il est divisé par 2 au bout de 20h.

2.3.4. Quantité à distribuer

De manière générale, les apports en IgG recommandés pour assurer un transfert d'immunité passive suffisant sont de 100 à 200g (Besser et al. 1991 ; Hopkins et al. 1997 ; McGuirk et al. 2004). Ils sont conditionnés à la fois par le volume et la concentration du colostrum ingéré.

Certaines études différencient le volume de colostrum à donner aux veaux de races allaitantes et aux veaux de races laitières, étant donné que la concentration en IgG du colostrum des vaches laitières est considérée comme plus faible que celle des allaitantes (Guy et al. 1994). Le volume de colostrum recommandé en élevage laitier est d'environ 3 à 4L (Besser et al. 1991 ; Hopkins et al. 1997 ; Quigley et al. 2002). En élevage allaitant, le volume de colostrum à administrer est moins important, de l'ordre de 1.5 à 2L, car le colostrum des vaches allaitantes contient généralement plus de 100 g/L d'IgG (Guy et al. 1994 ; Chigerwe et al. 2005).

L'étude de Besser et al. (1985a) suggère l'existence d'une limitation physiologique de la masse d'immunoglobulines pouvant être absorbée dans le sérum pour un volume de colostrum donné. Une corrélation négative a été mise en évidence entre la masse d'immunoglobuline colostrale et l'efficacité d'absorption estimée ($r^2=-0,443$, $p<0.001$). Ces résultats pourraient s'expliquer par une saturation des transporteurs au niveau de l'épithélium intestinal des veaux et/ou une régulation de la concentration sérique en immunoglobuline du veau (perte d'immunoglobuline au-delà d'un certain seuil).

Mais dans cette étude, les deux paramètres permettant de calculer l'efficacité d'absorption estimée sont imprécis : le poids du veau a été fixé à 35 kg et le pic d'absorption en immunoglobuline mesurée uniquement à 48h et 96h. Ces résultats sont donc discutables.

En conclusion, le transfert d'immunité passive par le biais du colostrum doit être rapide, en quantité suffisante et de bonne qualité (Weaver et al. 2000).

2.4. Facteurs de variation liés à l'absorption par le veau

2.4.1. Mécanisme de l'absorption intestinale des immunoglobulines

Une fois que le colostrum est ingéré et est parvenu dans l'intestin grêle du veau, le transfert des composants du colostrum a lieu dans les cellules intestinales. Contrairement au transfert des immunoglobulines du sérum de la vache vers le colostrum, l'assimilation des immunoglobulines du colostrum par le veau n'est pas un transfert sélectif (Butler 1969). Elle se fait essentiellement dans le jéjunum et à moindre mesure, dans l'iléon.

Les proportions en immunoglobulines du colostrum sont globalement conservées lors de leur transfert vers le sérum du veau (Stott et al. 1983). Puis une partie repasse dans la lumière de l'intestin et fournit une immunité intestinale locale (Besser et al. 1993b).

Les facteurs antimicrobiens non spécifiques permettent eux aussi une protection locale.

2.4.2. Evolution de la perméabilité intestinale du veau

L'absorption est maximale 4h après la naissance (Bush et al. 1980 ; Weaver et al. 2000). Mais une imperméabilisation de l'intestin aux macromolécules débute dès 12h après la naissance et se termine au bout de 24h. Ce phénomène est couramment appelé « fermeture de la barrière intestinale ». Une étude sur des porcelets montre l'existence d'une modification du type d'entérocytes à la surface de l'intestin qui eux sont imperméables aux macromolécules du colostrum (Skrzypek et al. 2007). Baintner (2007) observe ce phénomène chez tous les artiodactyles, et *a fortiori* chez les ruminants.

2.5. Du transfert de l'immunité passive au système immunitaire actif

Le niveau de protection que les immunoglobulines confèrent au veau diminue progressivement au fur et à mesure de leur catabolisme. D'après Husband et al. (1972), le temps de demi-vie des IgG est de 16 à 32 jours, de 4 jours pour les IgM et de 2.5 jours pour les IgA. L'étude de (Sasaki et al. 1976) précise la différence entre le temps de demi-vie des IgG1 et IgG2, respectivement de 5.5 jours et 11.7 jours. Peu à peu la synthèse endogène d'immunoglobulines prend le relais.

2.6. Evaluer la qualité du transfert de l'immunité passive

Plusieurs méthodes ont été proposées pour évaluer la qualité du transfert de l'immunité passive chez les ruminants (Weaver et al. 2000).

Les protéines totales sériques du veau peuvent permettre d'évaluer indirectement la concentration sérique en IgG. En effet, les protéines totales étant constituées majoritairement d'albumine et de globuline, et le taux d'albumine étant globalement constant, la teneur en globulines, et plus spécifiquement en immunoglobulines, peut être évaluée indirectement à l'aide de la mesure des protéines totales. Les immunoglobulines et les IgG étant très bien corrélées entre elles ($r=0.956$) (Husband et al. 1972), l'évaluation du transfert de l'immunité passive par les IgG peut être réalisé indirectement par la mesure du taux de protéines sériques des veaux.

Une autre méthode indirecte d'évaluation du TIP mesure la concentration sérique du veau en γ -glutyl transferase (γ -GT) car cette enzyme est absorbée en même temps que les immunoglobulines de manière non sélective par les entérocytes (Weaver et al., 2000).

Donc certaines approches mesurent la concentration en immunoglobulines sérique du veau de manière directe, d'autres méthodes indirectes mesurent le taux protéique ou la concentration en γ -glutyl transferase (γ -GT).

2.6.1. Les niveaux de qualité

Dans notre étude, les seuils de concentration sérique en IgG1 choisis pour classer les TIP par niveau de qualité sont de 10 et 15 g/L. La valeur de 10 g/L est un seuil en dessous duquel les veaux présentent un risque accru de pathologies digestives ou respiratoires (Gay 1984 ; Besser et al. 1991). Le TIP sera considéré comme « mauvais » pour des concentrations sériques en IgG inférieures à 10 g/L, « moyen à bon » entre 10 et 15 g/L, et « excellent » si la concentration en IgG1 est supérieure à 15 g/L.

2.6.2. Les outils

2.6.2.1. Dosage des immunoglobulines par immunodiffusion radiale

Le principe est le même que pour doser les IgG colostrales (partie 1.4.2.1.). Cette technique est très précise, mais la durée de réalisation est longue (18 à 24h). Le coût par analyse est d'environ 6 euros par test (Lee et al. 2008).

D'autres méthodes existent (par exemple des kits immuno-enzymatiques) mais ne seront pas développées ici.

2.6.2.2. Dosage des protéines totales par analyseur biochimique

Le dosage des protéines totales sériques peut être effectué directement avec un analyseur biochimique chez de nombreux vétérinaires. La mesure est le plus souvent réalisée grâce à la réaction de biuret qui émet un signal d'intensité lumineuse proportionnel au nombre de liaisons peptidiques se créant entre le cuivre et les peptides. Ce signal est ensuite mesuré par spectrophotométrie.

A notre connaissance, aucune étude précédente n'a mesuré le taux de protéines à l'aide d'un analyseur biochimique, cette analyse est essentiellement réalisée avec un réfractomètre.

2.6.2.3. Evaluation des protéines totales par réfractométrie optique

La réfractométrie optique permet aussi d'estimer indirectement le transfert d'immunité passive par le dosage des protéines totales. Plusieurs études ont évalué la corrélation entre l'indice de réfractométrie mesuré et la concentration en protéines totales du sérum à tester, par exemple celle de Quigley (2001). Les principes de réfractométrie sont les mêmes que pour évaluer le taux de protéines du colostrum (partie 1.4.2.3 et 1.4.2.4).

Les résultats d'études comparant la méthode IDR et les différentes méthodes de mesure du taux de protéines sont présentés dans le tableau 12.

L'étude de Naylor, et al. (1977a) montre que le réfractomètre optique prédit de manière fiable la concentration en immunoglobulines à partir des protéines sériques ($r=0.88$) et plasmatiques ($r=0.80$) des veaux de race laitière.

Une corrélation comparable ($r=0.87$) entre la concentration en IgG sérique et la mesure du taux de protéines au réfractomètre optique a été retrouvé chez des veaux de races allaitantes dans l'étude de Perino et al. (1993).

La corrélation entre la concentration **plasmatique** en IgG et les mesures du taux de protéines au réfractomètre optique est également forte ($r=0.72$; McBeath et al. 1971).

Une étude portant sur les corrélations entre les **γ -globulines** et les protéines totales mesurées par réfractométrie optique en fonction de l'âge du veau présente des coefficients allant de 0.63 à 0.92 (Paris et al. 1992). Les meilleurs coefficients de corrélation sont observés entre 40 et 50 heures post-vêlage.

L'étude de Calloway et al. (2002) portant à la fois sur des veaux de race allaitante ou laitière, présente des résultats moins satisfaisants ($r=0.74$).

Tyler et al. (1996) présentent des mesures faites avec un réfractomètre optique à température compensée et la corrélation est comparable ($r=0.87$).

La température ne semble pas être un facteur influençant significativement l'évaluation du TIP par le réfractomètre. Même si l'étude de Vandeputte et al. (2011) présuppose un effet de la température sur l'indice de réfraction, elle ne prouve pas une meilleure efficacité des réfractomètres ATC (Automatic Temperature Compensating). De même pour l'étude de

Calloway et al. (2002), les réfractomètres ATC et non ATC donnent des résultats comparables.

Tableau 12 : Comparaison des coefficients de corrélation entre le taux de protéines mesuré par réfractométrie optique et la concentration en IgG mesurée pas la méthode de référence (IDR)

Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Tyler et al. 1996 T compensée	0.87	242	<0.001
McBeath et al. 1971	0.72	80	-
Calloway et al. 2002 REFC (T non compensée)	0.74	90	<0.001
Naylor, et al., 1977a	0.88	34	<0.001
Perino et al. 1993	0.87 (car $r^2=0.77$)	48	-
Paris et al. 1992	0.63 à 0.92	178	-

L'étude de Vandeputte et al. (2011) portant sur des veaux de races allaitantes évalue les performances de quatre réfractomètres, dont deux réfractomètres optiques. Ces deux réfractomètres ont une sensibilité maximale ($Se=100\%$) et une spécificité de 90% et 91% au seuil de 56 et 58 g/L. Les efficacités de classement sont d'au moins 92%.

Tyler et al. (1996) présentent aussi des réfractomètres plus sensibles (94%) que spécifiques (76%) au seuil de 55 g/L mais les résultats sont moins performants (efficacité de classement de 82%).

L'étude de Calloway et al. (2002) présente des résultats moins sensibles (89%) mais plus spécifiques (94%) au seuil de 52 g/L.

De même pour l'étude de Perino et al. (1993) (au seuil de 42 g/L, $Se=80\%$, $Sp=100\%$), mais le seuil de détection des concentrations en IgG est de 8 g/L au lieu de 10 g/L pour toutes les autres études (tableau 13).

Tableau 13 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres optiques aux différents seuils de décision pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieure à 10 g/L

Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Efficacité de classement (%)	Indice de Youden (calculé)
Calloway et al. 2002 REF C n=90	48	62	96		
	52	89	94	86	0.83
	60	96	44		
Tyler et al. 1996 n=242	50	59	96	83	0.55
	55	94	76	82	0.70
Perino et al. 1993 n = 48 *	42	80	100	-	0.80
Vandeputte et al. 2011 REF Atago, n=108	56	100 (82-100)	91 (83-95)	93	0.91
Vandeputte et al. 2011 REF Atago ATC, n=108	58	100 (82-100)	90 (82-95)	92	0.90

* seuil de détection des IgG1 par IDR à 8 g/L

2.6.2.4. Evaluation des protéines totales par réfractométrie numérique

La réfractométrie numérique permet aussi d'estimer indirectement le transfert d'immunité passive d'après le même principe que le réfractomètre optique par le dosage des protéines totales (partie 1.4.2.3 et 1.4.2.4).

Un nombre moins important d'études a utilisé la méthode du réfractomètre numérique car c'est un outil plus récent. Les résultats d'études comparant la méthode IDR et la méthode du réfractomètre optique sont présentés dans le tableau 14. Calloway et al. (2002) comparent deux réfractomètres numériques à température compensée dont les performances apparaissent similaires ($r=0.59$ et $r=0.60$).

Tableau 14 : Comparaison des coefficients de corrélation entre le taux de protéines mesuré au réfractomètre numérique et la concentration en IgG1 mesurée par la méthode de référence (IDR)

Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Calloway et al. 2002 REF A (T compensée)	0.59	90	<0.001
Calloway et al. 2002 REF B (T compensée)	0.60	90	<0.001

Les réfractomètres numériques présentent des performances similaires à ceux des réfractomètres optiques (Se=100%, Sp=93% Efficacité de classement 94% ; Vandeputte et al. 2011). Les résultats de l'étude de Calloway et al. (2002) sont moins satisfaisants (efficacité de classement 86%). Au seuil de 52 g/L, les deux réfractomètres sont aussi plus sensibles (89% et 93%) que spécifiques (82% et 80% ; tableau 15).

Tableau 15 : Sensibilité et spécificité des réfractomètres numériques aux différents seuils de décision pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieures à 10 g/L

Sources	Seuil de décision (g/L)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement (%)	Indice de Youden (<i>calculé</i>)
Calloway et al. 2002 REF A	48	78	91		
	52	89	82	86	0.71
	60	96	22		
Calloway et al. 2002 REF B	48	87	84		
	52	93	80	87	0.73
	60	96	24		
Vandeputte et al. 2011 REF Wolf ATC, n=108	54	100 (82-100)	93 (86-97)	94	0.93
Vandeputte et al. 2011 REF Digital ATC, n=108	56	100 (82-100)	92 (85-96)	93	0.92

2.6.2.5. Mesure de l'activité de la γ -glutamyl-transférase (γ -GT)

Une méthode indirecte consiste à doser l'activité des γ -GT. Cette molécule est présente à de fortes concentrations dans le colostrum. Après la buvée, elle est absorbée de manière non sélective (Butler 1969 ; Weaver et al. 2000).

La concentration en γ -GT dans le sérum du veau est corrélée à la quantité de colostrum ingérée et absorbée. Le tableau 16 présente plusieurs coefficients de corrélation entre les concentrations sériques en γ -GT et en IgG1.

Notons que les corrélations sont moyennes, que ce soit pour des vaches allaitantes ou des vaches laitières. Deux études Braun, et al., (1982) et Parish et al. (1997) utilisent le logarithme des mesures de γ -GT mais n'obtiennent pas de meilleurs résultats. Braun et al. (1982) présentent les corrélations de la mesure des γ -GT avec les β et γ -globulines au sens large (mesurées par électrophorèse), contrairement aux autres études mesurant plus précisément les IgG par immunodiffusion radiale.

Les corrélations entre les γ -GT et les γ -globulines dépendent du temps écoulé entre la naissance et la prise de sang. La corrélation la plus forte est mesurée entre 40 et 50 heures après la naissance (Paris et al. 1992). Suivant les études, les âges des veaux au moment de la prise de sang (a) sont assez différents (tableau 16). Or Parish et al. (1997) montrent que la précision des γ -GT comme indicateurs du TIP diminue avec l'âge du veau. D'après l'étude de Wilson et al. (1999), la corrélation entre la concentration en immunoglobulines à la naissance et la concentration en γ -GT est bien inférieure lorsqu'on la calcule pour des veaux d'âge allant de 0 à 18 de jours ($r^2=0.06$) par rapport au calcul pour des veaux de 0 à 8 jours ($r^2=0.44$).

Tableau 16 : Comparaison des coefficients de corrélation entre la concentration sérique en γ -GT et la concentration en IgG mesurée par la méthode de référence

Auteurs	Races veaux	Âges des veaux (a) (jrs)	Coefficient de corrélation de Pearson (r)	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Braun et al. 1982	Viande	0 à 4	0.62 (log γ -GT)	16	< 0.01
Perino et al. 1993	Viande	1	0.64 (car $r^2=0.41$)	48	-
Parish et al. 1997	Lait	3 à 10	0.63 (log γ -GT)	71	< 0.10
Vandeputte et al. 2011	Viande	3 à 8	0.49	108	-
Wilson et al. 1999	Viande	<8	0.66 (car $r^2=0.438$)	69	< 0.10
Paris et al. 1992	Mixte	0 à 4 jours	0.44 à 0.63	178	-

D'après Maillard (2000), la mesure des γ -GT serait le test le plus performant pour déterminer le statut du TIP des veaux (au seuil de 50 UI/L, Se=93%, Sp=92%, efficacité de classement 93%). Seulement cette étude ne porte que sur des veaux malades (n=27). La mesure des γ -GT semble être un test moins sensible (80%) lorsque le statut des veaux (malade ou sain) de l'échantillon n'est pas connu (Perino et al. 1993). De plus les seuils de décision semblent très différents entre les études (tableau 17).

La spécificité du test dépend aussi du temps écoulé entre la naissance et la prise de sang (race mixte, sans conditions de prise colostrale fixées) (Paris et al. 1992). Quarante à cinquante heures après le vêlage, le seuil de concentration en γ -GT de 300 U/L peut être utilisé pour atteindre une spécificité de 100% correspondant à une concentration en γ -globulines de 9 g/L. Si la prise de sang est réalisée plus tôt, entre 30 et 40 heures, il faudra prendre un seuil de 600 U/L pour avoir une spécificité de 100%. Par contre si on choisit un seuil de détection des γ -globulines à 5 g/L pour une prise de sang 40 à 50 heures après vêlage, un seuil de 200 U/L suffit.

Tableau 17 : Sensibilité et spécificité de la mesure des γ -GT pour la détection des concentrations sériques en IgG1 inférieure à 10 g/L

Sources	Seuil de décision (UI/L)		Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Efficacité de classement (%)	Indice de Youden (calculé)
Perino et al. 1993 n = 48	200		80	97	-	0.77
	> 50		93	92	93	0.85
Maillard 2000 n=27 veaux malades	> 75		93	83	89	0.76
	> 100		100	67	85	0.67
	Paris et al. 1992 n=178	9 g/L	40-50h > 300	-	100%	-
		30-40h > 600	-	100%	-	-
	5 g/L	40-50h > 200	-	100%	-	-

2.6.2.6. Comparaison des outils

Les performances des différents types de réfractomètres (numérique, optique, ATC ou non) afin d'évaluer la qualité du transfert d'immunité passive sont comparables (Vandeputte et al. 2011 ; Calloway et al. 2002). Les seuils de décision sont généralement compris entre 50 g/L et 58 g/L.

Deux études comparent la réfractométrie et la mesure des γ -GT comme méthodes indirectes d'évaluation du TIP. Perino et al. (1993) présentent des résultats plus performants pour la réfractométrie (Se=80%, Sp=100%) que pour la mesure des γ -GT (Se=80%, Sp=97%).

A l'inverse, Maillard (2000) indique que la mesure des γ -GT (efficacité de classement de 93%) est plus performante que la réfractométrie (efficacité de classement de 85%) sur des veaux malades (n=27). En effet, la mesure des γ -GT sériques pourrait donc être plus spécifique d'une bonne prise colostrale que le taux de protéines sériques car la concentration en γ -GT du colostrum est 2.5 à 3.3 fois plus importante que dans le lait (Braun et al. 1982) et si le veau n'ingère pas de colostrum, la mesure des γ -GT sera comparable à celle d'un adulte (Thompson et al. 1981). De plus, les mesures des γ -GT sériques étant très supérieures lors d'une buvée colostrale, une erreur d'échantillonnage serait moins délétère que pour la mesure des protéines totales dont les variations sont moins marquées en fonction du TIP.

Cependant la prise de sang pour mesurer la concentration sérique en γ -GT doit impérativement être réalisée avant les huit jours du veau ($r^2=0.44$ avant 8 jours tandis que $r^2=0.06$ dans les 18 jours ; Wilson et al. 1999). L'étude de Parish et al. (1997) détermine la

concentration sérique en γ -GT du veau minimale en fonction de son âge équivalente à une concentration sérique en IgG1 supérieure à 10 g/L.

Une dernière méthode consiste à doser les protéines totales par analyseur biochimique à l'aide de la réaction de Biuret. Vandeputte et al. (2011) présentent une très forte corrélation ($r=0.96$ ou 0.95) entre la mesure de la concentration sérique en protéines totales par la méthode de biuret et par les différents types de réfractomètres.

L'ensemble des résultats des différents outils sont rappelés dans le tableau 18 et tableau 19.

Tableau 18 : Comparaison des coefficients de corrélation avec la concentration en IgG1 mesurée en immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum (réfractomètre optique, réfractomètre numérique, γ -GT)

Méthodes indirectes	Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r)	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Réfractomètre optique	Tyler et al. 1996	0.87	242	< 0.001
	McBeath et al. 1971	0.72	80	-
	Calloway et al. 2002, REFC	0.55	90	< 0.001
	Naylor, et al., 1977a	0.88	34	< 0.001
	Perino et al. 1993	0.87	48	-
Réfractomètre numérique	Calloway et al. 2002, REFA	0.59	90	< 0.001
	Calloway et al. 2002, REFB	0.60	90	< 0.001
Mesure des γ -GT	Braun et al. 1982	0.62	16	< 0.01
	Perino et al. 1993	0.64	48	-
	Parish et al. 1997	0.63	71	< 0.10
	Vandeputte et al. 2011	0.49	108	-

Tableau 19 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du transfert d'immunité passive

Méthodes indirectes	Sources	Seuil de décision	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement (%)	Indice de Youden
Réfractomètre optique (g/L)	Calloway et al. 2002 REF C	52	89	94	86	0.53
	Tyler et al. 1996	55	94	76	82	0.55
	Perino et al. 1993	42	80	100	-	0.70
	Vandeputte et al. 2011 REF Atago	56	100	91	93	0.91
	Vandeputte et al. 2011 REF Atago ATC	58	100	90	92	0.90
Réfractomètre numérique (g/L)	Calloway et al. 2002 REF A	52	89	82	86	0.71
	Calloway et al. 2002 REF B	52	93	80	87	0.73
	Vandeputte et al. 2011 REF Wolf ATC	54	100	93	94	0.93
	Vandeputte et al. 2011 REF Digital ATC	56	100	92	93	0.92
Mesure des γ -GT (UI/L)	Perino et al. 1993	200	80	97	-	0.77
	Maillard 2000	> 50	93	92	93	0.85

SECONDE PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Cabinets vétérinaires, élevages et animaux

L'étude a été réalisée dans 93 élevages de 5 départements, par 15 cabinets vétérinaires et par le laboratoire ISAE 35 (tableau 20). Cette étude a été mise en place et coordonnée par le laboratoire MSD.

La figure 1 présente la distribution du nombre de veaux par élevage inclus dans l'étude. La figure 2 présente la position géographique des départements des différents cabinets vétérinaires participant à l'étude avec le nombre de prélèvements par département.

Tableau 20 : Cabinets vétérinaires, vétérinaires, nombre de prélèvements colostraux et sanguins et nombre d'élevages

Cabinets vétérinaires	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
Vétérinaires	D	F	M	I	E	G	N	P	L	J	C	H	O	B	K (A)
Départements	58	53	49	35	49	53	49	35	53	58	71	71	58	58	71
Nombre de prélèvements	52	10	2	10	26	10	39	10	10	7 (-1)	34	21	3 (-1)	11	16
%	20%	4%	1%	4%	10%	4%	15%	4%	4%	3%	13%	8%	1%	4%	6%
Nombre d'élevages	13	3	1	2	5	2	12	2	5	2	15	16	2	4	9
%	14%	3%	1%	2%	5%	2%	13%	2%	5%	2%	16%	17%	2%	4%	10%

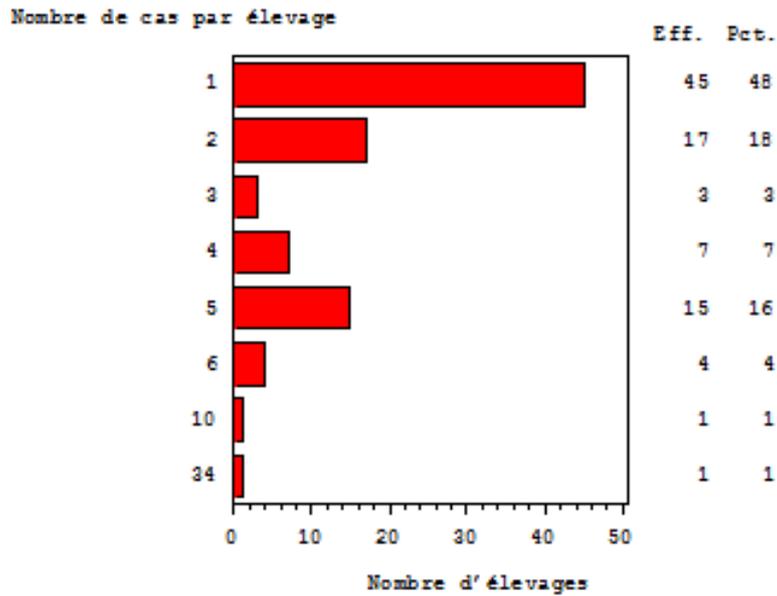


Figure 1 : Distribution du nombre de couple mère-veau par élevage inclus dans l'étude

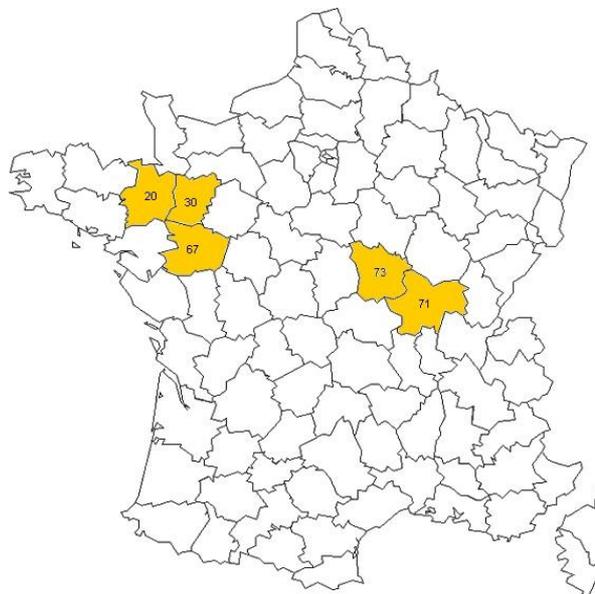


Figure 2 : Départements des différents cabinets vétérinaires et nombre de veaux par département

1.2. Prélèvements et informations recueillies

Pour chaque couple mère-veau, les prélèvements prévus consistaient en :

- un prélèvement de colostrum, réalisé après la mise bas, divisé en 2 flacons
- un prélèvement sanguin sur le veau, réalisé entre 48 heures et 4 jours de vie, sur 2 tubes secs

La moitié des échantillons a été congelée dans les plus brefs délais avant d'être envoyée au laboratoire ISAE 35. L'autre moitié a servi à effectuer les mesures par les vétérinaires praticiens.

Par ailleurs, différentes informations ont été recueillies par les vétérinaires :

- numéro d'élevage
- numéro de travail du veau et de la mère
- race du veau et de la mère
- date et heure de naissance
- conditions de vêlage (vêlage sans aide, aide facile, aide difficile, césarienne, césarienne après tentative d'extraction)
- date, heure et volume évalué de la première et de la deuxième buvée colostrale
- modalité de buvée du colostrum (1^{er} et seconde buvée) : tétée, biberon, sondage
- date et heure du prélèvement de colostrum
- date et heure du prélèvement sanguin sur le veau
- température rectale et statut malade ou non du veau au moment du prélèvement sanguin.

Ces informations ont été saisies sur des feuilles de suivi manuscrites.

Au total, 261 couples mère-veau ont fait l'objet d'un suivi. Des valeurs manquantes pour l'ensemble des mesures biologiques prévues concernaient 8 colostrums et 2 veaux.

Au total 259 veaux ont été inclus dans l'étude dont :

- 194 veaux de type racial viande (151 veaux de race charolaise (38), 18 veaux de race rouge des près (41), 12 veaux race blonde d'aquitaine (79), 9 de race limousine (34), 1 veau de race piémontaise (46), 1 veau de race parthenaise (71) et 2 veaux croisée donc les mères étaient de type viande)
- 58 de type racial laitier ou mixte (43 veaux de race prim-holstein (66), 6 veaux de race normande (56), 4 veaux de race jersiaise (15) et 5 veaux de race croisée dont les mères étaient de type laitier)
- 7 veaux pour lesquels l'information sur la race était manquante.

Dix horaires de prélèvements du colostrum et/ou de vêlage n'ont pas été rapportés. Le délai entre le vêlage et le prélèvement de colostrum était de moins d'une heure pour 67% des

vaches (167/249), compris entre 1h et 3h pour 28% des vaches (69/249) et au-delà de 3h pour 5% (13/249) (figure 3).

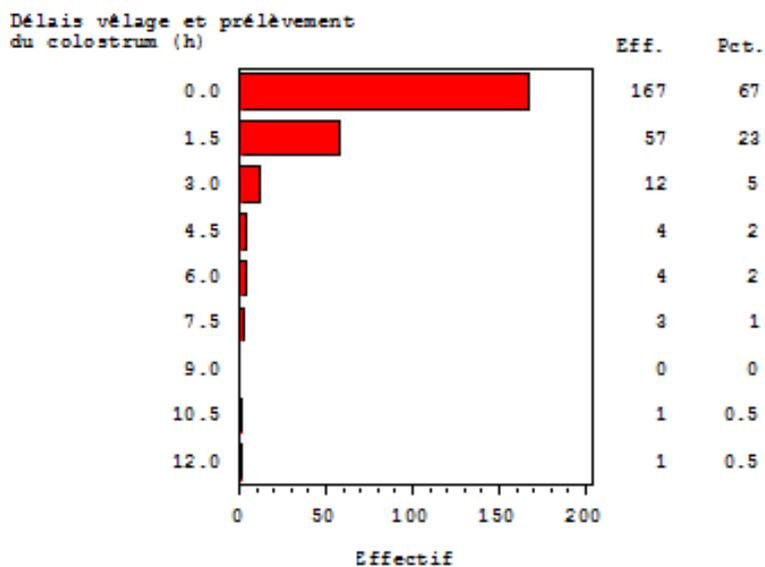


Figure 3 : Répartition des délais entre le vêlage et le prélèvement du colostrum (en heures)

Les prélèvements de sang sur tube sec sur les veaux inclus dans l'étude ont été réalisés dans un délai de 3 à 7 jours après la naissance pour 98.8% (249/252) des cas, et dans les deux premiers jours pour 1.2% d'entre eux (3/252). Pour sept veaux, l'information était manquante ou aberrante. La répartition de l'âge des veaux lors du prélèvement sanguin est présentée par la figure 4.

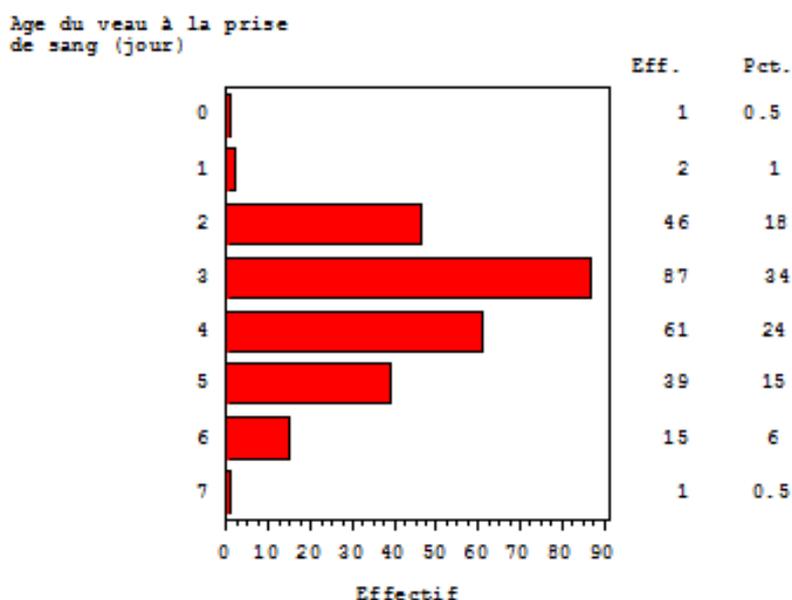


Figure 4 : Répartition des âges des veaux lors du prélèvement sanguin (en jours)

1.3. Analyses biologiques

1.3.1. Concentration en IgG du colostrum

En vue d'évaluer la qualité du colostrum, plusieurs analyses ont été réalisées.

Dosage des IgG1

Le dosage des IgG1 colostrales a été réalisé par la technique d'immunodiffusion radiale en gélose par le laboratoire ISAE 35 à l'aide de la trousse Bov IgG ID Ring Test (ID Biotech), (limite de détection de 5 µg/mL et de quantification de 25 µg/mL).

La répétabilité de la mesure par IRD sur le colostrum a été évaluée par le laboratoire ISAE 35 (essai interne) en réalisant 10 mesures indépendantes (de la prise d'échantillon à l'interprétation du résultat) sur 5 colostrums de concentrations en IgG1 *a priori* différentes (inférieure à 20 g/L, de 20 à 30 g/L, de 30 à 50 g/L, de 50 à 100 g/L et supérieure à 100 g/L).

Le coefficient de variation (CV) intra-essai global était de 15.6%. Il était minimal pour l'échantillon de concentration en IgG1 supérieur à 100 g/L (8.3%) et maximal (44.0%) pour l'échantillon de concentration inférieure à 20 g/L.

Evaluation de la teneur en IgG avec le pèse colostrum

La mesure de la densité du colostrum à l'aide du pèse colostrum ou colostromètre a été faite aux cabinets vétérinaires à l'aide d'un modèle unique de pèse colostrum (Densimètre pèse colostrum complet en pipette, Alla france, référence :1450-qp).

Evaluation des protéines totales avec le colotest et avec le réfractomètre numérique

L'évaluation des protéines totales (corrélée aux immunoglobulines et plus particulièrement aux IgG) a été réalisée à l'aide du colotest (modèle 2005 développé par les Haras nationaux) et du réfractomètre numérique (modèle Milwaukee MA882, 0 à 50% Brix, 0 à 80°C) par les vétérinaires praticiens.

Toutes les mesures ont été réalisées à la clinique vétérinaire. Les températures de mesure lues sur le réfractomètre numérique ont été appliquées aux les autres instruments.

1.3.2. Qualité du transfert d'immunité passive

Les prélèvements sanguins ont été centrifugés après coagulation à température ambiante. Après séparation du caillot, les analyses suivantes ont été réalisées sur le sérum des veaux.

- Dosage des IgG1

Le dosage des IgG1 sériques des veaux a été réalisé par le laboratoire ISAE 35 (Trousse Bov IgG ID Ring Test, ID Biotech).

De même que pour le colostrum, la répétabilité de la mesure par IRD sur le sérum a été évaluée par le laboratoire ISAE 35 (essai interne) en réalisant 10 mesures indépendantes (de la prise d'échantillon à l'interprétation du résultat) sur 5 sérums de concentration en IgG1 *a priori* différentes (inférieure à 5 g/L, de 5 à 10 g/L, de 10 à 15 g/L, de 15 à 20 g/L et supérieure à 20 g/L).

Le coefficient de variation (CV) intra-essai global pour les sérums était de 6.9%. Il était minimal pour le sérum de concentration en IgG1 comprise entre 15 et 20 g/L (4.8%) et maximal (16.3%) pour le sérum de concentration inférieure à 5 g/L.

- Dosage des protéines sériques par le laboratoire ISAE 35

Le dosage des concentrations en protéines sériques du veau a été mise en œuvre par le laboratoire ISAE 35 à l'aide de l'analyseur multiparamétrique Konelab 20, méthode reposant sur la réaction colorimétrique de biuret puis lecture par spectrophotométrie (Total Proteins +, ThermoScientific Ref. 981827).

- Dosage des protéines sériques par les vétérinaires

Le dosage des protéines sériques a été réalisé à l'aide de l'analyseur de biochimie VetTest présent au sein des différents cabinets vétérinaires. Nous ne disposons pas d'information sur l'étalonnage éventuel de ces appareils avant et pendant l'étude.

- Evaluation des protéines sériques par réfractométrie optique et par réfractométrie numérique

L'évaluation des protéines sériques a été mise en œuvre à l'aide des appareils de réfractométrie optique (divers modèles non précisés) et numérique (modèle Milwaukee MA882) mis à la disposition des vétérinaires.

- Dosage de l'activité de la γ -Glutamyl Transferase (γ -GT)

Le dosage de l'activité de la γ -GT a aussi été mis en œuvre dans les cabinets vétérinaires à l'aide de l'analyseur de biochimie VetTest.

Toutes les mesures ont été réalisées à la clinique vétérinaire. Les températures de mesure lues sur le réfractomètre numérique ont été appliquées aux autres instruments.

1.4. Analyse statistique

1.4.1. Gestions des données

Les informations enregistrées sur les feuilles de suivi ont été saisies sur informatique (Excel 2003). Après correction des erreurs de saisie et harmonisation des notations, elles ont été transférées au format SAS. L'ensemble des analyses descriptives et exploratoires, précisées au fur et à mesure dans la partie résultats, a été réalisée sous SAS 9.1.

1.4.2. Analyses descriptives

Les comparaisons de données qualitatives ont fait appel au test du Chi-deux, et au test exact de Fisher lorsque les faibles effectifs l'exigeaient.

Les comparaisons de données quantitatives ont été réalisées par le test du Student ou le test non paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon lorsque les effectifs ou les distributions des données ne permettaient pas d'appliquer le test de Student.

Les relations entre les valeurs obtenues par les différents outils ont été évaluées par le coefficient de corrélation de Pearson.

1.4.3. Evaluation des performances diagnostiques des outils indirects

- **Test de référence et classement des échantillons**

Pour pouvoir évaluer les performances diagnostiques des différents outils indirects, un test de référence (gold standard) est nécessaire afin de caractériser le statut « positif » ou « négatif »

des échantillons. Dans notre étude, la méthode d'immunodiffusion radiale (IDR) a été définie comme la méthode de référence.

Un échantillon de sérum a été considéré comme « positif » lorsqu'il caractérisait un veau à défaut de TIP. Deux seuils de concentration en IgG1 sériques, 10 et 15 g/L, ont été retenus, de manière arbitraire, selon les données de la littérature.

De même un échantillon de colostrum a été considéré comme « positif » lorsqu'il caractérisait un colostrum faiblement concentré en IgG1. Deux seuils de concentration en IgG1 colostrales, 50 et 100 g/L, ont été retenus, de manière arbitraire, selon les données de la littérature.

Deux approches ont été utilisées et comparées pour classer les échantillons par rapport à ces seuils de décision.

Dans la première approche, les résultats obtenus par la technique d'IDR (gold standard) ont été considérés comme exact et précis. L'ensemble des veaux et des colostrums ont été inclus dans l'analyse. Les veaux et les colostrums dont les résultats étaient proches du seuil de décision ont été classés de manière stricte par rapport à ce seuil. Par exemple, au seuil de décision de 10 g/L, une concentration en IgG1 sériques de 9.8 g/L classait un veau en « défaut de TIP », alors qu'une concentration de 10.1 g/L classait un veau en « TIP efficace ».

Cependant compte tenu de la précision de la méthode d'IDR pour la mesure de concentration en IgG1 sériques (coefficient de variation intra-essai de 8.5% pour un échantillon de concentration comprise entre 5 et 15 g/L, et de 4.8% pour un échantillon compris entre 15 et 20 g/L), le vrai statut des veaux vis-à-vis du TIP aux seuils de 10 et 15 g/L n'est pas connu avec certitude pour les veaux dont la concentration sérique mesurée en IgG1 était respectivement comprise entre 9 et 11 g/L et entre 14 et 16 g/L. La deuxième approche a donc consisté à exclure ces veaux à statut « douteux » de l'analyse.

De même pour les concentrations en IgG1 colostrales, les coefficients de variation de la méthode de référence sont tels (CV intra-essai de 12 % pour des échantillons compris entre 40 et 50 g/L ; environ 15% autour de 100 g/L), que le vrai statut des prélèvements vis-à-vis de la qualité du colostrum aux seuils de 50 g/L et 100 g/L n'est pas connu avec certitude pour des concentration mesurées entre 45 et 55 g/L, et 85 g/L et 110 g/L. De même que précédemment, l'analyse a été réalisée à nouveau en excluant ces prélèvements.

- **Réalisation d'une courbe ROC**

La détermination des seuils de décision des outils indirects et des performances diagnostiques associées à ces seuils a fait appel aux courbes ROC (Receiver Operating Characteristic).

La courbe ROC est une représentation graphique de la relation existant entre la sensibilité et la spécificité d'un test pour toutes les valeurs seuils possibles. Tracer la courbe ROC d'un test vise à déterminer le seuil de décision minimisant le nombre de faux positifs et de faux négatifs (maximisation simultanée de la sensibilité (Se) et de la spécificité (Sp)). Chaque point, pour un seuil donné, est placé dans un repère orthonormé où l'ordonnée représente la Sensibilité et l'abscisse (1-Spécificité).

Dans le cas d'une corrélation positive entre la valeur de la méthode de référence et celle de la méthode à évaluer, une valeur seuil élevée entrainera beaucoup de faux négatifs et très peu de faux positifs : la sensibilité tendra vers 0 et la spécificité vers 1. La résultante sur la courbe ROC sera donc le point (0 ; 0). Une diminution du seuil entrainera une augmentation de la sensibilité (diminution du nombre de faux négatifs) et une diminution de la spécificité (augmentation du nombre de faux positifs). A l'extrême, une valeur seuil très basse sera associée à un petit nombre de faux positifs et à beaucoup de faux positifs : la sensibilité tendra vers 1 et la spécificité vers 0. La résultante sur la courbe ROC sera donc le point (1 ; 1). Dans le cas d'un test parfait, la sensibilité et la spécificité sont égales à 1 et la résultante sur la courbe est le point (0 ; 1).

Les courbes ROC des différents outils indirects évaluant la qualité du TIP et du colostrum ont été tracées sur les mêmes graphiques afin de les rendre visuellement comparables.

- **Indices de performances des outils indirects**

Deux indices ont été calculés pour chaque seuil de décision et ont permis de comparer les performances globales des outils indirects. L'indice de Youden, indépendant de la prévalence, permet de déterminer le seuil maximisant le couple (Se ; Sp). Un autre indice appelé « efficacité de classement » évalue la proportion d'échantillons correctement classés dans l'échantillon d'étude par rapport à la méthode de référence, et dépend donc de la prévalence. Ces indices sont calculés de la manière suivante :

$$\text{Indice de Youden} = \text{Se} + \text{Sp} - 1$$

$$\text{Efficacité (\%)} = \frac{(\text{VP} + \text{VN})}{\text{Nbre d'échantillons}}$$

Pour chaque outil indirect, le seuil de décision retenu était celui qui maximisait l'un ou l'autre de ces 2 indices. Lorsque les valeurs de ces deux indices n'étaient pas maximales pour un même seuil, plusieurs seuils ont alors été retenus.

1.4.4. Application en médecine de population et en audit d'élevage

Nous avons souhaité par ailleurs illustrer une application pratique des performances diagnostiques de ces outils indirects en médecine collective.

Dans le cadre de la médecine collective ou d'un audit d'élevage s'intéressant à la qualité du transfert de l'immunité passive, il est rare que l'ensemble des veaux soient soumis à un test diagnostic ; les analyses biologiques sont réalisées sur un échantillon d'animaux, malheureusement de taille souvent réduite. Du fait des fluctuations d'échantillonnage et de l'imperfection de certains outils diagnostiques, la prévalence du défaut de TIP n'est pas connue avec précision.

L'objectif de cette dernière analyse visait à montrer l'information apportée quant à la prévalence du défaut de TIP dans un élevage, par l'évaluation du TIP sur un échantillon de taille croissante de veaux, à l'aide de la méthode de référence ou des outils indirects.

La probabilité que la prévalence vraie du défaut de TIP soit inférieure à une prévalence seuil, sachant le résultat des tests, a été calculée. Cette probabilité dépend de la prévalence seuil choisie, des performances des tests utilisés et du nombre d'animaux testés. Pour un vétérinaire, cette probabilité représente le niveau de confiance qu'il peut accorder aux résultats d'un test diagnostique, appliqué sur un échantillon de veaux, pour une prévalence seuil donnée. Autrement dit, l'application d'un test diagnostique sur n veaux, permet de dire, compte tenu des résultats, que la prévalence du défaut de TIP est inférieure au seuil x%, avec une probabilité (confiance) de y%.

Par ailleurs, compte tenu de l'incertitude autour des estimateurs des performances (sensibilité, spécificité) des outils indirects, une approche permettant de définir des distributions *a priori* de ces performances reflétant les intervalles de confiance estimés a été privilégiée par rapport

à d'autres approches fixant ces paramètres à des valeurs ponctuelles (programme FreeCalc2 par exemple ; Cameron et al. 1998). De ce fait nous avons utilisé le logiciel BayesFreeCalc pour la réalisation des calculs (Johnson et al. 2004).

Un élevage avec 100 naissances par an a été pris pour exemple. Les prévalences de 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40% ont été utilisées comme seuils. Les calculs ont été réalisés pour 3 tests diagnostiques : un premier test supposé parfait ($Se=100\%$, $Sp=100\%$) et deux tests imparfaits l'un avec une sensibilité supérieure à la spécificité, l'autre avec des performances inversées et reflétant les estimateurs calculés pour les outils indirects (cf. infra). Enfin nous avons aussi fait varier le nombre d'animaux prélevés de 5 à 20 par pas de 5.

Ma contribution personnelle dans cette étude a consisté en la vérification et l'harmonisation des données fournies par la coordinatrice de l'étude (MSD) et la réalisation et l'interprétation de l'ensemble des analyses statistiques.

2. RESULTATS

2.1. Description des résultats

2.1.1. Paramètres colostraux

2.1.1.1. Concentrations en IgG1 colostrales (IDR)

Les mesures des concentrations en IgG1 colostrales réalisées par IDR sont au nombre de 251 (8 mesures manquantes). La médiane de ces mesures est de 97.6 g/L (1^{er} quartile= 69.5 g/L, 3^{eme} quartile=119.9 g/L). Au total 29 prélèvements colostraux (11.5%) avaient une concentration en IgG1 strictement inférieure à 50 g/L, 105 (41.8%) étaient compris entre 50 et 100 g/L et 117 (46.6%) avaient une concentration strictement supérieure à 100 g/L.

La figure 5 présente la répartition des concentrations colostrales en IgG1, classées en fonction du type racial de la mère.

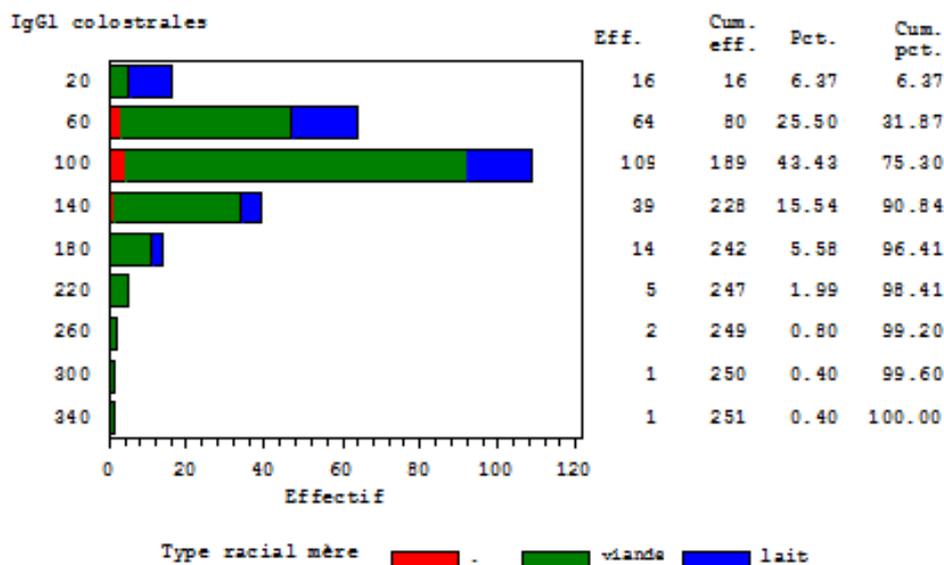


Figure 5 : Répartition des concentrations en IgG1 colostrales selon les types raciaux

La proportion de colostrums fortement concentrés (>100 g/L IgG1) était plus importante parmi les vaches de race allaitante que de race laitière (tableau 21, $\chi^2=28.3$, $p<0.0001$).

Tableau 21 : Concentration en IgG1 colostrales en fonction du type racial (les pourcentages par ligne sont entre parenthèses, 7 données manquantes concernant la race sont exclues)

Type racial	Niveaux de concentrations en IgG1 colostrales			Total
	<50 g/L	[50 – 100 g/L[>=100 g/L	
Viande	11 (6)	79 (41)	101 (53)	191
Laitier	16 (30)	23 (43)	14 (27)	53
Total	27 (11)	102 (42)	115 (47)	244

2.1.1.2. Températures des mesures

Les températures de mesure pour le colostrum ont été évaluées lors des mesures au réfractomètre numérique et sont étendues aux mesures au pèse colostrum et au colotest dans le but de déterminer si elle a une influence ou non.

Les températures de mesure sont au nombre de 219 (40 manquantes). La médiane de ces mesures est de 20.2°C (1^{er} quartile=19.6°C, 3^{eme} quartile=22.0°C). La figure 6 présente leurs répartitions. Il apparait que les mesures ont été réalisées dans un intervalle de températures globalement limité.

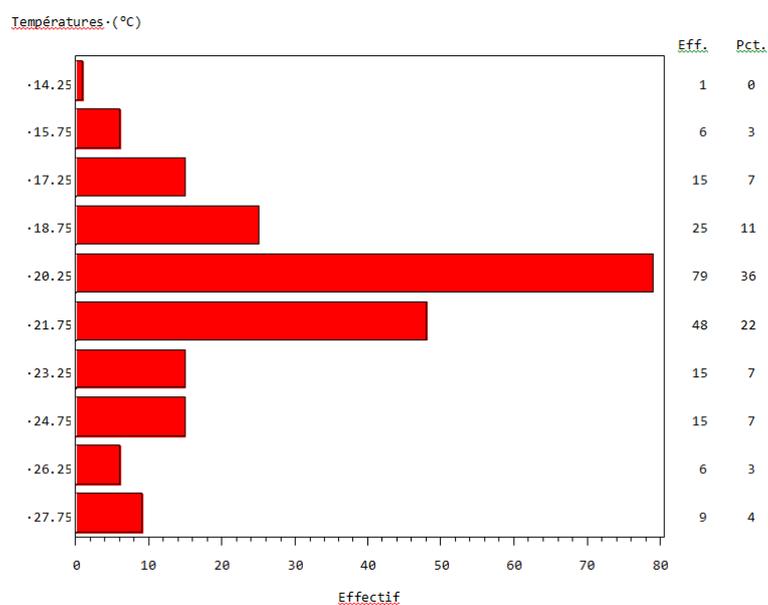


Figure 6 : Répartition des températures de mesures

2.1.1.3. Résultats des mesures au pèse colostrum (colostromètre)

Les mesures des concentrations en IgG1 colostrales sont au nombre de 249 (10 mesures manquantes). De plus, certaines valeurs ne sont pas des valeurs exactes mais des valeurs seuils pour les appareils de mesure, indiquant alors, « >125, >150, >185 ». La valeur limite de 125 g/L leur a donc été attribuée. Mais 9 valeurs restent supérieures à 125 g/L car les expérimentateurs ont essayé d'approximer la mesure bien qu'elles soient au-dessus du seuil maximal inscrit sur l'instrument (dont 6 mesures du cabinet vétérinaire O).

La médiane des mesures est de 105.3 g/L (1^{er} quartile=100.0 g/L, 3^{eme} quartile=125.0 g/L). La figure 7 présente leur répartition en fonction des niveaux de concentrations en IgG1 colostrales mesurée par IDR.

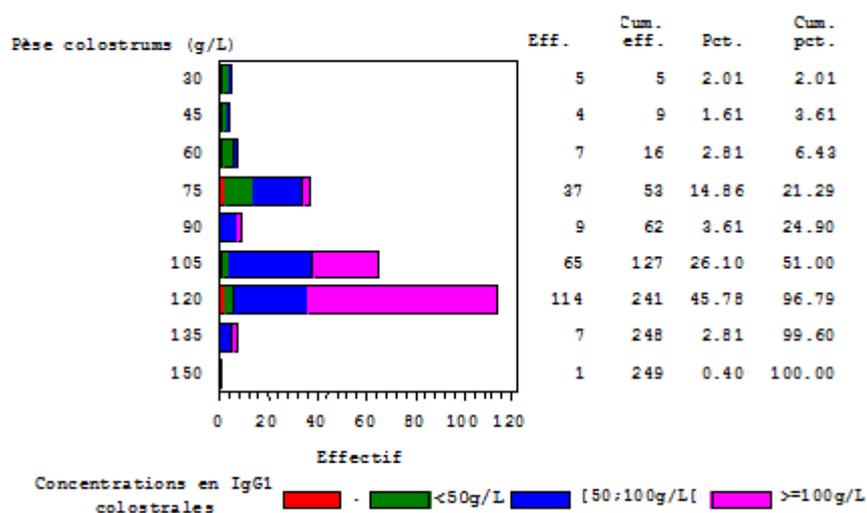


Figure 7 : Répartition des mesures au pèse colostrum

2.1.1.4. Résultats des mesures au colotest (réfractomètre optique)

Les mesures au colotest sont manquantes pour 11 échantillons (n=248). Là encore une valeur seuil « >110 » était indiquée pour 27 mesures. Ces mesures ont donc été fixées à 110 g/L pour pouvoir être prises en compte. Les 2 mesures qui sont exactes et supérieures égale à 110 g/L ont été conservées.

La médiane des mesures est de 70.0 g/L (1^{er} quartile= 55.0 g/L, 3^{eme} quartile=90.0 g/L) et leur répartition est présentée figure 8.

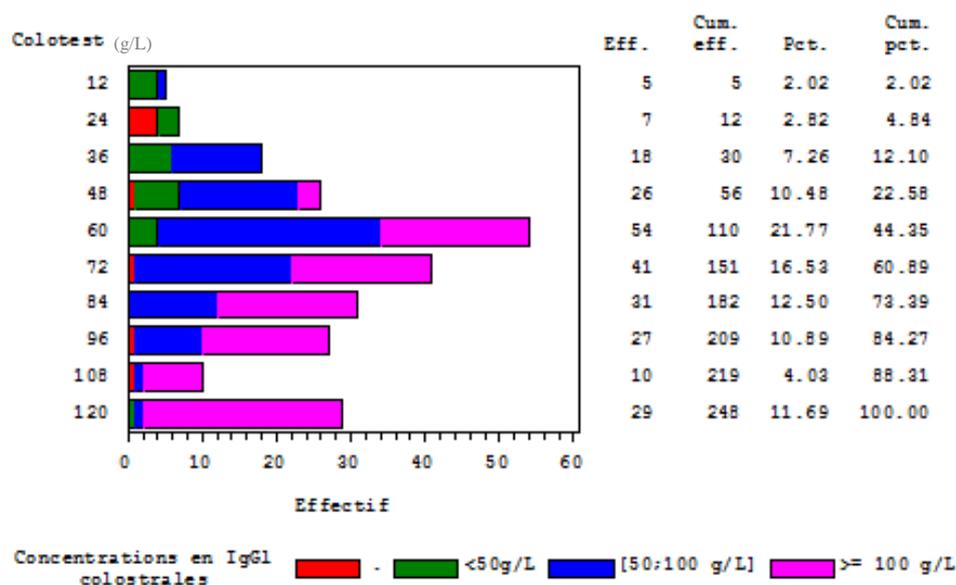


Figure 8 : Répartition des mesures au colotest

2.1.1.5. Résultats du réfractomètre numérique

Deux cent douze mesures au réfractomètre numérique sont disponibles. En effet, il y a 42 mesures manquantes et 5 mesures du [cabinet P, vétérinaire H] ont été exclues de l'étude car la valeur aberrante « >16 » avait été reportée. La médiane des mesures est de 26.3 % Brix (1^{er} quartile= 23.8% Brix, 3^{eme} quartile=28.9% Brix). Leur répartition est présentée figure 9.

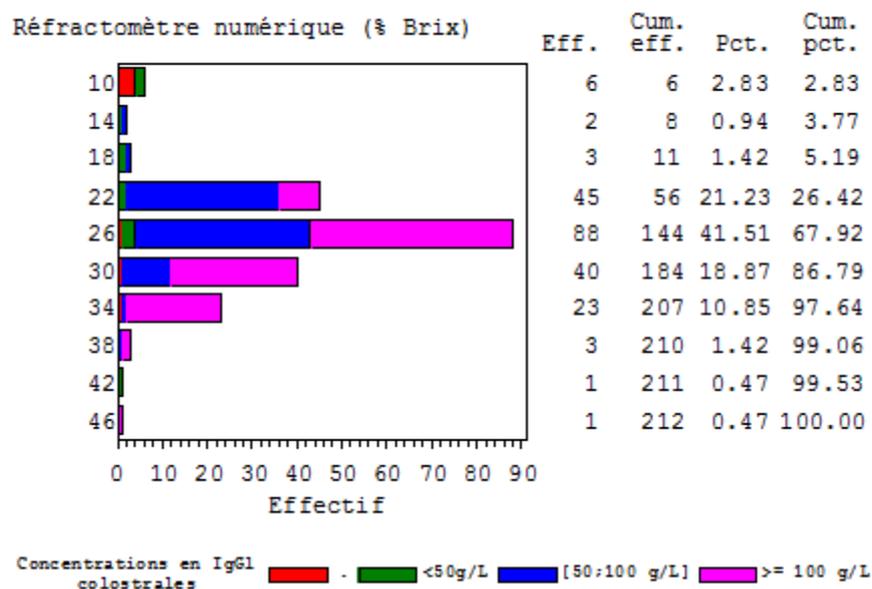


Figure 9 : Répartition des mesures au réfractomètre numérique

2.1.2. Paramètres sanguins

2.1.2.1. Concentrations en IgG1 sériques

Seules deux mesures de concentration en IgG1 sériques sont manquantes. Les veaux correspondant ont été exclus de l'analyse. Pour toutes les valeurs seuils des instruments de mesure de la concentration en IgG1 indiquant « <5 », la valeur de 5 g/L a été fixée (29 mesures).

La médiane des concentrations sériques en IgG1 est de 16.3 g/L (1^{er} quartile=8.8 g/L, 3^{eme} quartile=22.7 g/L). La répartition des concentrations en IgG1 sériques est présentée dans la figure 10, en fonction des types raciaux.

Sur un total de 259 prélèvements, 79 (30.5%), ont une concentration en IgG1 strictement inférieure à 10 g/L, 41 (15.8%) étaient compris entre 10 et 15 g/L et 139 (53.7%), avaient des concentrations en IgG1 strictement supérieures à 15 g/L.

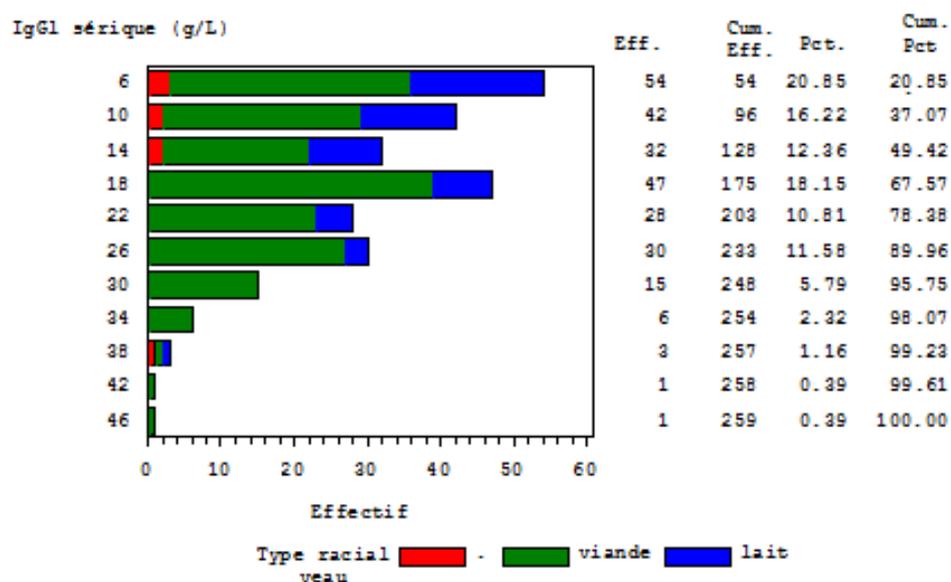


Figure 10 : Répartition des concentrations sériques en IgG1

La proportion de veaux ayant des concentrations en IgG1 sérique supérieures à 15 g/L est plus importante parmi les veaux de type racial viande (61%) que parmi les veaux de type racial laitier (33%) (tableau 22, $\chi^2=14.6$, $p<0.001$). A l'inverse les défauts de TIP (IgG1<10 g/L) sont plus fréquents chez les veaux laitiers (45%) que chez les veaux allaitants (25%) ($\chi^2=8.18$, $p=0.004$)

Tableau 22 : Concentration en IgG1 sériques en fonction du type racial (les pourcentages par ligne sont entre parenthèses)

Type racial	Niveaux de concentrations sériques en IgG1			Total
	<10 g/L	[10 -15 g/L[>=15 g/L	
Viande	49 (25)	27 (14)	118 (61)	194
Laitier	26 (45)	13 (22)	19 (33)	58
Total	75 (30)	40 (16)	137 (54)	252

2.1.2.2. Températures des mesures

La température des mesures sériques a été évaluée lors des mesures au réfractomètre numérique et a été étendue aux autres mesures en vue de déterminer si elle a une influence ou non.

Les températures de mesure sont au nombre de 202 (57 manquantes). La médiane de ces mesures est de 20.2°C (1^{er} quartile=19.5°C, 3^{eme} quartile=21.5°C). Les températures de mesure sont comprises entre 15 et 27°C, et la moyenne est de 20°C.

2.1.2.3. Concentrations en protéines sériques totales

Mesurées par le laboratoire ISAE 35

Les mesures des concentrations en protéines sériques totales réalisées au laboratoire ISAE 35 ont pour médiane 58.9 g/L (1^{er} quartile=52.0 g/L, 3^{eme} quartile=65.5 g/L). La figure 11 présente à la fois leur répartition et la répartition des niveaux de concentrations en IgG1 sériques correspondantes.

Les veaux ayant des concentrations en IgG1 sériques élevées ou moyennes correspondent à des concentrations en protéines sériques élevées ou moyenne. Cependant les deux valeurs entourées (figure 11) apparaissent comme aberrantes.

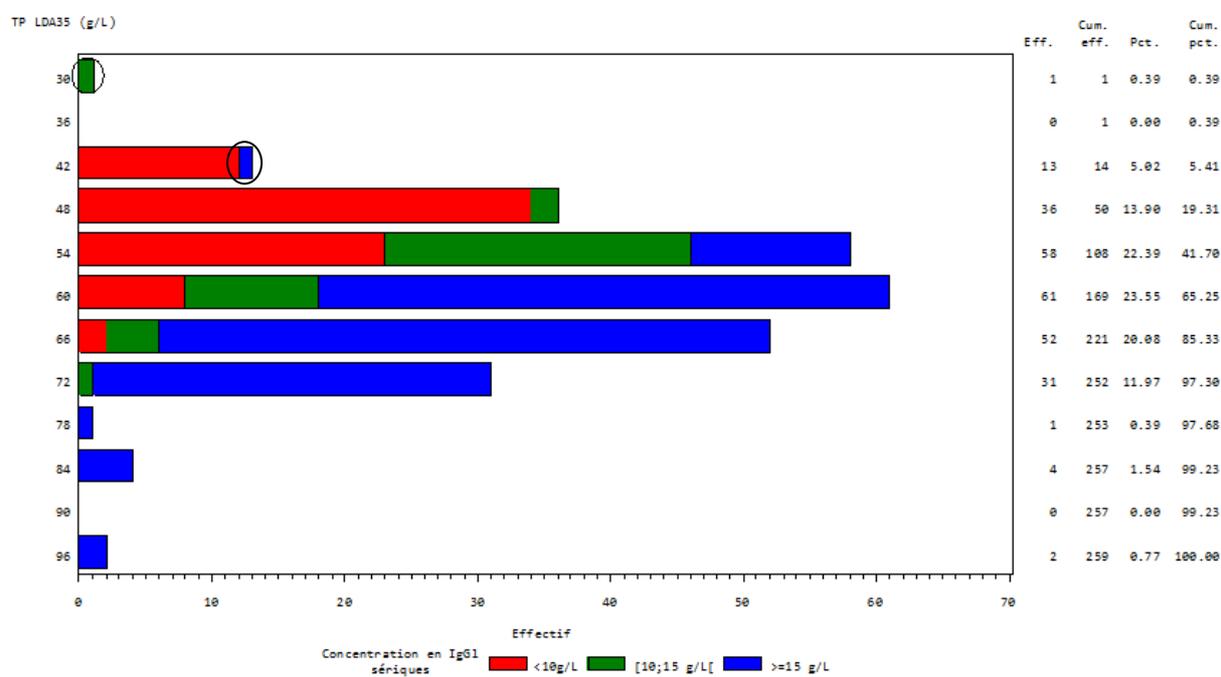


Figure 11 : Répartition des concentrations en protéines sériques totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 (deux points aberrants sont entourés)

Mesurées par les vétérinaires

Une valeur de concentration en protéines sériques totales est manquante (vétérinaire E, cabinet E) (258 mesures, figure 12). La médiane est de 59.0 g/L (1^{er} quartile=53.0 g/L, 3^{eme} quartile=66.0°g/L).

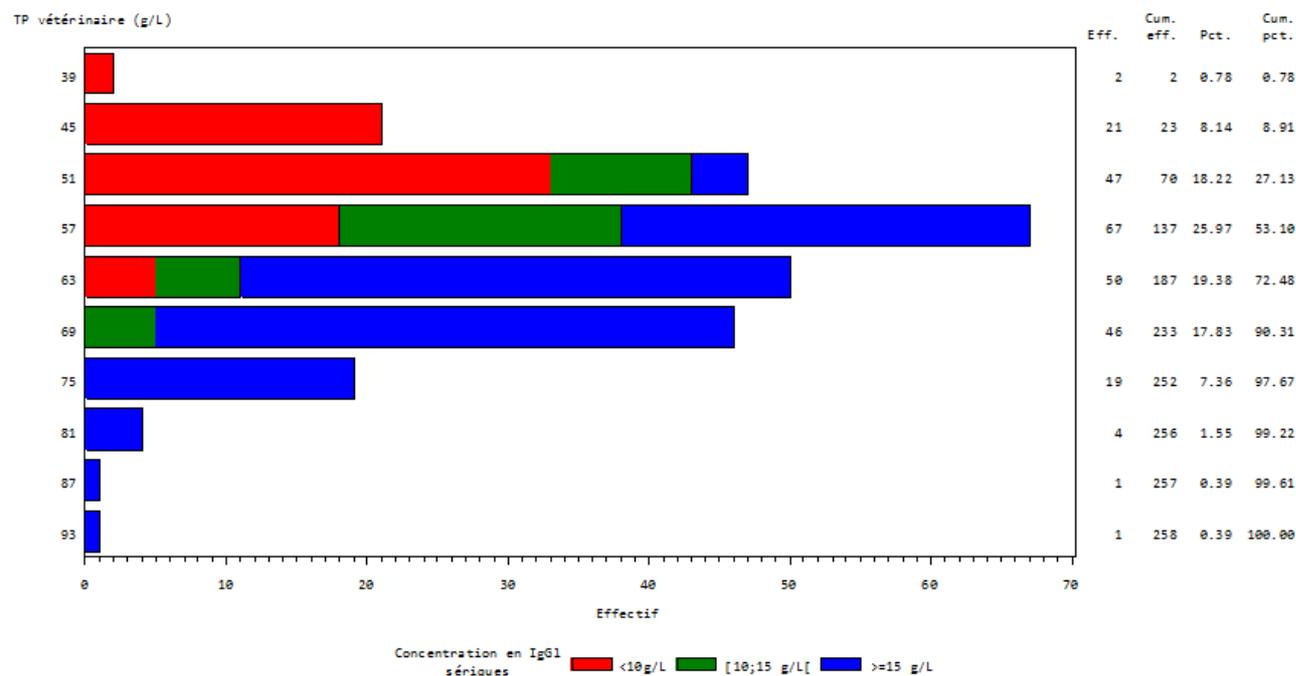


Figure 12 : Répartition des concentrations en protéines sériques totales mesurées par les vétérinaires

2.1.2.4. Résultats du réfractomètre optique

Deux cent cinquante-cinq mesures de réfractomètre optique sont présentées dans la figure 13. La médiane est de 58.0 g/L (1^{er} quartile=50.0 g/L, 3^{eme} quartile=65.0 g/L).

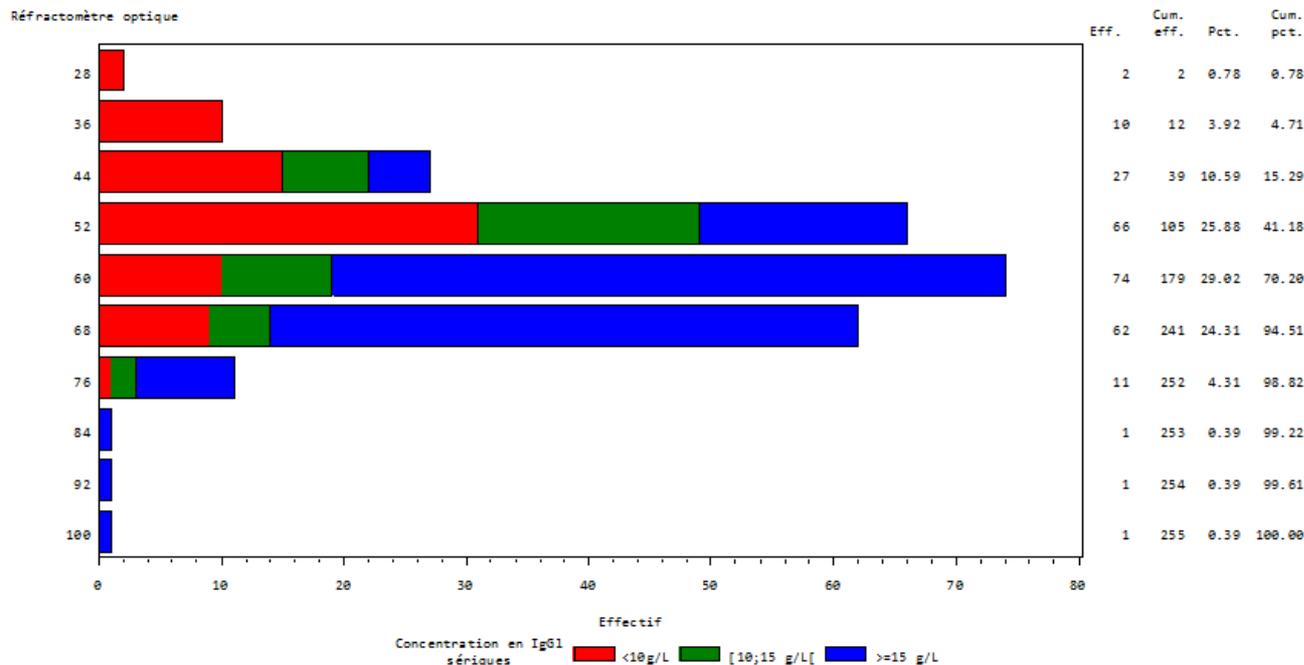


Figure 13 : Répartition des mesures au réfractomètre optique

2.1.2.5. Résultats du réfractomètre numérique

Les mesures de réfractomètre numérique sont au nombre de 208 (51 valeurs manquantes). La médiane est de 8.8 % Brix (1^{er} quartile=8.0% Brix, 3^{eme} quartile=9.6% Brix). La figure 14 rend compte de la répartition des mesures au réfractomètre numérique.

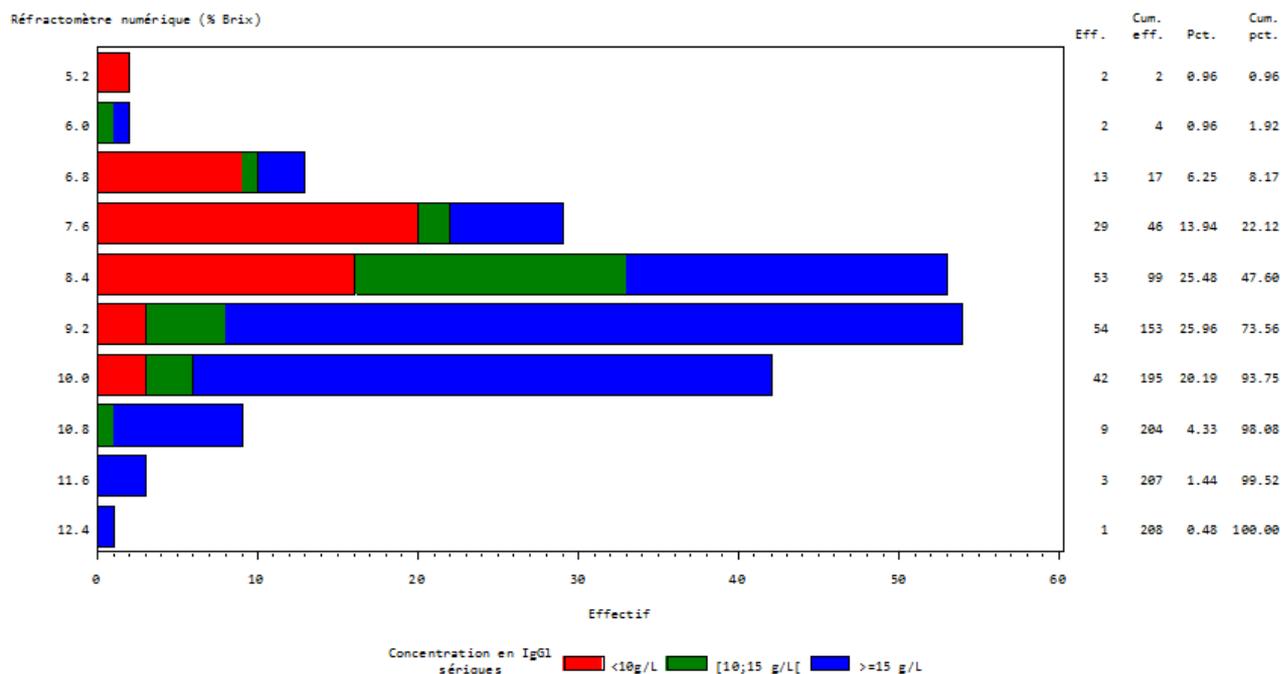


Figure 14 : Répartition des mesures au réfractomètre numérique

2.1.2.6. Concentrations en γ -GT

Il manque 52 mesures de la concentration en γ -GT (207 mesures, figure 15). La valeur maximale limite de l'évaluation des γ -GT par le VetTest étant de 952 g/L, les valeurs inscrites « > 952 » par les vétérinaires ont été fixées à 952 g/L. Seul un vétérinaire a inscrit quatre valeurs « > 1000 » (Cabinet vétérinaire J). Pour les deux valeurs de γ -GT mesuré à « >1200 », la valeur de 1 200 g/L a été fixée. Les deux valeurs à « 1035 » et « 1039 » ont été conservées.

Les mesures des concentrations en γ -GT ont pour médiane 525 g/L (1^{er} quartile=239 g/L, 3^{eme} quartile=952 g/L).

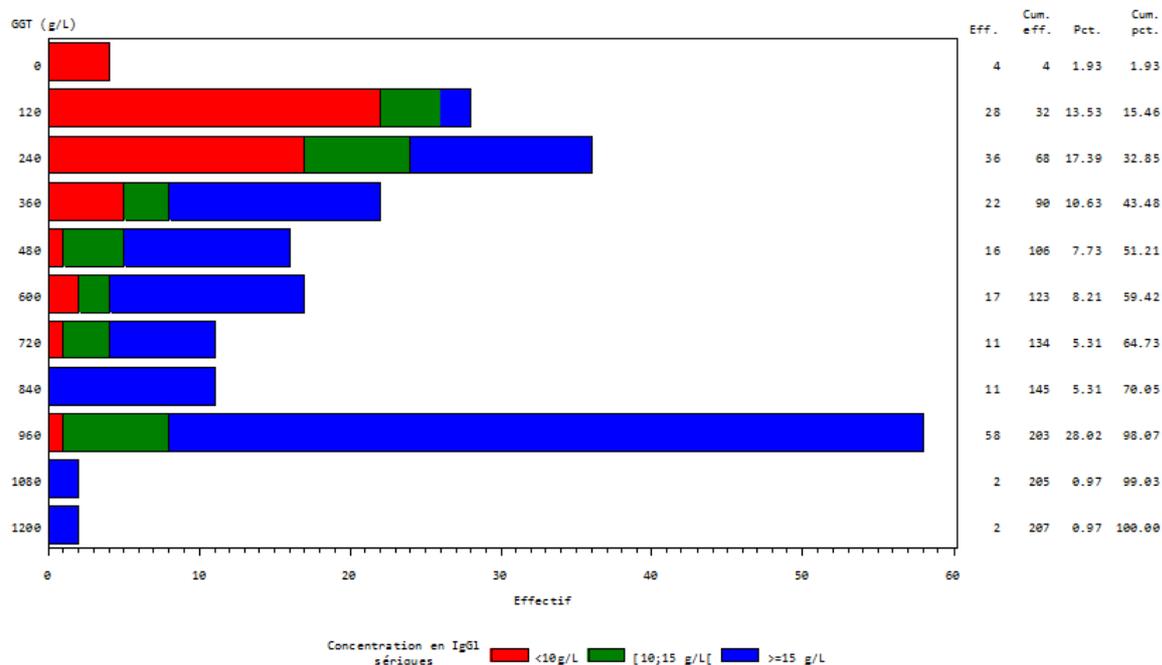


Figure 15 : Répartition des concentrations en γ -GT

2.2. Analyses statistiques des résultats

2.2.1. Etude des paramètres colostraux

2.2.1.1. Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au pèse colostrum

La corrélation entre les mesures au pèse colostrum et les concentrations en IgG1 colostrales mesurées par IDR est fortement significative mais faible ($n=241$, $p<0.001$, $r^2=0.31$) (figure 16). La faible valeur du coefficient de détermination (r^2) est en partie due à l'attribution d'une valeur fixe pour les échantillons au-delà de la limite supérieure de quantification du pèse colostrum (125 g/L).

Un fort effet significatif de la température de mesure ($p<10^{-4}$) est mis en évidence (- 2 g/L pour chaque degré de température supplémentaire).

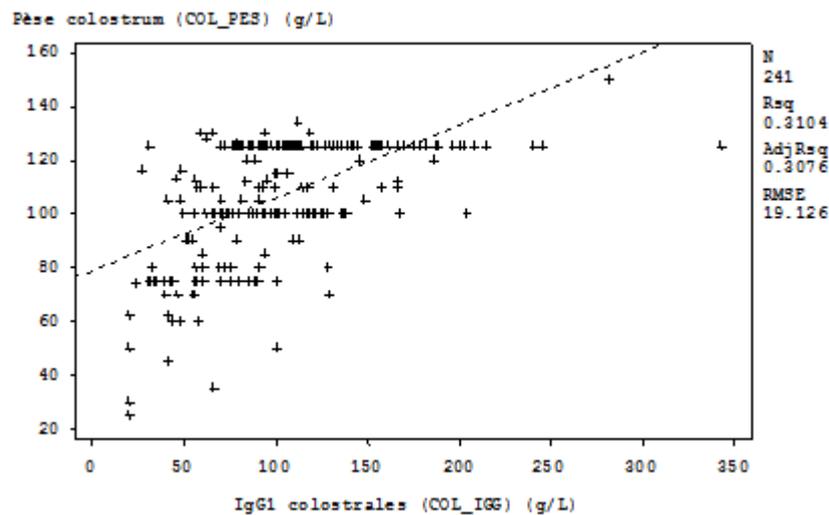


Figure 16 : Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au pèse colostrum

2.2.1.2. Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au colotest

La corrélation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au colotest est fortement significative mais modérée ($n=240$, $p<0.001$, $r^2=0.42$) (figure 17). De même que précédemment, la valeur du coefficient de détermination (r^2) est en partie affectée par l'attribution d'une valeur fixe (110 g/L) pour les échantillons au-delà de la limite supérieure de quantification du colotest.

Un fort effet significatif de la température de mesure ($p<10^{-4}$) est mis en évidence (-1.8 g/L pour chaque degré de température supplémentaire).

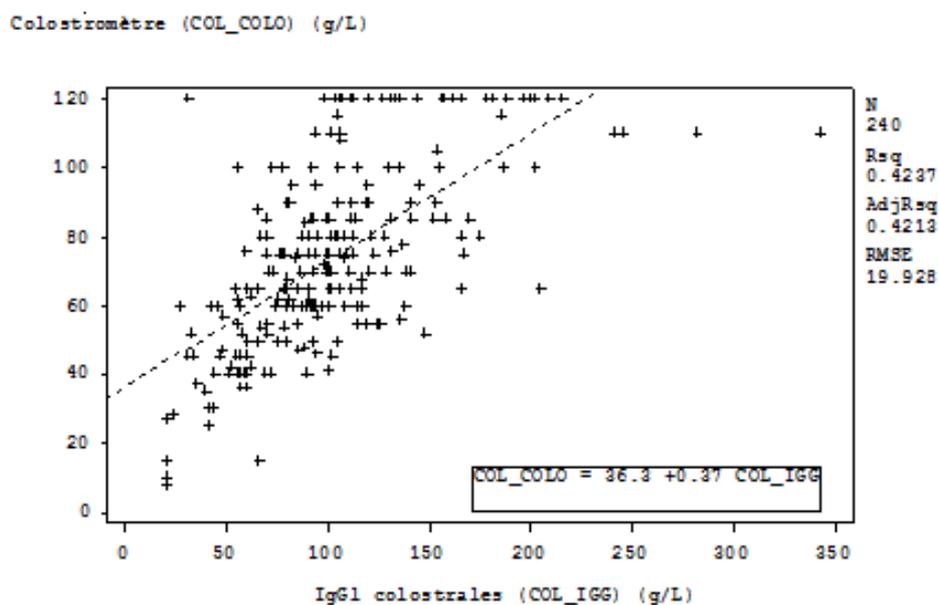


Figure 17 : Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et la mesure au colotest

2.2.1.3. Relation entre les concentrations en IgG1 colostrales et les mesures au réfractomètre numérique

La corrélation entre la concentration en IgG1 colostrales et les mesures au réfractomètre numérique est fortement significative mais faible (n=205, p<0.001, r²=0.31, figure 18).

Un effet significatif de la température de mesure (p=0.017) est mis en évidence (-0.25 % Brix pour chaque degré de température supplémentaire).

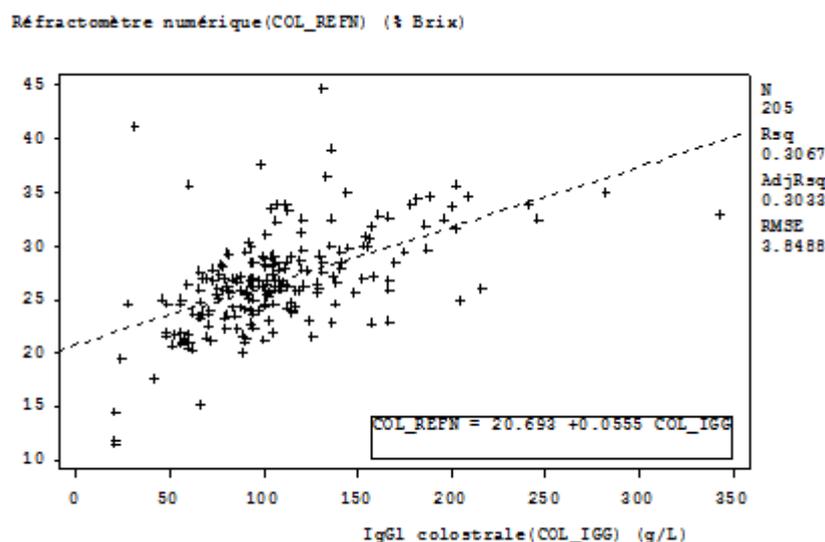


Figure 18 : Relation entre la concentration en IgG1 colostrales et les mesures au réfractomètre numérique

2.2.1.4. Relation entre les niveaux de concentration en IgG1 colostrales et les indicateurs indirects

Pour l'ensemble des indicateurs indirects, les valeurs moyennes obtenues sont significativement différentes pour les trois classes de concentrations en IgG1 colostrales (tableau 23). Les colostrums les plus concentrés en IgG1 (>100 g/L) ont en moyenne des valeurs au pèse colostrum, au colotest et au réfractomètre numérique significativement plus élevées que les colostrums de classes de concentrations plus faibles (< 50 g/L et compris entre 50 et 100 g/L). Les larges écart-type indiquent cependant que les distributions se recouvrent.

Tableau 23 : Indicateurs indirects colostraux en fonction du niveau de concentration en IgG1 colostrales

Indicateurs indirects colostraux (moyenne ± écart type)	Classes de concentrations en IgG1 colostrales (251)		
	<50 g/L (29)	[50-100 g/L] (105)	>100 g/L (117)
Pèse colostrum (g/L) <i>Effectif (241)</i>	74.34 ± 26.3 a 29	106.2 ± 27.7 b 103	119.8 ± 18.3 c 109
Colotest (g/L) <i>Effectif (240)</i>	40.7 ± 23.0 a 24	65.0 ± 18.7 b 103	88.7 ± 22.6 c 113
Réfractomètre numérique (% Brix) <i>Effectif (205)</i>	21.1 ± 8.22 a 11	24.9 ± 3.4 b 88	28.6 ± 4.0 c 106

Pour chaque outil, les moyennes ne partageant pas les mêmes lettres sont significativement différentes au seuil de 0.5% (test de Student et test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs sont notés en italique.

2.2.1.5. Corrélations entre les indicateurs indirects colostraux

Le tableau 24 présente l'ensemble des corrélations de Pearson entre les mesures réalisées par IDR et les différents outils indirects. La corrélation la plus forte est obtenue pour le colotest (réfractomètre optique, $r=0.65$) et que la plus faible pour le pèse colostrum ($r=0.45$).

Notons par ailleurs que les valeurs obtenues par les outils indirects sont globalement bien corrélées entre-elles, avec une corrélation maximale obtenue entre le réfractomètre numérique Milwaukee MA882 et le colotest des Haras Nationaux ($r=0.89$).

Tableau 24 : Corrélation de Pearson entre les indicateurs indirects colostraux (les effectifs sont précisés en italique)

	IgG1 colostrales	Pèse colostrum	Colotest	Réfractomètre numérique
IgG1 colostrales	<i>251</i>			
Pèse colostrum	0.56 <i>241</i>	<i>241</i>		
Colotest	0.65 <i>240</i>	0.70 <i>240</i>	<i>240</i>	
Réfractomètre numérique	0.56 <i>205</i>	0.64 <i>193</i>	0.89 <i>203</i>	<i>205</i>

Toutes les corrélations sont significatives au seuil de 0.0001. Les effectifs sont notés en italique.

2.2.2. Etude des paramètres sanguins

2.2.2.1. Relation entre les concentrations sériques en IgG1 et en protéines totales

Mesurées par le laboratoire ISAE 35

Les mesures des concentrations en protéines sériques totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 (figure 19) sont bien corrélées ($n=259$, $p<0.001$, $r^2=0.62$) aux concentrations en IgG1 sériques mesurées par IDR.

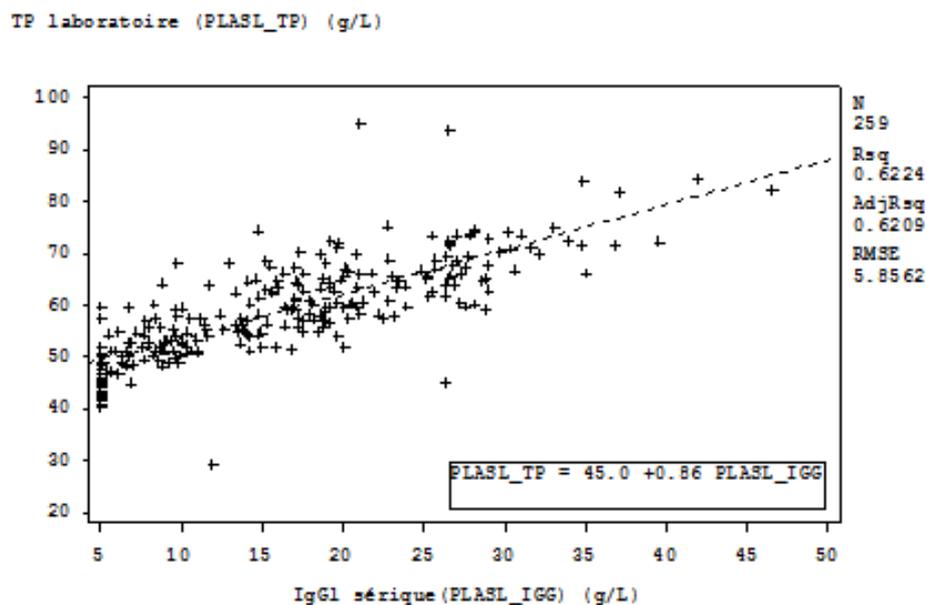


Figure 19 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en protéines totales sériques mesurées par le laboratoire ISAE 35

Mesurées par les vétérinaires

La figure 20 présente la régression linéaire entre les concentrations sériques en protéines totales et en IgG1. La corrélation est forte, positive (n=258, r²=0.68) et fortement significative (P<0.001).

Un effet significatif de la température de mesure (p=0.014) est mis en évidence (+0.51 g/L pour chaque degré de température supplémentaire vu avec excel).

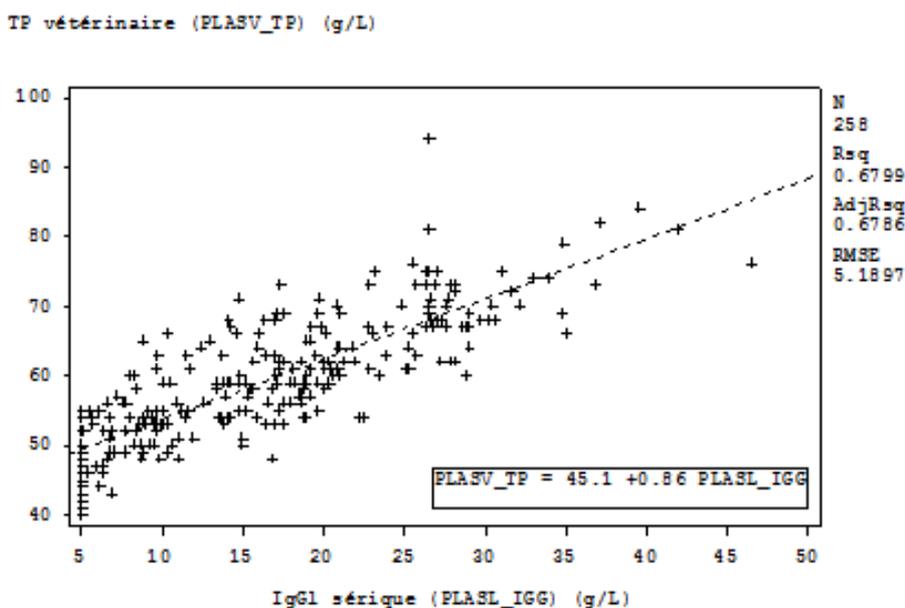


Figure 20 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en protéines totales mesurées par les vétérinaires (VetTest)

2.2.2.2. Relation entre les concentrations sériques en IgG1 et les mesures au réfractomètre optique

La corrélation est fortement significative, positive mais moyenne (n=255, p<0.001, r²=0.41) entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre optique (figure 21).

Un effet significatif de la température de mesure (p=0.002) est mis en évidence (+0.83 g/L pour chaque degré supplémentaire).

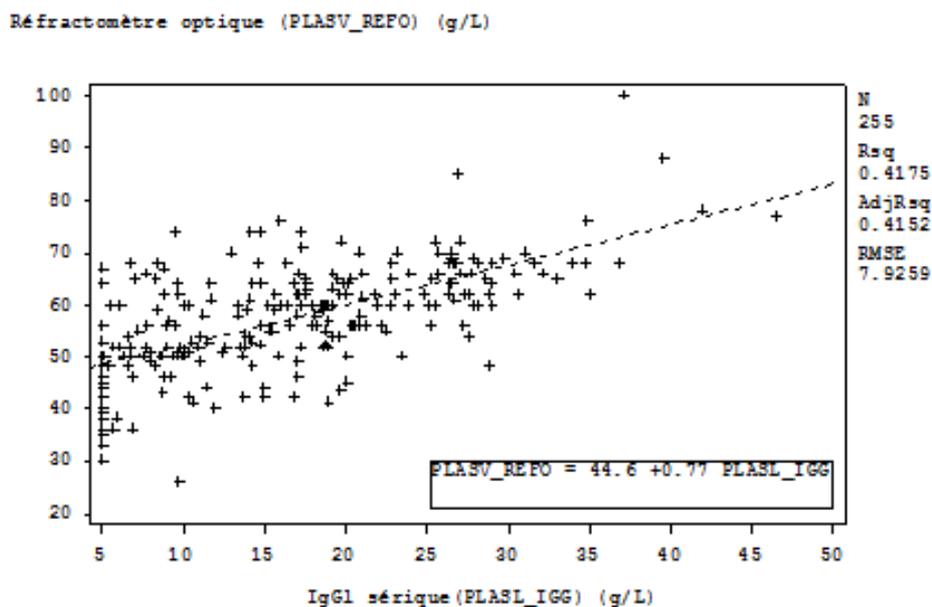


Figure 21 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre optique

2.2.2.3. Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre numérique

La figure 22 présente les relations entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre numérique Milwaukee MA882. En effet, les mesures sont modérément mais significativement et positivement corrélées ($n=208$, $p<0.001$, $r^2=0.43$).

Un effet significatif de la température de mesure ($p=0.001$) est mis en évidence (+0.12 g/L pour chaque degré de température supplémentaire).

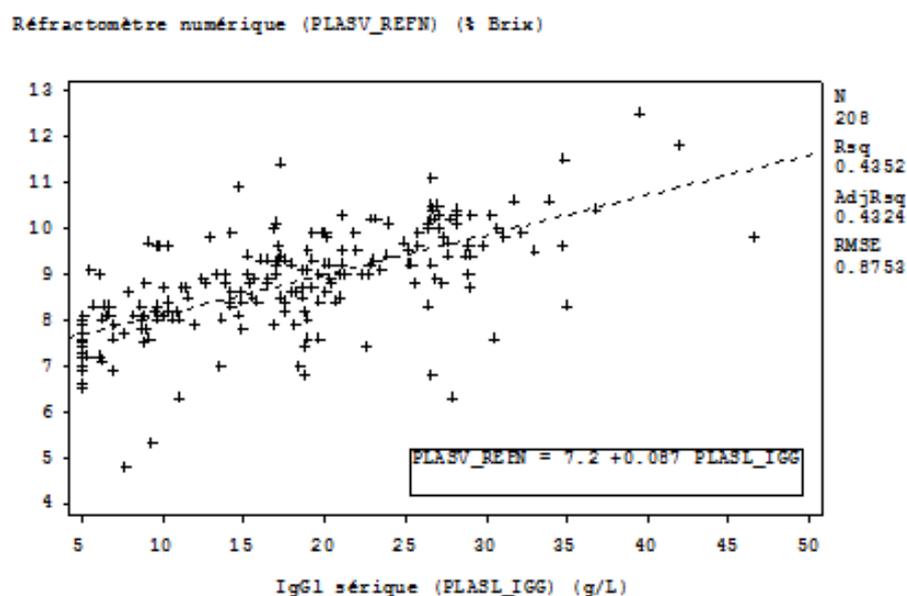


Figure 22 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et les mesures au réfractomètre numérique Milwaukee MA882.

2.2.2.4. Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et en γ -GT

La figure 23 présente une corrélation fortement significative et positive mais modérée ($n=207$, $p<0.001$, $r^2=0.43$) entre les concentrations en IgG1 sériques et en γ -GT. Cette relation est rendue artificielle en raison des limites supérieures de quantification de certains instruments de mesure fixées à 1200 et 952 g/L.

Il n'y a pas d'effet significatif de la température ($p=0.74$).

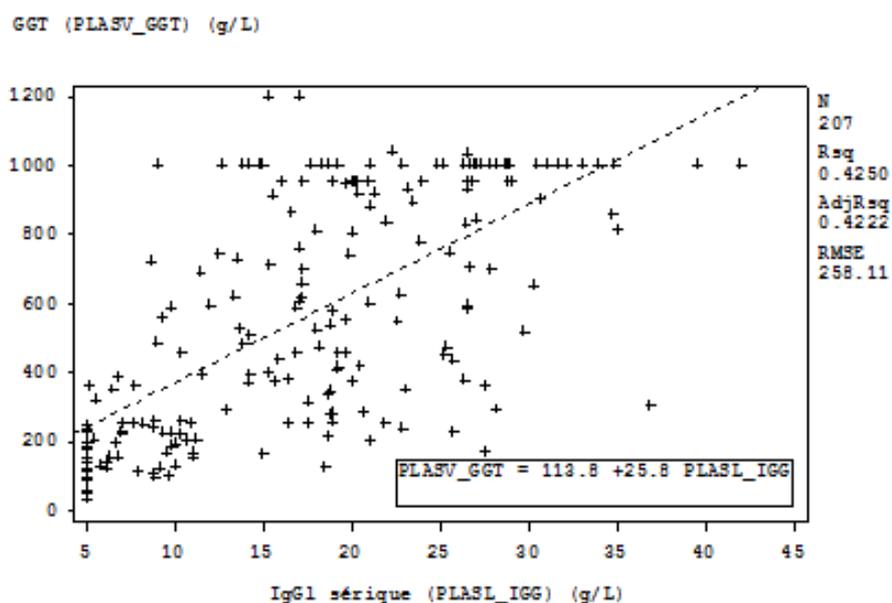


Figure 23 : Relation entre les concentrations en IgG1 sériques et l'activité γ -GT mesurée par les vétérinaires (VetTest)

2.2.2.5. Relation entre les niveaux de concentration en IgG1 sériques et les indicateurs indirects sanguins

Pour l'ensemble des indicateurs indirects, les valeurs moyennes obtenues sont significativement différentes pour les trois niveaux de concentrations en IgG1 sériques (tableau 25). Globalement les veaux ayant les concentrations en IgG1 sériques les plus élevées sont aussi ceux qui en moyenne ont les valeurs les plus élevées obtenues à l'aide des outils indirects (Protéines totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 ou les vétérinaires, ou évaluées par réfractométrie optique ou numérique et γ -GT)

Tableau 25 : Les indicateurs indirects sanguins en fonction des niveaux de concentrations en IgG1 sériques

Indicateurs indirects sanguins (moyenne \pm écart type)	Niveaux de concentrations en IgG1 sériques (259)		
	<10 g/L	[10-15 g/L]	>15 g/L
	79	41	139
Protéines totales sérique du laboratoire (g/L)	50,3 \pm 5,4 ^a	55,9 \pm 6,6 ^b	65,1 \pm 7,5 ^c
<i>Effectif (259)</i>	79	41	139
Protéines totales sérique du vétérinaire (g/L)	50,5 \pm 5,6 ^a	57,3 \pm 5,6 ^b	65,0 \pm 7,3 ^c
<i>Effectif (258)</i>	79	41	138
Réfractomètre optique (g/L)	50,0 \pm 9,6 ^a	54,6 \pm 8,6 ^b	62,3 \pm 8,3 ^c
<i>Effectif (255)</i>	78	41	136
Réfractomètre numérique (% Brix)	7,7 \pm 0,9 ^a	8,5 \pm 0,8 ^b	9,3 \pm 1,0 ^c
<i>Effectif (208)</i>	53	30	125
Concentration en γ -GT	224,1 \pm 176,8 ^a	525,3 \pm 317,7 ^b	719,46 \pm 285,7 ^c
<i>Effectif (207)</i>	53	30	124

Pour chaque paramètre, les moyennes ne partageant pas les mêmes lettres sont significativement différentes au seuil de 0.006 (test de student et test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs sont notés en italique.

2.2.2.6. Corrélations entre les indicateurs sanguins indirects

Le tableau 26 présente l'ensemble des corrélations de Pearson entre les différents indicateurs sanguins indirects du TIP et la concentration en IgG1 évaluée par IDR. La plus forte corrélation pour les paramètres sériques est observée pour la mesure des protéines totales par le VetTest au cabinet vétérinaire ($r=0.82$) et la plus faible pour la mesure des protéines totales au réfractomètre optique et la mesure de l'activité des γ -GT ($r=0.65$). Notons par ailleurs que les valeurs mesurées par les outils indirects sont globalement bien corrélées ($r > 0.5$).

Tableau 26 : Coefficient de corrélation de Pearson entre les indicateurs sanguins indirects

	IgG1 sériques	Protéine laboratoire	Protéine vétérinaire	Réfractomètre optique	Réfractomètre numérique	γ- GT
IgG1 sériques	259					
Protéine laboratoire	0.79 259	259				
Protéine vétérinaire	0.82 258	0.83 258	258			
Réfractomètre optique	0.65 255	0.70 255	0.75 255	255		
Réfractomètre numérique	0.66 208	0.66 208	0.72 208	0.70 206	208	
γ- GT	0.66 207	0.58 207	0.62 207	0.53 205	0.55 207	207

Tous les tests présentent des p value inférieure à 0.001. Les effectifs sont notés en italique.

2.2.3. Effet vétérinaire

Compte tenu de l'absence potentielle d'étalonnage avant et durant les manipulations dans les cliniques vétérinaires participant à l'étude, nous avons comparés les résultats des mesures de protéines totales réalisées par les vétérinaires et par le laboratoire ISAE 35 (qui a utilisé la même machine, régulièrement étalonnée). La figure 24 représente les taux protéique obtenus par les vétérinaires et par le laboratoire ISAE 35.

La différence moyenne entre les mesures des concentrations sériques en protéines totales réalisées par le laboratoire ISAE 35 et les vétérinaires (figure 25) est de -0.2 ± 5.5 g/L (min=-30.1 g/L, max=25.9 g/L). La médiane est de -0.5 g/L (1^{er} quartile=-2.2 g/L, 3eme quartile=1.9 g/L).

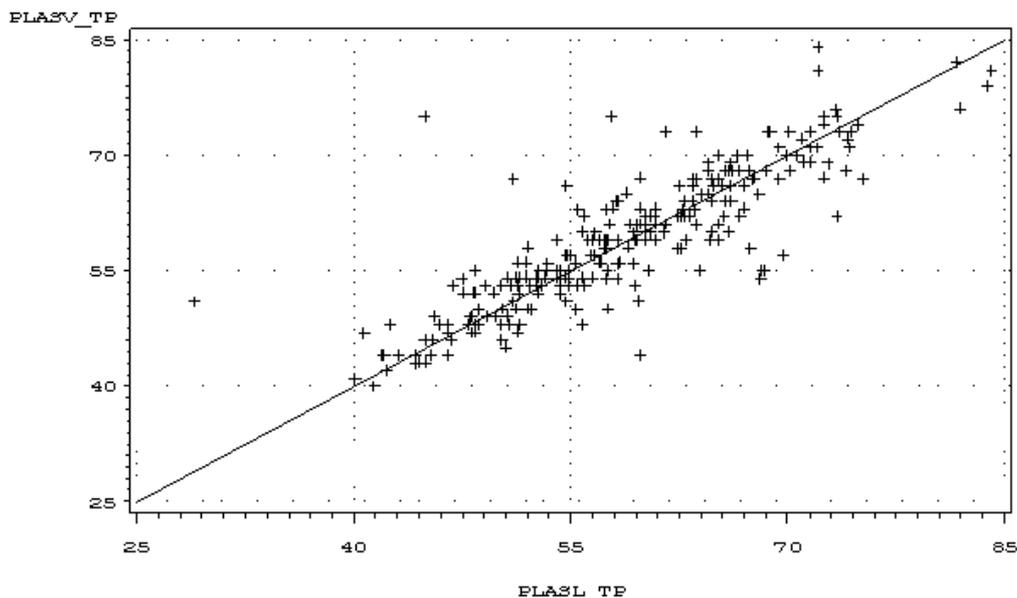


Figure 24 : Concentrations sériques en protéines totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 et par les vétérinaires

Pourcentages

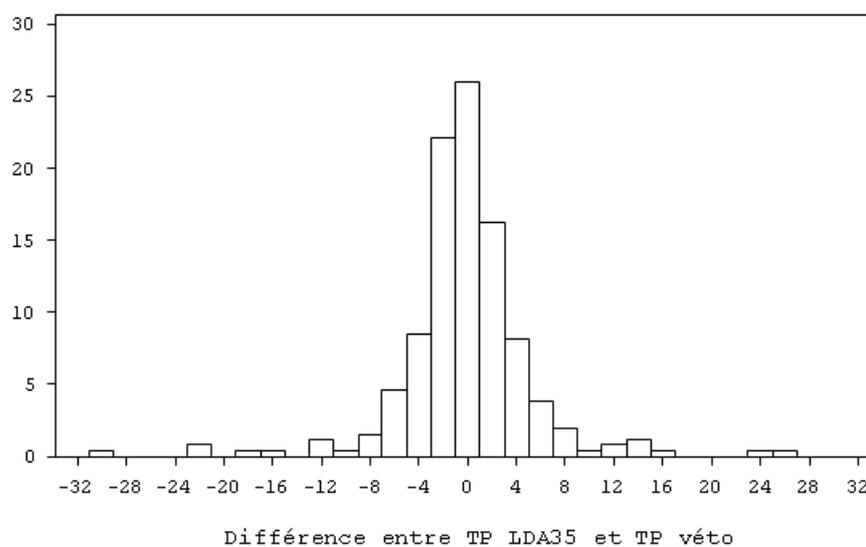


Figure 25 : Répartition des différences entre les concentrations sériques en protéines totales mesurées par le laboratoire ISAE 35 et par les vétérinaires

On peut donc étudier un probable effet vétérinaire sur les mesures (par exemple dû à un mauvais étalonnage de l'instrument de mesure, d'une mauvaise utilisation...). Nous avons limité l'analyse aux vétérinaires qui ont réalisé plus de cinq mesures afin de pouvoir calculer un indice de précision pour chacun d'entre eux (exclusions des vétérinaires A, M et O).

Dans le cas de mesures exactes réalisées par le vétérinaire (absence de biais systématique, sans tenir compte de la précision) la différence entre les mesures obtenues par les vétérinaires et celles obtenues par le laboratoire ISAE 35 sur les mêmes échantillons ne doit pas être, en moyenne significativement différente de 0 (au seuil alpha de 5%). Nous avons donc réalisé, pour chaque vétérinaire, une comparaison de moyenne pour données appariées à l'aide du test de Mann-Whitney-Wilcoxon (test des rangs, tableau 27). Un seuil de significativité de 5% a été retenu. Des probabilités critiques (« p-value » notée « p ») inférieures à 0.05 ont donc permis de caractériser les mesures comme « inexactes », car significativement (en excès ou en défaut) différentes de celles obtenues par le laboratoire ISAE 35, considérées comme le test de référence car moins soumises aux biais de mesure.

Par ailleurs, la « précision » a été définie pour chaque échantillon comme l'écart entre la valeur de taux protéique obtenue par les vétérinaires et celle obtenue par le laboratoire ISAE 35 (tableau 28).

Cet indicateur de précision pénalise les vétérinaires qui ont réalisé un plus grand nombre de mesures car la probabilité d'avoir une valeur éloignée de la valeur réelle augmente avec le

nombre de mesures. Pour y remédier, un autre calcul revient à faire la moyenne des différences entre les mesures du laboratoire ISAE 35 et du vétérinaire :

$$\frac{\sum |TP(LDA 35) - TP(Véto)|}{Nombre(TP(véto))}$$

Au bilan, certains vétérinaires évaluent de manière précise et exacte la concentration sérique en protéines totales (vétérinaires F, G, I), d'autres semblent avoir fait une erreur de mesure systématique (mesures inexactes) (vétérinaires E, J, L) et enfin certains ont obtenus des valeurs très éloignées des celle obtenues au laboratoire ISAE 35 (vétérinaires K et N) (imprécision).

Tableau 27 : Différence entre les valeurs en protéines sériques mesurées au laboratoire ISAE 35 et celle obtenue par les vétérinaires

Vétérinaire	moyenne	Nombre de mesures	Différence maximale	Différence médiane	Différence minimale	p-value*
B	1.0364	11	8.7	0.50	-7.2	0.27539
C	-0.7471	34	4.8	-1.20	-3.3	0.00415
D	-0.7404	52	11.4	-0.75	-11.4	0.01342
E	-4.6600	26	1.3	-3.90	-17.2	0.00000
F	0.4700	10	5.4	0.30	-2.1	0.55664
G	-0.6900	10	4.4	-1.70	-3.5	0.37500
H	1.5190	21	5.9	1.40	-2.1	0.00533
I	-1.8100	10	0.1	-1.95	-4.4	0.00391
J	10.2667	6	24.5	7.65	4.2	0.03125
K	0.2929	14	14.1	1.35	-22.0	0.11475
L	-2.7600	10	4.3	-3.40	-6.5	0.04688
N	1.0359	39	25.9	2.30	-30.1	0.11102
P	0.5600	10	7.6	0.5	-4.7	0.1847

(*) test de Mann-Witney-Wilcoxon pour données appariées

Tableau 28 : Précision et exactitude des vétérinaires

	Mesures exactes	Mesures inexactes
Mesures précises	I [10] (Très précis, 4.5) F [10] (7.6) G [10] (7.9)	H [21] (8) C [34] (8.1)
Mesures imprécises	P [10] (12.3) B [11] (15.9)	L [10] (10) → Presque exact, problème d'étalonnage, plutôt sous-estimation E [26] (18) → problème d'étalonnage, sous-estimation D [52] (22) J [6] (24) → problème d'étalonnage, sur-estimation K [14] (36) N [39] (55)

Les valeurs entre crochets représentent les effectifs pour chaque vétérinaire. Les valeurs entre parenthèses représentent l'écart entre la différence minimale et maximale entre la mesure du taux protéique par les appareils VetTest des vétérinaires et celle réalisé par le laboratoire ISAE 35.

2.2.4. Performances des outils indirects

Plusieurs indices peuvent être utilisés pour définir les seuils de décisions qui maximisent les performances des outils diagnostiques.

L'indice de Youden ($=Se+Sp-1$) ne dépend que des performances du test. L'efficacité de classement ($[Vrais\ Positifs + Vrais\ Négatifs] / Total$) dépend des performances du test mais aussi de la prévalence, il varie selon l'échantillon d'étude.

De ce fait le meilleur des seuils de discrimination n'est pas toujours le même entre ces deux indices globaux de performances.

2.2.4.1. Détection des défauts de TIP

2.2.4.1.1. Seuil de décision à 10 g/L IgG1

Les paramètres intrinsèques (sensibilité, spécificité et leurs intervalles de confiance, IC95%) des outils indirects d'évaluation de la qualité du TIP maximisant l'indice de Youden et l'efficacité de classement pour un seuil de concentration en IgG1 mesuré par immunodiffusion radiale de 10 g/L sont présentés dans le tableau 29 et la figure 26.

Les sensibilités et spécificités des différents outils sont respectivement comprises entre 60.2% et 91.1%, et entre 81.9% et 92.2%. L'outil présentant l'indice de Youden et l'efficacité de

classement maximum (0.70 et 87.9) est la mesure des γ -GT, mais les intervalles de confiance de la sensibilité et de la spécificité sont plus grands que ceux de la mesure du TP(labo) par exemple. Pour les γ -GT, un seul seuil de décision maximise l'indice de Youden et l'efficacité de classement.

Tableau 29 : Sensibilité (%) et spécificité (%) des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 10 g/L)

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
TP(labo) g/L (n=259)	53	77.2	66.4 – 85.9	91.7	86.6 – 95.3	0.69	87.3
	56	87.3	77.9 – 93.8	82.8	76.4 – 88.0	0.70	84.2
TP(veto) g/L (n=258)	54	70.9	60.0 – 80.6	92.2	87.2 – 95.6	0.63	85.7
	57	91.1	82.6 – 96.4	79.3	72.6 – 85.0	0.70	82.9
Réfrac. optique (g/L) (n=255)	51	60.2	48.5 – 71.2	88.1	82.4 – 92.5	0.48	79.6
	52	70.5	59.1 – 80.3	82.5	76.1 – 87.7	0.53	78.8
Réfrac. numérique (% Brix) (n=208)	8.2	75.5	61.7 – 86.2	86.4	80.0 – 91.4	0.62	83.6
	8.4	86.8	74.7 – 94.5	81.9	75.0 – 87.6	0.69	83.2
γ -GT (UI/L) (n=207)	254	79.2	65.9 – 89.1	90.9	85.2 – 94.9	0.70	87.9

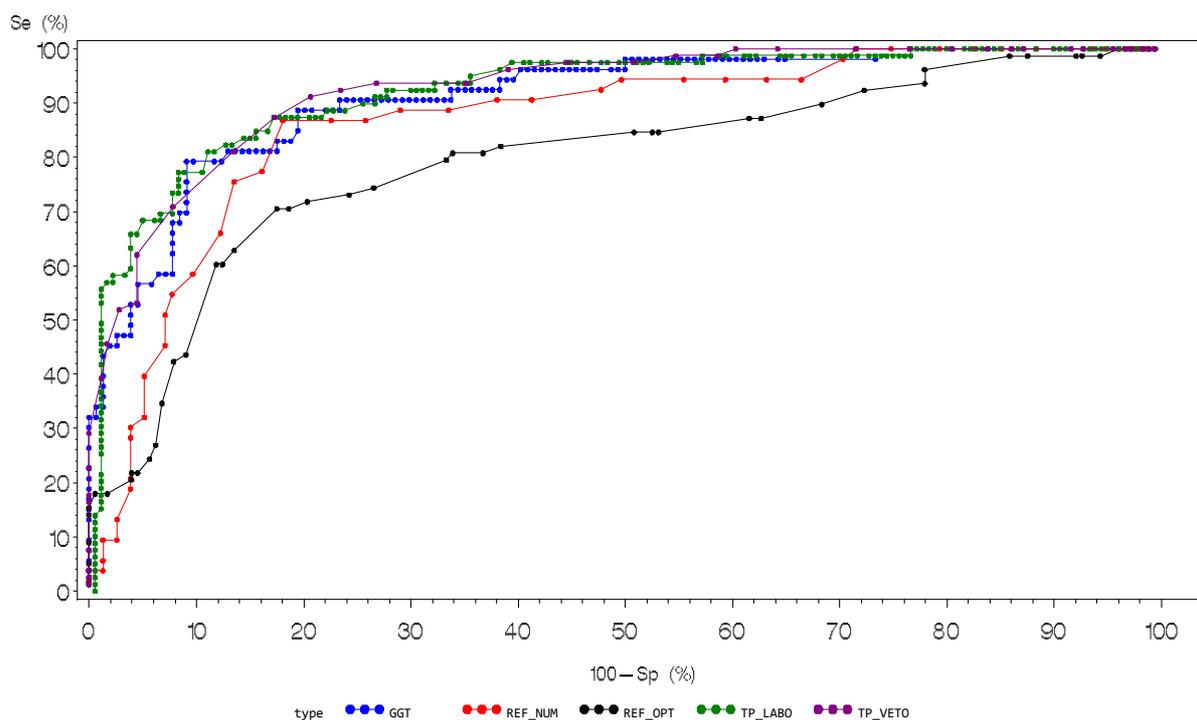


Figure 26 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects d'un défaut de TIP (seuil IgG1 <10 g/L)

2.2.4.1.2. Seuil de décision à 10 g/L IgG1, en excluant les échantillons compris entre 9 et 11 g/L IgG1

Compte tenu de la précision (CV intra-essai 8.2 à 8.5% pour 5 à 15 g/L), le vrai statut vis-à-vis du transfert de l'immunité passive au seuil de 10 g/L n'est pas connu avec certitude pour les veaux dont la concentration sérique en IgG1 était comprise entre environ 9 et 11 g/L

De ce fait l'analyse a été reproduite en excluant 24 échantillons dont la concentration en IgG1 était comprise en 9 et 11 g/L (tableau 30 et figure 27).

Tableau 30 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 10 g/L) en excluant les échantillons compris entre 9 et 11 g/L IgG1

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
TP(labo) g/L (n=235)	54	80.3	68.7 – 89.1	95.3	90.9 – 97.9	0.76	91.1
	55	84.8	73.9 – 92.5	91.7	86.5 – 95.4	0.77	89.8
TP(veto) g/L (n=234)	53	68.1	55.6 – 79.1	97.6	94 – 99.3	0.66	89.3
	57	92.4	83.2 – 97.5	82.7	76.2 – 88.1	0.75	85.5
Réfrac. optique (g/L) (n=231)	52	66.1	53.3 – 77.4	89.2	83.4 – 93.4	0.55	82.7
	53	72.3	59.8 – 85.5	85.5	79.3 – 90.5	0.58	81.8
Réfrac. numérique (% Brix) (n=190)	8.2	81.8	67.3 – 91.8	88.4	82.0 – 93.1	0.70	86.8
	8.4	90.9	78.3 – 97.5	84.9	78.1 – 90.3	0.76	86.3
γ -GT (UI/L) (n=189)	254	81.9	67.1 – 91.9	94.5	89.4 – 97.6	0.76	91.5
	362	93.2	81.3 – 98.6	84.9	77.9 – 90.2	0.78	86.8

Les seuils de décision demeurent très proches des précédents. Les performances intrinsèques sont globalement améliorées de l'ordre de 2 à 9 points. L'indice de Youden est amélioré de plus de 0.05 points tandis que l'efficacité de classement est de 3 points environ. Les valeurs maximales d'indice de Youden et d'efficacité de classement sont encore obtenues avec la mesure des γ -GT et sont de 0.78 et 91.5. Pourtant, les deux seuils de décision les maximisant pour la mesure des γ -GT semblent très différents.

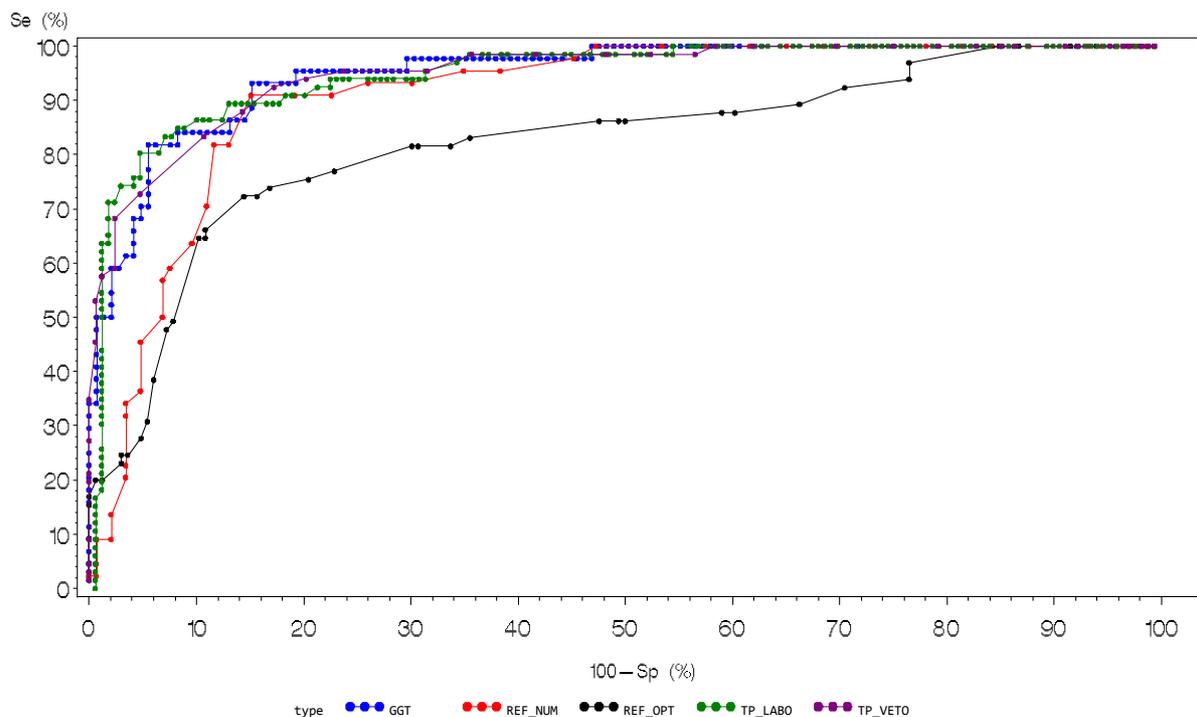


Figure 27 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects d'un défaut de TIP (seuil IgG1 <10 g /L, 24 échantillons compris en 9 et 11 g/L IgG1 exclus)

2.2.4.1.3. Seuil de décision à 15 g/L IgG1

De même que précédemment, pour un seuil de concentration en IgG1 mesuré par immunodiffusion radiale de 15 g/L, le tableau 31 présente les paramètres intrinsèques (sensibilité, spécificité et leurs intervalles de confiance, IC95%) des outils indirects d'évaluation de la qualité du TIP maximisant l'indice de Youden et l'efficacité de classement.

Les sensibilités et spécificités des différents outils sont respectivement comprises entre 60.2% et 86.7%, et entre 85.6% et 91.9%. L'outil présentant l'indice de Youden et l'efficacité de classement maximum (0.72 et 86.1) est la mesure du TP(labo). Un seul seuil de décision maximise l'indice de Youden et l'efficacité de classement pour la mesure du TP(labo), TP(véto) est le réfractomètre optique (tableau 31).

Les valeurs d'efficacité de classement sont globalement inférieures pour un seuil de 15 g/L que pour un seuil de 10 g/L alors que pour l'indice de Youden, tout dépend de l'outil indirect utilisé (Indice de Youden maximum au seuil de 15 g/L pour TP(labo), TP(véto) et pour le réfractomètre optique, mais pour le réfractomètre numérique et les γ -GT, indice de Youden maximum au seuil de 10 g/L).

Tableau 31 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 15 g/L)

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
TP(labo) g/L (n=259)	58	86.7	79.2 – 92.2	85.6	78.6 – 91.0	0.72	86.1
TP(veto) g/L (n=258)	57	77.5	69.0 – 84.6	88.4	81.8 – 93.2	0.66	83.3
Réfrac. optique (g/L) (n=255)	55	68.9	59.8 – 77.1	86.8	79.9 – 92.0	0.56	78.4
Réfrac. numérique (% Brix) (n=208)	8.4	69.9	58.8 – 79.5	87.2	80.0 – 92.5	0.57	80.3
	8.5	73.5	62.7 – 82.6	84.0	76.4 – 89.9	0.57	79.8
γ -GT (UI/L) (n=207)	254	60.2	48.9 – 70.8	95.2	89.8 – 98.2	0.55	81.2
	280	63.8	52.6 – 74.1	91.9	85.7 – 96.1	0.56	80.7

2.2.4.1.4. Seuil de décision à 15 g/L IgG1, en excluant les échantillons compris en 14 et 16 g/L

Compte tenu de la précision (CV intra-essai 4.8% pour 15 à 20 g/L), le vrai statut vis-à-vis du transfert de l'immunité passive au seuil de 15 g/L n'est pas connu avec certitude pour les veaux dont la concentration sérique en IgG1 était comprise entre environ 14 et 16 g/L.

De ce fait l'analyse a été reproduite en excluant 22 échantillons dont la concentration en IgG1 était comprise en 14 et 16 g/L (tableau 32).

Les seuils de décision demeurent très proches des précédents. Les performances sont globalement améliorées de l'ordre de 0 à 6 points. Les indices de Youden sont globalement améliorés de 0.05 points tandis que les efficacités de classement sont améliorées de l'ordre de 1 à 3 points. En ce qui concerne l'indice de Youden et l'efficacité de classement, les valeurs maximales sont obtenues avec la mesure de TP(labo) et sont de 0.77 et 88.5.

Tableau 32 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des veaux à défaut de TIP (seuil de décision de 15 g/L) en excluant les échantillons compris entre 14 et 16 g/L IgG1

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
TP(labo) g/L (n=237)	57	83.2	74.7 – 89.7	93.1	87.3 – 96.7	0.76	88.6
	58	90.6	83.5 - 95.4	86.2	79.0 – 91.6	0.77	88.2
TP(veto) g/L (n=236)	57	82.2	73.7 – 89.0	89.1	82.5 – 93.9	0.71	86.0
Réfrac. optique (g/L) (n=233)	54	68.9	59.1 – 77.5	89.8	83.1 – 94.4	0.59	80.3
Réfrac. numérique (% Brix) (n=192)	8.4	74.3	62.8 – 83.8	86.4	78.9 – 92.0	0.61	81.8
γ -GT (UI/L) (n=191)	254	66.2	54.3 – 76.8	94.9	89.2 – 98.1	0.61	83.8
	280	70.3	58.5 – 80.3	91.4	84.8 – 95.8	0.62	83.2

2.2.4.2. Détection des colostrums de faible concentration en IgG1

2.2.4.2.1. Seuil de décision à 50 g/L IgG1

De même que pour la détections des défauts de TIP, les paramètres intrinsèques (sensibilité, spécificité et leurs intervalles de confiance, IC95%) des outils indirects d'évaluation de la qualité du colostrum maximisant l'indice de Youden et l'efficacité de classement pour un seuil de concentration en IgG1 mesuré par immunodiffusion radiale de 50 g/L sont présentés dans le tableau 33 et la figure 28.

Compte tenu du petit nombre de prélèvement de faible concentration en IgG1 (29 colostrums <50 g/L), l'efficacité était parfois optimale pour des seuils maximisant la spécificité au détriment de la sensibilité. De ce fait ces seuils n'ont pas été retenus car en dehors de toute logique biologique (en italique dans le tableau 33).

Tableau 33 : Sensibilité et spécificité des outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 50 g/L.

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
Pèse colostrum (g/L) (n=241)	75	44.8	26.4-64.3	97.2	94.1-99.0	0.42	91.1
	85	75.9	56.5 – 89.7	88.1	83.1 – 92.1	0.64	86.7
Colotest (g/L) (n=240)	36	41.7	22.1– 63.3	99.5	97.4 – 99.9	0.41	93.7
	62	95.8	78.9 – 99.9	71.8	65.2 – 77.6	0.67	74.2
Réfrac. numérique (% Brix) (n=205)	19.9	45.4	16.7-76.6	99.5	97.2-100	0.45	96.6
	25	90.9	58.7 – 99.8	69.1	62.0 – 75.5	0.60	70.2

Du fait du faible nombre d'échantillons inférieurs à 50 g/L IgG1, les intervalles de confiance de la sensibilité sont très larges.

Les indices de Youden sont globalement faibles (inférieurs à 0.7). Les sensibilités du colotest (seuil 62 g/L) et du réfractomètre numérique (au seuil de 25% Brix) sont excellentes (si l'on fait abstraction des larges intervalles de confiance) mais au détriment d'une spécificité médiocre, proche de 70%. A l'inverse le seuil de 85 g/L optimise les performances du pèse colostrum, mais avec une sensibilité inférieure à la spécificité (respectivement 75.9% et 88.1%).

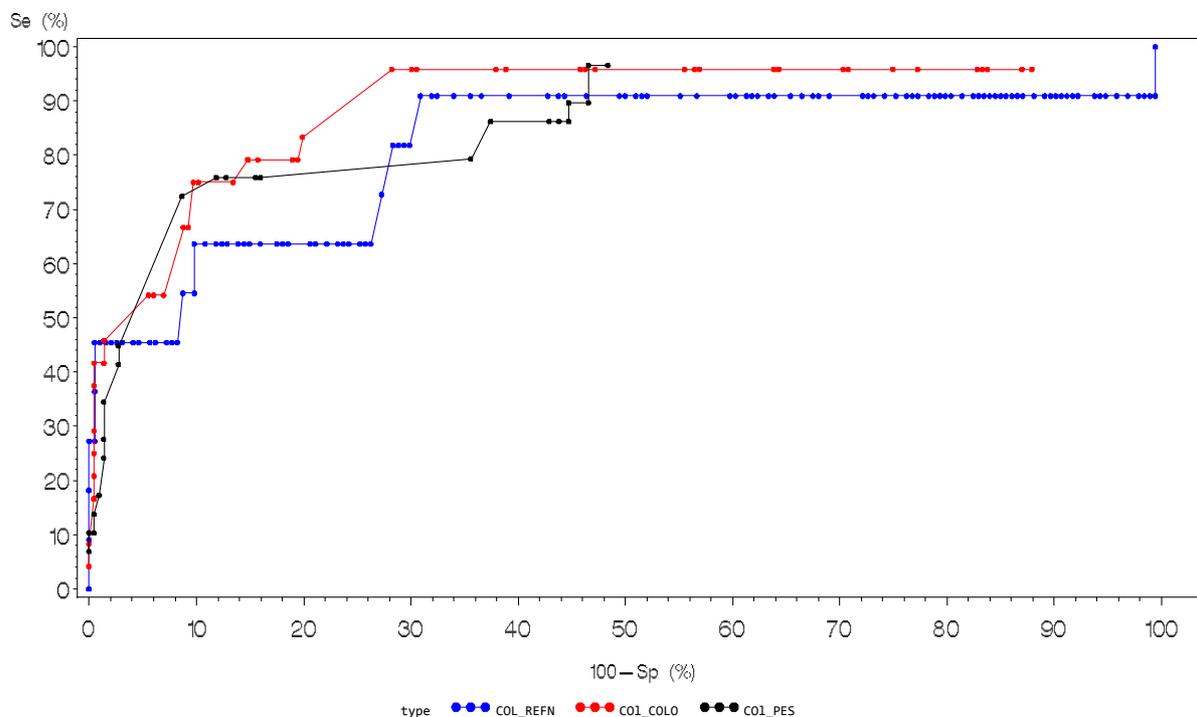


Figure 28 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <50 g/L)

2.2.4.2.2. *Seuil de décision à 50 g/L IgG1, en excluant les échantillons compris entre 45 et 55 g/L*

Compte tenu de l'incertitude de mesure (environ 12% pour des échantillons compris entre 40 et 50 g/L) la même approche que précédemment a été appliquée.

Cependant cela revenait à exclure 10 échantillons compris entre 45 et 55 g/L IgG1, rendant encore plus larges les intervalles de confiance (tableau 34 et figure 29).

De même que précédemment, le petit nombre de prélèvement de faible concentration en IgG1 (29 colostrums <50 g/L), a fait apparaître des seuils en dehors de toute logique biologique qui n'ont pas été retenus (en italique dans le tableau 34).

Tableau 34 : Sensibilité et spécificité outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 50 g/L, en excluant les échantillons compris entre 45 et 55 g/L IgG1

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
Pèse colostrum (g/L) (n=231)	75	47.8	26.8 – 69.4	97.6	94.6-99.2	0.45	92.9
	85	86.9	66.4 – 97.2	88.4	83.3 – 92.3	0.75	88.2
Colotest (g/L) (n=231)	36	52.6	28.9 – 75.5	99.5	97.4 – 99.9	0.52	95.7
	46	78.9	54.4 – 93.9	92.4	88.0 – 95.6	0.71	91.3
Réfrac. numérique (% Brix) (n=199)	19.9	71.4	29.0 - 96.3	96.3	99.5 -100	0.68	98.5

Les intervalles de confiance de la sensibilité restent très larges même en excluant les échantillons entre 45 et 55 g/L.

Les seuils de décisions sont assez différents pour le colostest et le réfractomètre numérique, respectivement de l'ordre de 16 et 5 points, alors que ce sont les mêmes pour le pèse colostrum.

L'indice de Youden et l'efficacité de classement sont globalement amélioré en excluant les échantillons entre 45 et 55 g/L, respectivement de plus de 0.04 points et de ordre de 2 à 18 points.

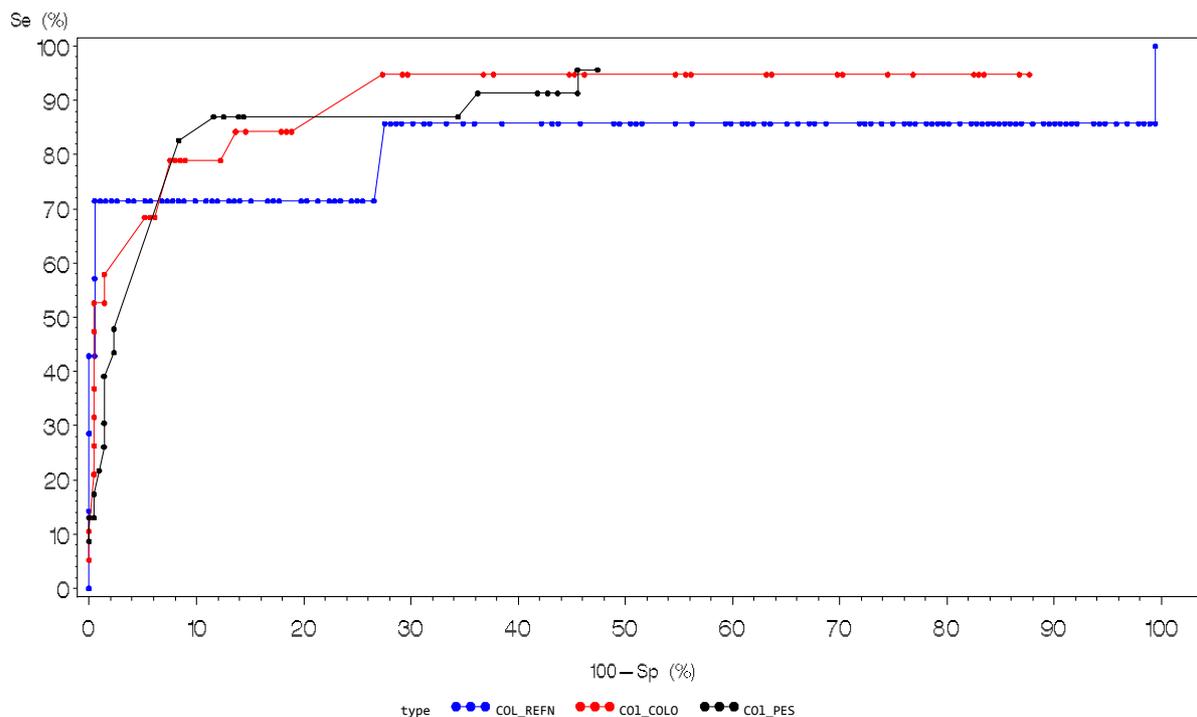


Figure 29 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <100 g /L, 7 échantillons compris en 45 et 55 g/L IgG1 exclus)

2.2.4.2.3. Seuil de décision à 100 g/L IgG1

De même que précédemment, au seuil de concentration en IgG1 mesuré par immunodiffusion radiale de 100 g/L, les paramètres intrinsèques (sensibilité, spécificité et leurs intervalles de confiance (IC95%)) des outils indirects d'évaluation de la qualité du colostrum maximisant l'indice de Youden et l'efficacité de classement sont présentés dans le tableau 35 et la figure 30.

Tableau 35 : Sensibilité et spécificité des indicateurs indirects colostraux outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 100 g/L

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
Pèse colostrum (g/L) (n=241)	115	69.7	61.1 – 77.4	72.4	63.3 – 80.3	0.42	71.0
Colotest (g/L) (n=240)	76	80.3	72.3 – 86.8	63.7	54.1 – 72.6	0.44	72.5
	65	58.3	49.2 - 66.9	86.7	79.0 - 92.4	0.45	71.7
Réfrac. numérique (% Brix) (n=205)	26	57.6	47.2 – 67.4	82.1	73.4 – 88.8	0.39	70.2
	27	82.8	73.9 – 89.7	57.5	47.6 - 67.1	0.40	69.8

Les sensibilités et spécificités des différents outils sont respectivement comprises entre 57.6% et 82.8%, et entre 57.5% et 86.7%. Les indices de Youden pour les trois outils indirects sont très faibles, entre 0.40 et 0.45. Les efficacités de classement sont plus importantes, globalement comprises entre 69.8 et 72.5.

Aucun seuil pour le colostest et pour le réfractomètre numérique ne permet d'avoir à la fois une bonne spécificité et une bonne sensibilité. Pour le pèse colostrum, un unique seuil à 115 g/L présente une sensibilité et une spécificité maximum mais faibles, respectivement de 69.7% et 72.4%.

Les valeurs d'efficacité de classement et d'indice de Youden sont globalement inférieures pour un seuil de 100 g/L.

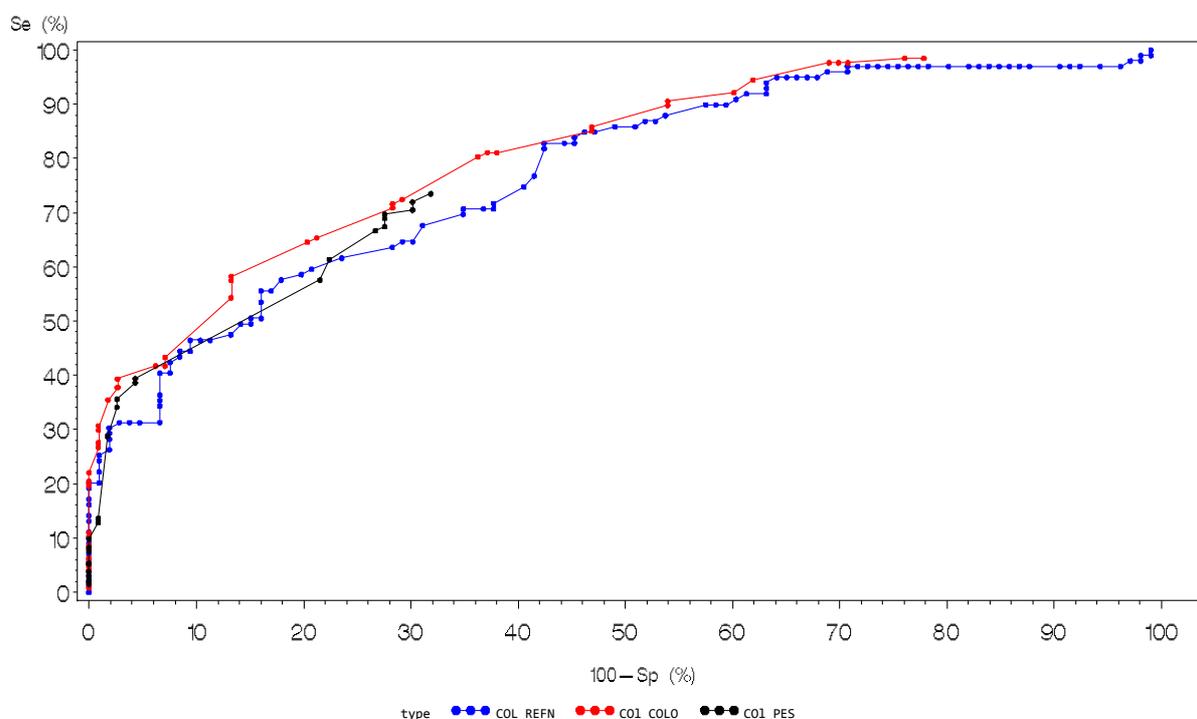


Figure 30 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <100 g/L)

2.2.4.2.4. *Seuil de décision à 100 g/L IgG1, en excluant les échantillons compris entre 85 et 115 g/L*

Compte tenu de l'incertitude de mesure (environ 15% pour des échantillons autour de 100 g/L) la même approche que précédemment a été appliquée. Quatre-vingt-dix échantillons compris entre 85 et 115 g/L ont été exclus, réduisant considérablement la taille de l'échantillon d'analyse (tableau 36 et figure 31).

Tableau 36 : Sensibilité et spécificité outils indirects pour la détection des colostrums de concentration en IgG inférieure à 100 g/L, en excluant les échantillons compris entre 85 et 115 g/L IgG1

	Seuil	Sensibilité		Spécificité		Indice Youden	Efficacité (%)
		Estimé	IC95%	Estimé	IC95%		
Pèse colostrum (g/L) (n=160)	120	82.2	72.7 – 89.5	70.0	57.9 – 80.4	0.52	76.9
Colotest (g/L) (n=152)	70	77.4	67.0 – 85.8	83.8	72.9 – 91.6	0.61	80.3
	68	76.2	65.6 - 84.8	85.3	74.6 - 92.7	0.62	80.4
Réfrac. numérique (% Brix) (n=127)	26	67.7	54.7- 79.0	86.1	75.3 – 93.5	0.54	77.2

Les sensibilités et spécificités des différents outils sont globalement améliorées en excluant les échantillons entre 85 et 115 g/L, respectivement comprises entre 67.7% et 82.2%, et entre 70% et 86.1%. Les indices de Youden pour les trois outils indirects sont faibles mais augmenté, entre 0.52 et 0.61. Les efficacités de classement sont aussi améliorées, globalement comprises entre 76.9 et 80.3.

Les seuils de décisions sont assez différents, de plus de 5 points. Mais globalement il semble y avoir une amélioration.

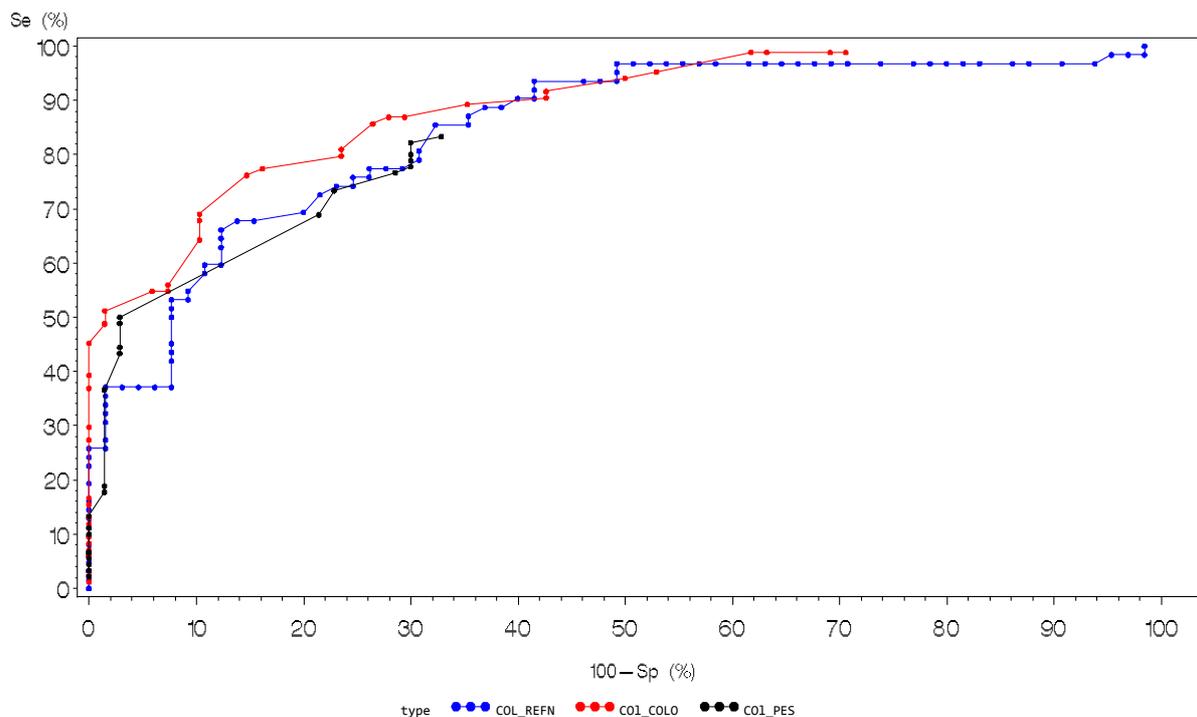


Figure 31 : Courbes ROC pour les indicateurs indirects colostraux (seuil IgG1 <150 g /L, 88 échantillons compris en 85 et 115 g/L IgG1 exclus)

2.2.4.3. Utilisation pratique

L'objectif de cette dernière analyse vise à montrer l'information apportée quant à la prévalence du défaut de TIP dans un élevage, par l'évaluation du TIP sur un échantillon de taille croissante de veaux, à l'aide de la méthode de référence ou des outils indirects.

L'analyse théorique s'est fondée sur l'utilisation d'un test parfait (gold standard, dosage des IgG1 sériques, sensibilité et spécificité 100%) et sur les performances calculées du dosage du taux protéique (seuil 55 g/L) et du refractomètre numérique (seuil 8.4% Brix) pour un seuil de 10 g/L en IgG1 sériques, en excluant les veaux ayant des concentrations sériques en IgG1 comprises 9 et 11 g/L (voir partie 2.4.1.2)

Les performances des outils ont été modélisées par des loi Beta(a,b) où a et b sont deux paramètres définis par $a = x + 1$ et $b = n - x + 1$, avec x, le nombre de cas « positifs » détectés et n le nombre total de « positifs ». Dans le cas de la sensibilité d'un test, les cas positifs sont les veaux ayant une concentration sérique en IgG1 inférieure à 10 g/L (défaut de TIP) et détectés par les outils indirects. Dans le cas de la spécificité, les cas « positifs » sont les veaux n'ayant pas de défaut de TIP (concentration en IgG1 sériques supérieure à 10 g/L) et classés comme tels par les outils indirects.

Les performances ont ainsi été modélisées par les lois béta suivantes :

- Dosage TP : sensibilité : Beta(57, 11) ; spécificité : Beta(156,15)
- Réfractomètre numérique : sensibilité : Beta(45,5) ; spécificité : Beta(125,23)

Les figures 32 et 33 représentent la probabilité (P) (niveau de confiance) que la prévalence vraie du défaut de TIP soit inférieure à une prévalence "s" sachant le nombre de veaux testés et le nombre de veaux détectés « positifs » (c'est-à-dire à défaut de TIP selon les outils diagnostiques). Dans nos simulations nous avons considéré successivement 0 et 1 veau détecté positif. Les tableaux des valeurs de p sont présentés en annexes 1, 2 et 3.

Le principal résultat de ces simulations est que la taille de l'échantillon prélevé est d'une importance majeure. Ainsi lorsque 5 veaux sont prélevés, le niveau de confiance est globalement faible, quels que soient l'outil diagnostique et le seuil de prévalence s : lorsque qu'aucun veau sur 5 n'est détecté positif, la probabilité (P) est proche ou dépasse 0.75 uniquement au seuil de prévalence s de 25% (outil parfait : 0.84, dosage TP : 0.74, réfractomètre numérique : 0.77). L'interprétation des résultats est alors la suivante : « en prélevant 5 veaux, et si aucun n'est positif, la probabilité que la prévalence vraie du défaut de TIP dans cet élevage soit inférieure à 25% est proche de 75% ». En terme de conseil et d'intervention en élevage, le niveau de confiance apparaît trop faible et la prévalence seuil (25%) trop élevée. En revanche le niveau de confiance devient satisfaisant (>80%) dès lors que le nombre de veaux prélevés dépasse 10 ou 15 en fonction des différents outils (figure 32). Ainsi lorsqu'aucun veau n'est détecté positif sur 15, le niveau de confiance, pour une prévalence s de 10 à 15%, approche ou dépasse 80 à 90% selon les outils diagnostiques utilisés.

Il apparaît cependant que pour affirmer avec un niveau de confiance très élevé (>95%) que la prévalence vraie du défaut de TIP est inférieure à 10%, un échantillon de grande taille est nécessaire (> 20 veaux).

Nos résultats indiquent par ailleurs que le niveau de confiance permis par les outils diagnostiques imparfaits, même s'il est globalement inférieur à celui obtenu par le test de référence, est globalement satisfaisant lorsqu'un nombre suffisant de veaux est prélevé (figure 32). Ainsi pour 15 veaux prélevés et aucun résultat positif, la probabilité que la prévalence vraie du défaut de TIP soit inférieure à 15% est de 0.95 lorsque le test de référence

est utilisé, contre 0.85 et 0.90 lors de l'utilisation des outils indirects (respectivement le dosage du taux protéique et les mesures au réfractomètre numérique).

De manière logique, pour une même prévalence seuil s , les niveaux de confiance sont plus faibles lorsqu'un veau est détecté positif (figure 33). Par ailleurs le niveau de confiance associé au test de référence apparaît moins élevé que celui associé aux outils indirects (en particulier le réfractomètre numérique). Ceci est dû au fait que la probabilité qu'il s'agisse d'un faux positif est nulle avec le test de référence (spécificité 100%), augmentant alors la borne supérieure de l'intervalle de confiance de la prévalence du défaut de TIP. A l'inverse la probabilité qu'il s'agisse d'un faux positif sur 15 animaux testés est élevée, de $1-0.85^{15} = 0.91$ (réfractomètre numérique) et de $1-0.92^{15} = 0.71$ (dosage taux protéique), si la prévalence réelle est nulle.

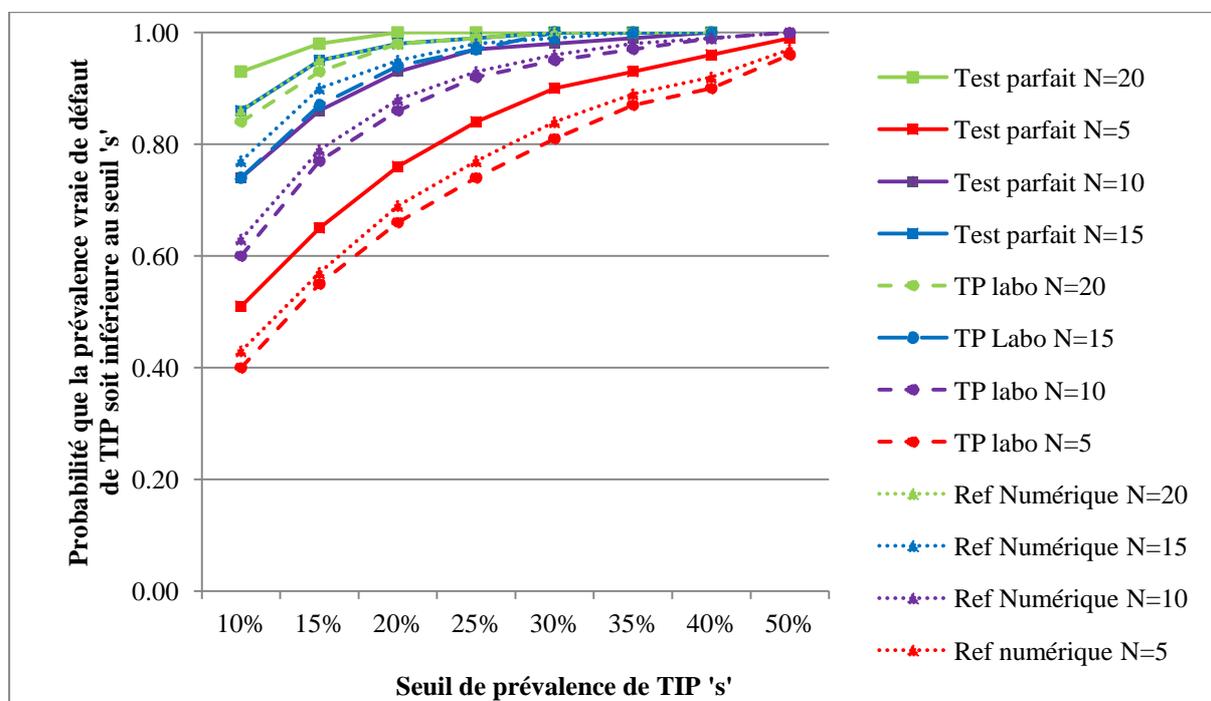


Figure 32 : Probabilité (P) que la prévalence vraie soit inférieure à la prévalence "s" en fonction de l'outil indirect, pour 0 veau « positif »

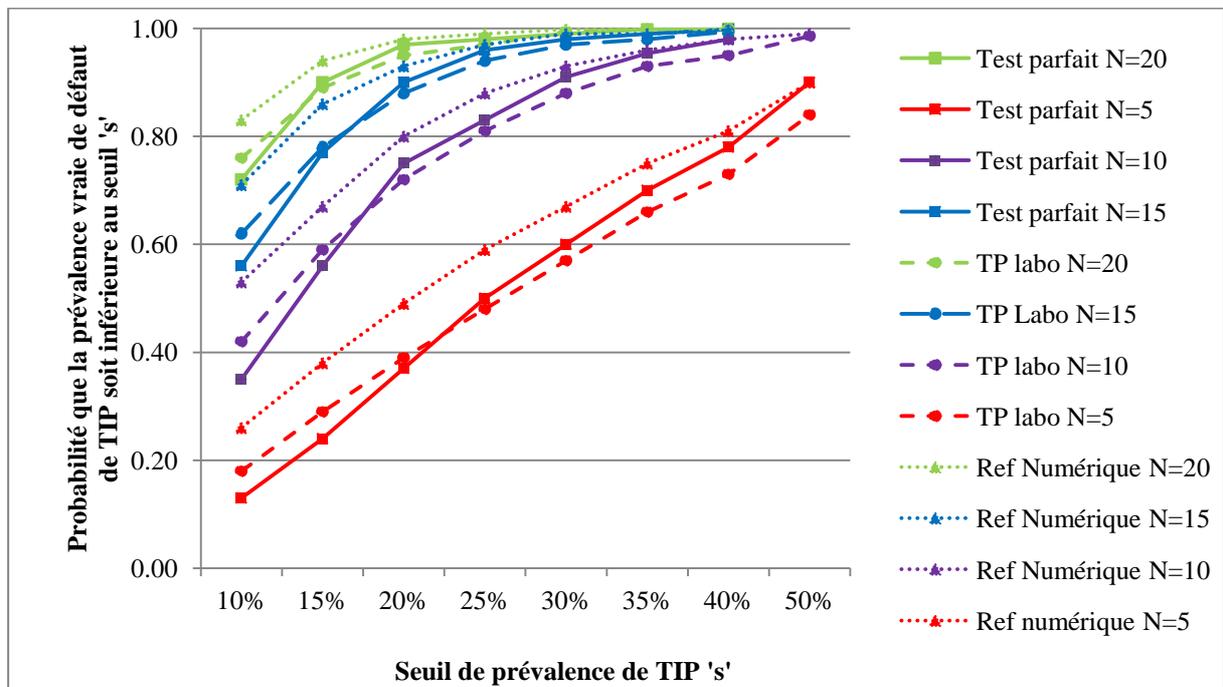


Figure 33 : Probabilité (P) que la prévalence vraie soit inférieure à la prévalence 's' en fonction de l'outil diagnostique, pour 1 veau « positif »

3. DISCUSSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances de différents outils indirects permettant d'explorer la qualité du transfert de l'immunité passive chez le veau et la qualité du colostrum, dans les conditions d'utilisation de la pratique vétérinaire. Les données de cette étude sont issues d'une enquête multicentrique incluant un laboratoire dont les résultats d'analyses ont été pris pour référence. Bien que les résultats relatifs aux performances des outils ne soient pas novateurs, cette étude permet de tirer des enseignements quant à leur utilisation sur le terrain.

3.1. Protocole d'étude

L'échantillon comprend 194 veaux de race allaitante pour seulement 53 veaux de race laitière. La répartition des prélèvements selon le type racial fait apparaître une surreprésentation des élevages allaitants. Cela pourrait expliquer le nombre important de colostrum fortement concentré par rapport à ceux faiblement concentré en IgG1 (<50 g/L), étant donné que les vaches allaitantes ont des colostrums généralement plus concentrés que les vaches laitières (Guy et al. 1994).

La plupart des mesures ont été faite sur le terrain par 16 vétérinaires différents. La comparaison de ces résultats avec ceux d'études dans lesquelles les mesures ont toutes été réalisées par un même laboratoire est donc difficile. Notre étude reflète l'évaluation de qualité du colostrum et du transfert de l'immunité passive dans les conditions de la pratique vétérinaire, avec une possible hétérogénéité d'utilisation des outils diagnostiques. Le protocole d'étude ne permettait pas d'évaluer les performances analytiques vraies des différents instruments. Les résultats obtenus semblent donc peu extrapolables à une autre population.

Les différents analyseurs biochimiques présents dans les cabinets vétérinaires peuvent aussi avoir entraîné des erreurs de mesure. Le calibrage des analyseurs des cabinets vétérinaires (VetTest) a pu ne pas être fait correctement (voire pas du tout), et entraîner des biais de mesure systématiques (sous-estimations ou surestimations). Les différences observées entre les valeurs fournies par le laboratoire ISAE 35 et celles obtenues par les vétérinaires sont en faveur de l'existence de ces variations pour un certain nombre de cabinets. Elles ont ainsi

augmenté l'hétérogénéité des résultats et limité la précision et l'exactitude des estimateurs des performances des outils diagnostiques.

3.2. Evaluation de la qualité du colostrum

Nous avons choisi de classer les colostrums selon leur niveau de qualité en fixant arbitrairement deux seuils de concentration en IgG1 (50 et 100 g/L). Ces seuils sont faciles à retenir, couramment utilisés, mais ne reposent pas sur des arguments biologiques solides.

3.2.1. Corrélations entre concentration colostrale en IgG et valeurs des mesures indirectes

Les méthodes de mesure de la qualité du colostrum les mieux corrélées à la concentration des IgG1 colostrales sont dans l'ordre décroissant le **colostest ou réfractomètre optique**, ($r=0.65$), puis le **pèse colostrum** et le **réfractomètre numérique** ($r=0.56$) qui ont des résultats identiques. Les résultats des publications précédentes sont controversés (tableau 37).

Bielmann et al. (2010), qui ont étudié les corrélations entre le réfractomètre optique et numérique avec les concentrations colostrales en IgG1, ont trouvé des coefficients de corrélations comparables pour les deux méthodes (respectivement 0.71 et 0.73). L'étude de Imbert (2005) présente une meilleure corrélation pour le réfractomètre optique que pour le pèse colostrum (0.76 et 0.56). Enfin Chigerwe et al. (2008) trouvent les mêmes corrélations pour le pèse colostrum que pour le réfractomètre numérique (0.64, 0.65 pour les deux pèse colostrum et 0.64 pour le réfractomètre numérique).

Notre étude présente les résultats des dosages sériques en taux protéique à la fois avec un réfractomètre optique (le colostest) et numérique. La corrélation entre le réfractomètre optique et numérique est satisfaisante ($r=0.89$), pourtant les coefficients de corrélation avec la concentration en IgG1 sont bien inférieurs pour le réfractomètre numérique que pour le réfractomètre optique.

Les coefficients de corrélations entre la concentration colostrale en IgG1 et les valeurs obtenues par les méthodes indirectes de notre étude sont tous inférieurs à ceux publiés dans les études précédentes, surtout en ce qui concerne le pèse colostrum. La forte proportion de colostrums fortement concentrés en IgG1 dans nos travaux, qui a été associée à des valeurs de

mesures indirectes au-dessus des seuils maximum de quantification (>125 g/L pour le pèse colostrum, 110 g/L pour le colostest) a pu affaiblir les corrélations obtenues pour ces instruments. Néanmoins cette limite n'existe pas pour le réfractomètre numérique.

Dans notre étude, la dispersion des mesures au réfractomètre est la plus importante pour les colostrums situés entre 100 et 110 g/L IgG1. Il est possible que la corrélation entre la concentration en IgG1 et les valeurs du réfractomètre numérique soit moins bonne pour des colostrums fortement concentrés, comme suggéré par Biemann et al (2010). La plupart des recherches portent sur des colostrums en moyenne moins concentrés en IgG1 que dans notre étude, excepté celle de Biemann et al (2010) (tableau 37).

Par ailleurs l'exclusion de plusieurs valeurs aberrantes au réfractomètre numérique (>40% Brix) améliore légèrement la corrélation ($r=0.61$ contre $r=0.56$).

Une influence de la température sur les mesures au pèse colostrum a été notée par Mechor et al. (1992) et dans notre étude ($p<10^{-4}$). Pour les mesures aux réfractomètres, aucune influence de la température sur l'évaluation de la qualité du colostrum n'a été prouvée auparavant. Mais dans nos travaux, un effet très significatif de la température a été mis en évidence pour les mesures au réfractomètre optique. L'effet est moins important avec les mesures au réfractomètre numérique car l'appareil utilisé corrige déjà les mesures en fonction de la température (réfractomètre numérique « ATC, automatic temperature compensing »).

Tableau 37 : Comparaison des corrélations entre les concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale et mes méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du colostrum

Méthodes indirectes	Auteurs	Moyenne ou médiane [IgG] (g/L)	Coefficient de corrélation de Pearson (r) où [IgG] mesurée par IDR	Effectif (n)	Probabilité critique (p)
Pèse colostrum ou colostromètre	Chigerwe et al. 2008	68	COL 1 : 0.64	160	P<0.05
			COL 2 : 0.55	160	P<0.05
	Morin et al. 2001	?	0.53	40	0.0005
	Pritchett et al. 1994	48	0.68 (log[IgG1])	915	<0.0001
	Imbert 2005	71	0.56	186	0.0001
	Quigley et al. 1994	70	0.62	88	<0.05
	Mechor et al. 1992	?	0.87	39	< 10 ⁻⁴
	Notre étude	97	0.56	241	<0.001
Réfractomètre optique ou colotest	Bielmann et al. 2010	92	0.71 (Spearman)	272	<0.001
	Quigley et al. 2013	73	0.75	183	<0.01
	Imbert 2005	71	0.76	88	0.0001
	Molla 1980	-	0.89	21	<0.001
	Notre étude	97	0.65	240	<0.001
Réfractomètre numérique	Chigerwe et al. 2008	68	0.64	160	-
	Bielmann et al. 2010	92	0.73	273	<0.001
	Morrill et al. 2012	59	0.73	823	<0.0001
	Notre étude	97	0.56	209	<0.001

3.2.2. Performances diagnostiques des outils indirects

L'évaluation de la sensibilité et de la spécificité des outils indirects pour la détection des colostrums ayant des concentrations en IgG1 inférieures à 50 g/L indique des valeurs globalement moyennes et les larges intervalles de confiance obtenus pour la sensibilité rendent difficile une comparaison robuste. Mais ces résultats permettent cependant leur utilisation en élevage. Les performances diagnostiques pour le seuil de 100 g/L d'IgG1 sont globalement moins bonnes.

Au seuil de décision de 50 g/L d'IgG1, la prise en compte ou non des échantillons au statut « douteux » (concentration en IgG1 comprise entre 45 et 55 g/L) influence de façon majeure le choix du seuil associé aux performances diagnostiques maximales pour le colotest et les réfractomètres optique et numérique, rendant difficile une conclusion définitive quant aux seuils de décision à adopter pour ces outils.

Par ailleurs le petit nombre de colostrums de faible concentration en IgG1 (médiane 97 g/L ; 29 colostrums <50 g/L, soit 11.5%), rend forcément les intervalles de confiance de la sensibilité très larges.

Les études publiées portent majoritairement sur des colostrums issus de vaches laitières avec des concentrations moyenne en IgG1 beaucoup plus faibles (Pritchett et al. 1994 m=48 g/L ; Chigerwe et al. 2008 m=68.5 g/L). Seule l'étude de Bielman et al (2010) (médiane 91.8 g/L, 7.7% des échantillons inférieurs à 50 g/L) est comparable à la nôtre en termes de distribution des concentrations colostrales en IgG, mais les intervalles de confiance ne sont pas fournis (probablement très larges).

Aucune publication n'a pris comme valeur seuil du test de référence 100 g/L comme dans notre étude. L'ensemble des résultats est rappelé dans le tableau 38.

Le seuil de décision qui est conseillé lorsqu'on utilise un pèse colostrum pour évaluer la qualité du colostrum est de 85 g/L d'après nos résultats et ceux de Chigerwe et al. (2008). Pour le colotest, plusieurs publications conseillent d'utiliser le seuil de 22% Brix (Bielmann et al. 2010 ; Quigley et al. 2013). Dans notre étude, l'unité de mesure du colotest étant différente, le seuil de décision de 62 g/L a été établis comme étant le plus performant. Ce même seuil de 22% Brix est aussi recommandé pour l'utilisation du réfractomètre numérique (Chigerwe et al. 2008 ; Bielman et al. 2010) alors que, d'après nos travaux, un seuil de décision de 25% Brix serait plus performant.

Des études ultérieures permettent aussi la comparaison des différents outils indirects entre eux.

Dans l'étude de Bielman et al. (2010), au seuil optimal de 22% Brix, le réfractomètre optique apparait plus performant que le réfractomètre numérique (indice de Youden 0.83 contre 0.75 pour les multipares et 0.64 contre 0.28 pour les primipares). L'absence d'intervalle de confiance des estimateurs de sensibilité et de spécificité rend cependant difficile une comparaison claire des résultats de cette étude.

Dans notre étude, le réfractomètre optique (colotest) semble aussi bénéficier de performances diagnostiques très légèrement supérieures à celle du réfractomètre numérique (indice de Youden 0.67 contre 0.6 ; 0.71 contre 0.68 après exclusion des échantillons compris entre 45 et 55 g/L d'IgG).

Tableau 38 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes pour la détection des colostrums de concentrations inférieures à 50 g/L d'IgG1

Méthodes indirectes	Sources	Seuil de décision	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement (%)	Indice de Youden	
Pèse colostrum ou colostromètre (g/L)	Pritchett et al. 1994 n = 915	70	63	85	-	0.48	
		85	86	63	-	0.49	
	Chigerwe et al. 2008 Col 1, n=171	<70	75 (63 – 86)	78 (71 – 86)	70	0.53	
		<80	80 (69 – 91)	66 (58 – 75)	61	0.46	
	Chigerwe et al. 2008 Col 2, n=171	<75	67 (54 – 80)	74 (66 – 82)	79	0.41	
		<87	76 (65 – 88)	66 (58 – 75)	61	0.42	
	Notre étude	Seuil 50 g/L	85	75 (56 – 90)	88 (83 – 92)	87	0.64
		Seuil 50 g/L ([45 ;55] excl.)	85	87 (66 – 97)	88 (83 – 92)	88	0.75
		Seuil 100 g/L	115	70 (61 – 77)	72 (63 – 80)	71	0.42
		Seuil 100 g/L([85 ;115] excl.)	120	82 (73 – 89)	70 (58 – 80)	77	0.52
Réfractomètre optique ou colotest (% Brix ou g/L)	Bielmann et al. 2010, n = 203	22% Brix	91	92	-	0.83	
		22% Brix	86 (80-91)	79 (65-94)	85	0.65	
	Notre étude	Seuil 50 g/L	62 g/L	96(79 – 100)	72 (65 – 78)	74	0.67
		Seuil 50 g/L ([45 ;55] excl.)	46 g/L	79 (54 – 94)	92 (88 – 96)	91	0.71
		Seuil 100 g/L	76 g/L	80 (72 – 87)	64 (54 – 73)	72	0.44
		Seuil 100 g/L([85 ;115] excl.)	68 g/L	76 (66 - 85)	85 (5 - 93)	80	0.62
Réfractomètre numérique (% Brix)	Chigerwe et al. 2008, n=171	<22	75 (63 – 86)	78 (70 – 85)	63	0.53	
		22	92	83	-	0.82	
	Notre étude	Seuil 50 g/L	25	91(59 – 100)	69 (62 – 75)	70	0.60
		Seuil 50 g/L ([45 ;55] excl.)	20	71 (29 - 96)	96(99 -100)	98	0.68
		Seuil 100 g/L	26	58 (47 – 67)	82 (73 – 89)	70	0.39
		Seuil 100 g/L([85 ;115] excl.)	26	68 (55- 79)	86 (75 – 93)	77	0.54

* Note : les performances diagnostiques calculées dans notre étude pour la détection des colostrums de concentration en IgG1 inférieures à 100 g/L sont aussi rapportées.

3.3. Evaluation de la qualité du transfert d'immunité passive

Nous avons choisis de classer les veaux selon le niveau de qualité de TIP en fixant arbitrairement deux seuils de concentrations sériques en IgG1 de 10 et 15 g/L. Ces valeurs sont faciles à retenir, couramment utilisées mais ne sont, là encore, pas fondées sur des arguments biologiques très solides.

3.3.1. Corrélations entre concentration sérique en IgG1 et valeurs des mesures indirectes

Les mesures indirectes les mieux corrélées à celles du gold standard sont la concentration en protéines totales sériques mesurée dans les différents cabinets vétérinaires ($r=0.82$) et celle mesurée par le laboratoire ISAE 35 ($r=0.79$). Les corrélations avec les concentrations en IgG1 sériques obtenues pour les valeurs du réfractomètre numérique ($r=0.66$), de la mesure des γ -GT ($r=0.66$) et du réfractomètre optique ($r=0.64$) sont inférieures mais très proches entre elles. Ces résultats diffèrent légèrement de ceux d'études antérieures (tableau 39).

Les corrélations calculées par d'autres auteurs pour les réfractomètres sont supérieures à celles obtenues dans notre étude (corrélations comprises entre 0.71 et 0.87) (McBeath et al. 1971 ; Tyler et al. 1996 ; Quigley 2001 ; Calloway et al. 2002). Concernant l'activité des γ -GT, nos résultats sont compris dans l'intervalle des valeurs publiées (0.41 – 0.75) et portent sur un nombre d'échantillons plus important (Braun et al. 1982 ; Perino et al. 1993 ; Parish et al. 1997).

En ce qui concerne la comparaison des instruments entre eux, de même que pour le colostrum, notre étude présente les résultats avec un réfractomètre optique et numérique. La corrélation entre les deux réfractomètres est bonne ($r=0.70$) mais loin d'être excellente. Pourtant leurs corrélations respectives avec les résultats du gold standard sont comparables ($r=0.64$ et $r=0.66$).

L'étude de Perino et al. (1993) compare l'utilisation du réfractomètre et la mesure des γ -GT. Ils montrent une corrélation bien supérieure pour le réfractomètre optique ($r=0.87$) que pour la mesure des γ -GT ($r=0.64$) alors que les résultats des deux instruments sont équivalents dans notre étude ($r=0.66$ et 0.64).

Peu de publications portent sur la mesure du taux de protéines sériques du veau à l'aide de la réaction de Biuret (méthode des analyseurs biochimiques) pour évaluer la qualité du TIP.

Nos travaux permettent de comparer les résultats de cette méthode quand elle est réalisée sur le terrain par différents vétérinaires et en condition de laboratoire. La corrélation entre les mesures du taux protéique par les vétérinaires et par le laboratoire ISAE 35 est bonne ($r=0.83$) mais pas excellente (pour des performances comparables).

Une étude mesure d'excellentes corrélations en laboratoire ($0.92 \leq r \leq 0.99$) entre le taux de protéines mesuré par différents modèles de réfractomètre et par les analyseurs utilisant la méthode de Biuret (Vandeputte et al. 2011). Un seul expérimentateur a réalisé l'ensemble des manipulations. Lors de nos travaux, ces mêmes corrélations vont de 0.66 à 0.75 mais les conditions expérimentales sont très différentes.

Peu de publications portent sur l'influence de la température sur les mesures indirectes d'évaluation de la qualité du TIP. Vandeputte et al. (2011) présupposent un effet de la température sur l'indice de réfraction mais obtiennent des résultats comparables avec des réfractomètres à température compensée ou non. Calloway et al. (2002) ne trouvent pas non plus de différence notable entre ces deux types d'instruments. Dans notre étude, un effet significatif de la température sur la mesure des IgG sériques est mesuré pour tous les instruments ($p < 0.015$) mis à part pour la mesure des γ -GT ($p=0.74$).

Tableau 39 : Comparaison des corrélations entre les concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale et les méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du TIP

Méthodes indirectes	Auteurs	Coefficient de corrélation de Pearson (r)	Effectif (n)	Probabilité critique (p)	
Taux de protéines	Notre étude	TP(labo)	0.79	255	< 0.001
		TP(veto)	0.82	255	< 0.001
Réfractomètre optique	Tyler et al. 1996	0.87	242	< 0.001	
	McBeath et al. 1971	0.72	80	-	
	Calloway et al. 2002, REF C	0.74	90	< 0.001	
	Naylor, et al., 1977a	0.88	34	< 0.001	
	Perino et al. 1993	0.87	48	-	
	Paris et al. 1992	0.63 à 0.92	178	-	
	Notre étude	0.64	255	< 0.001	
Réfractomètre numérique	Calloway et al. 2002, REFA	0.77	90	< 0.001	
	Calloway et al. 2002, REFB	0.77	90	< 0.001	
	Notre étude	0.66	208	< 0.001	
Mesure des γ -GT	Braun et al. 1982	0.62	16	< 0.01	
	Perino et al. 1993	0.64	48	-	
	Parish et al. 1997	0.63	71	< 0.10	
	Vandeputte et al. 2011	0.49	108	-	
	Wilson et al. 1999	0.66	69		
	Paris et al. 1992	0.44 à 0.63	178		
	Notre étude	0.66	207	< 0.001	

3.3.2. Performances diagnostiques des outils indirects

Les meilleures performances diagnostiques pour la détection des veaux ayant des concentrations sériques en IgG1 inférieures à 10 g/L sont obtenues par le dosage des protéines totales sériques effectué au laboratoire ou au cabinet vétérinaire (par exemple, au seuil de 57 g/L, Se=91%, Sp=79%). Ces performances calculées en excluant les valeurs comprises entre 9 et 11 g/L sont, pour des seuils de décision très proches, améliorées de 2 à 9 points.

Au seuil de 10 g/L d'IgG1, et à l'exclusion du réfractomètre optique pour lequel la sensibilité apparaît médiocre (autour de 70%), les différents outils indirects bénéficient de performances globalement semblables (sensibilité comprise entre 85 et 93% et spécificité comprise entre 83

et 92%). L'ensemble des résultats est rappelé dans le tableau 40. Aucune étude antérieure n'a porté sur les qualités intrinsèques des tests pour un seuil de détection de 15 g/L.

Des publications antérieures ont obtenues des performances similaires pour les réfractomètres optiques et numériques avec des seuils de décision compris entre 50 et 58 g/L (Vandeputte et al. 2011 ; Calloway et al. 2002). Dans notre étude, les performances du réfractomètre numérique (Se [62-97%] Sp [75-93%], Efficacité de classement [83-87%]) semblent supérieures à celles du réfractomètre optique (Se [48-85%] Sp [76-93%], Efficacité de classement [79-83%]). L'utilisation de modèles de réfractomètres optiques différents entre les cliniques pourrait expliquer ces résultats moins satisfaisants.

En ce qui concerne les seuils de décision, d'après notre étude un taux de protéines sérique mesuré par les analyseurs biochimique inférieur à 53 g/L signifierait un défaut de TIP tandis qu'un taux de protéines de 57 g/L serait le signe d'un excellent TIP. Entre ces valeurs, le statut du TIP du veau serait douteux. Aucun autre protocole n'est basé sur la mesure de la concentration sérique en protéines totales par un analyseur de biochimie. Les seuils de décision recommandés par les différentes études sont compris entre 52 et 58 g/L (réfractométrie numérique ou optique ; Calloway et al. 2002 ; Vandeputte et al. 2011). Nos résultats (53 g/L en réfractométrie optique) sont conformes à cet intervalle. Aucun seuil de décision n'a pu être clairement défini lorsqu'on utilise la mesure des γ -GT pour évaluer le TIP. De plus, lorsqu'il est possible de mesurer le taux protéique et le dosage de γ -GT sur le même appareil, il paraît peu utile d'utiliser la mesure des γ -GT, d'autant plus que le taux protéique apparaît mieux corrélé aux concentrations en IgG1 mesurées par immunodiffusion radiale que les γ -GT (respectivement $r=0.82$ et $r=0.65$).

En conclusion, la mesure de la concentration en protéines totales par le laboratoire est la méthode indirecte d'évaluation du TIP la plus performante, suivi par la mesure de la concentration en protéines totales par réfractométrie optique ou numérique. Pour autant le dosage des γ -GT apparaît utile et assez performant pour la détection des veaux à défaut de TIP. Les différences entre les publications précédentes et notre travail peuvent être expliquées par le fait que nos résultats viennent de mesures effectuées sur le terrain et ne représentent pas la réelle sensibilité et spécificité des tests qui seraient obtenus en laboratoire lors de manipulations plus rigoureusement menées.

Tableau 40 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité des méthodes indirectes d'évaluation de la qualité du TIP

Méthodes indirectes	Sources	Seuil de décision	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Eff. de classement (%)	Indice de Youden	
Taux protéique	TP(véto) au seuil de 10 g/L	57	91 (82 – 96)	79 (73 – 85)	83	0.70	
	<i>En excluant entre 9 et 11 g/L</i>	57	92 (83 – 97)	83 (76-88)	85	0.75	
	TP(labo) au seuil de 10 g/L	56	87 (78-94)	83 (76-88)	84	0.70	
	<i>En excluant entre 9 et 11 g/L</i>	55	85 (74-92)	92 (86-95)	90	0.77	
Réfractomètre optique (g/L)	Calloway et al. 2002 REF C	52	89	94	86	0.83	
	Tyler et al. 1996	55	94	76	82	0.55	
	Perino et al. 1993	42	80	100	-	0.70	
	Vandeputte et al. 2011	Atago	56	100	91	70	0.91
		Atago ATC	58	100	90	80	0.90
	Notre étude	52	70 (59 – 80)	82 (76 – 88)	79	0.53	
<i>En excluant entre 9 et 11 g/L</i>	53	72 (60 – 85)	85 (79 – 90)	82	0.58		
Réfractomètre numérique (g/L)	Calloway et al. 2002	REF A	52	89	82	86	0.71
		REF B	52	93	80	87	0.73
	Vandeputte et al. 2011	Wolf ATC	54	100 (82-100)	93 (83-95)	94	0.93
		Digital ATC	56	100 (82-100)	92 (82-95)	93	0.92
	Notre étude (% Brix)	8.4	87 (75 – 94)	82 (75 -88)	83	0.69	
	<i>En excluant entre 9 et 11 g/L</i>	8.4	91 (78 – 97)	85 (78 -90)	86	0.76	
Mesure des γ -GT (U/L)	Perino et al. 1993	200	80	97	-	0.77	
	Maillard 2000	> 50	93	92	93	0.85	
	Paris et al. 1992, n=178 40-50h	9 g/L	> 300		100		
		5 g/L	>200		100		
	Notre étude	254	80 (66 – 89)	91 (85 – 95)	88	0.70	
	<i>En excluant entre 9 et 11 g/L</i>	254	82 (67 – 92)	94 (89 – 98)	91	0.76	

3.4. Utilisation en élevage

En élevage, l'exploration des facteurs de risque des troubles infectieux du jeune veau passe nécessairement par une évaluation de la qualité du transfert de l'immunité passive. En premier lieu il s'agit donc d'établir l'existence éventuelle d'un défaut de TIP et le cas échéant d'en connaître la prévalence et la part de risque attribuable. Dans la pratique, l'échantillon constitué pour évaluer la qualité du TIP est souvent de faible taille, entre 5 et 8 veaux.

La mise en évidence d'un défaut de TIP à partir d'un échantillon, même de faible taille, constitué de veaux malades, permettra de conclure à son implication fortement probable dans l'apparition des troubles pour ces veaux. Cependant l'échantillon n'étant pas représentatif de l'ensemble des veaux nés, aucune conclusion à l'échelle de l'élevage, quant à la prévalence des défauts de TIP, ne pourra être apportée.

La constitution d'un échantillon représentatif des veaux naissant apparaît plus appropriée pour évaluer la situation globale dans l'élevage. Nos résultats indiquent que l'information apportée (niveau de confiance) est fortement dépendante de la taille de l'échantillon, beaucoup plus que des performances des outils utilisés. Ainsi pour un échantillon de 5 veaux, l'intervalle de confiance de la prévalence du défaut de TIP est très large, et le niveau de confiance très faible, même en utilisant un test parfait. En l'absence de résultat indiquant un défaut de TIP (0 « positif » sur 5), l'intervalle de confiance de la prévalence du défaut de TIP est compris entre 0% et 40%. Si un défaut de TIP est mis en évidence sur les 3 des 5 veaux prélevés, cet intervalle de confiance est compris entre 23% et 88%. La précision de l'estimation de la prévalence apparaît trop faible pour pouvoir apporter une information pertinente de la prévalence réelle dans l'élevage.

L'intervalle de confiance de la prévalence du défaut de TIP se réduit et le niveau de confiance devient satisfaisant (>80%) dès lors que le nombre de veaux prélevés dépasse 10 à 15. Ainsi lorsqu'aucun veau sur 15 n'est détecté positif, le niveau de confiance, pour une prévalence seuil de 10 à 15%, approche ou dépasse 80 à 90% selon les outils diagnostiques utilisés. Il apparaît cependant que pour affirmer avec un niveau de confiance très élevé (>95%) que la prévalence vraie du défaut de TIP est inférieure à 10%, un échantillon de grande taille est nécessaire (> 20 veaux).

Nos résultats indiquent par ailleurs que le niveau de confiance permis par les outils diagnostiques imparfaits, même s'il est globalement inférieur à celui obtenu par le test de référence, est satisfaisant lorsqu'un nombre suffisant de veaux est prélevé. Le faible coût et la rapidité d'obtention des résultats de l'évaluation du défaut de TIP par les outils indirects, comparativement au dosage des IgG sériques, autorise par ailleurs la réalisation de prélèvements sur un plus grand nombre de veaux.

Malgré l'existence d'erreurs de classement assez fréquentes à l'échelle individuelle du fait des performances imparfaites des outils indirects, l'utilisation de ces outils à l'échelle d'un élevage apparaît donc d'un intérêt majeur pour l'évaluation de la prévalence du défaut de TIP.

L'évaluation de la qualité du colostrum est en revanche plus fréquemment mise en œuvre afin d'obtenir une information à l'échelle individuelle. En effet cette information vise à indiquer si le colostrum mérite d'être conservé en vue de réaliser une banque congelée, permettant de mieux maîtriser la prise colostrale, particulièrement en élevage laitier. On privilégiera alors les outils permettant d'avoir le meilleur niveau de confiance dans le fait que le colostrum est de bonne qualité. Il suffit pour cela d'invertir les estimateurs de sensibilité et de spécificité calculés pour la détection de colostrums de faible concentration en IgG1 des tableaux 24 à 27.

Dans ce cadre, si la sensibilité pour la détection des colostrums de bonne qualité apparaît très bonne (proche ou supérieure à 90%) quels que soient les outils indirects utilisés, le risque de faux positif (risque de considérer à tort un colostrum comme étant de bonne qualité) n'est pas négligeable (entre 20 et 25%). De manière logique, compte tenu de la corrélation positive des différents appareils avec la concentration colostrale en IgG, plus les valeurs obtenues par les outils indirects seront élevées, plus la probabilité que les colostrums soit de bonne qualité sera importante. Le choix de seuils de décision plus élevés que ceux proposés pourrait donc réduire ce risque, sans toutefois l'annuler (10% au minimum), au détriment d'une sensibilité très dégradée (50 à 60%).

CONCLUSION

Le colostrum est un véritable lien entre la vache et le veau après la mise bas pour permettre le développement de l'immunité du jeune et sa survie. La qualité de ce transfert d'immunité passive conditionne aussi les performances des animaux à plus long terme

Notre étude, basée sur 261 couples mère-veau, visait à évaluer les performances diagnostiques des outils pouvant évaluer la qualité du colostrum et du transfert d'immunité passive lors de leur utilisation sur le terrain.

Différents outils peuvent être utilisés pour évaluer la qualité du colostrum (mesure de la concentration en IgG, le pèse colostrum, le réfractomètre optique ou numérique) et la qualité du TIP (mesure de la concentration sérique en IgG, le taux de protéines sériques, le réfractomètre optique ou numérique et la concentration en γ -GT). Les performances que nous avons calculées sont comprises entre 57% et 96%. Cela reste des outils informatifs même si leurs performances sont loin d'être parfaites.

L'utilisation des outils dans les conditions de terrain montre que « l'effet vétérinaire » est un élément majeur de l'incertitude de mesure. La précision et l'exactitude des résultats ont aussi pu être altérées par le nombre plus important de colostrum de bonne qualité de notre échantillon. L'évaluation des performances des outils dans notre étude a pu être influencée par ces deux paramètres.

Malgré tout, l'utilisation de ces outils suggère un bénéfice important en faisant des analyses sur un nombre de veaux suffisant. Le faible coût et la rapidité des outils indirects rendent ces méthodes intéressantes pour l'éleveur. C'est aussi un axe de conseil intéressant pour le vétérinaire dans le cadre de la médecine collective. Il serait intéressant d'étudier l'impact économique d'une telle surveillance de la prise colostrale à l'aide de ces outils pour une amélioration de la survie des veaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baintner, K. (2007). Transmission of antibodies from mother to young: Evolutionary strategies in a proteolytic environment. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **117**(3-4): 153-161.
- Barrington, G. M. and S. M. Parish (2001). Bovine neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **17**(3): 463-476.
- Besser, T. E. (1993a). Concentrations of passively acquired IgG1 antibodies in the intestinal lumen of the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **38**(1-2): 103-112.
- Besser, T. E. (1993b). Concentrations of passively acquired IgG1 antibodies in the intestinal lumen of the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **38**(1-2): 103-112.
- Besser, T. E., A. E. Garmedia, et al. (1985a). Effect of colostrum immunoglobulin G1 and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves. *Journal of Dairy Science*, **68**(8): 2033-2037.
- Besser, T. E. and C. C. Gay (1985b). Septicemic colibacillosis and failure of passive transfer of colostrum immunoglobulin in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **1**(3): 445-459.
- Besser, T. E., C. C. Gay, et al. (1991). Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **198**(3): 419-422.
- Bielmann, V., J. Garner, et al. (2008). An evaluation of a Brix refractometer for measurement of colostrum quality and success of passive transfer. *Journal of Dairy Science*, **E-Suppl. 1**: 91:354.
- Bielmann, V., J. Gillan, et al. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, **93**(8): 3713-3721.
- Braun, J. P., D. Tainturier, et al. (1982). Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves--a test of colostrum intake. *Journal of Dairy Science*, **65**(11): 2178-2181.
- Brignole, T. J. and G. H. Stott (1980). Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival. *Journal of Dairy Science*, **63**(3): 451-456.
- Bush, L. J. and T. E. Staley (1980). Absorption of colostrum immunoglobulins in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, **63**(4): 672-680.
- Butler, J. E. (1969). Bovine immunoglobulins: a review. *Journal of Dairy Science*, **52**(12): 1895-1909.

- Butler, J. E. (1973). Synthesis and distribution of immunoglobulins. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **163**: 795-798.
- Calloway, C. D., J. W. Tyler, et al. (2002). Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **221**(11): 1605-1608.
- Cameron, A. R., Baldock, F. C. (1998): A new probability formula for surveys to substantiate freedom from disease. *Prev. Vet. Med.* **34** :1-17
- Chigerwe, M., D. M. Coons, et al. (2012). Comparison of colostrum feeding by nipple bottle versus oroesophageal tubing in Holstein dairy bull calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **241**: 104-109.
- Chigerwe, M., M. E. Dawes, et al. (2005). Evaluation of a cow-side immunoassay kit for assessing IgG concentration in colostrum. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **227**(1): 129-131.
- Chigerwe, M., J. W. Tyler, et al. (2008). Comparison of four methods to assess colostrum IgG concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **233**(5): 761-766.
- Dewell, R. D., L. L. Hungerford, et al. (2006). Association of neonatal serum immunoglobulin G1 concentration with health and performance in beef calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **228**(6): 914-921.
- Elfstrand, L. (2002). Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *International Dairy Journal*, **12**: 879-887.
- Elizondo-Salazar, J. A. and A. J. Heinrichs (2009). Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, **92**(9): 4565-4571.
- Foley, J. A. (1978). Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. *Journal of Dairy Science* **61**: 1033-1060.
- Franklin, S. T., D. M. Amaral-Phillips, et al. (2003). Health and performance of Holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. *Journal of Dairy Science*, **86**(6): 2145-2153.
- Furman-Fratczak, K., A. Rzasa, et al. (2011). The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *Journal of Dairy Science*, **94**(11): 5536-5543.
- Gay, C. C. (1984). The role of colostrum in managing calf health. *Proceedings of American Association of Bovine Practitioners* **16**: 79-84.
- Guy, M. A., T. B. McFadden, et al. (1994). Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **77**(10): 3002-3007.

- Halliday, R., A. J. Russel, et al. (1978). Effects of energy intake during late pregnancy and of genotype on immunoglobulin transfer to calves in suckler herds. *Research in Veterinary Science*, **24**(1): 26-31.
- Hopkins, B. A. and J. D. Quigley, 3rd (1997). Effects of method of colostrum feeding and colostrum supplementation on concentrations of immunoglobulin G in the serum of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, **80**(5): 979-983.
- Hough, R. L., F. D. McCarthy, et al. (1990). Influence of nutritional restriction during late gestation on production measures and passive immunity in beef cattle. *Journal of Animal Science*, **68**(9): 2622-2627.
- Husband, A. J., M. R. Brandon, et al. (1972). Absorption and endogenous production of Immunoglobulins in calves. *The Australian journal of experimental biology and medical science*, **50**: 491-498.
- Imbert, A.-M. T. (2005). *Les immunoglobulines colostrales bovines : étude comparée de trois méthodes de dosages à partir de données expérimentales et influence de différents facteurs sur la concentration*. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, ENVA 103 p.
- Johnson, W. O., Su C. L., Gardner I. A., Christensen R. (2004). Sample size calculations for surveys to substantiate freedom of populations from infectious agents. *Biometrics*, **60**(1):165-171
- Kruse, V. (1970). Absorption of immunoglobulin from colostrum in newborn calves. *Animal Production*, **12**: 627-638.
- Lateur-Rowet, H. J. and H. J. Breukink (1983). The failure of the oesophageal groove reflex, when fluids are given with an oesophageal feeder to newborn and young calves. *Veterinary Quarterly*, **5**: 68-74.
- Lee, S. H., J. Jaekal, et al. (2008). Enzyme-linked immunosorbent assay, single radial immunodiffusion, and indirect methods for the detection of failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **22**: 212-218.
- Levieux, D. and A. Ollier (1999). Bovine immunoglobulin G, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*, **66**(3): 421-430.
- Lomba, F., I. Fumiere, et al. (1978). Immunoglobulin transfer to calves and health problems in large bovine units. *Annales de Recherches Veterinaires*, **9**(2): 353-360.
- Maillard, R. (2000). Immunité, diarrhée, vaccination. XVe journal technique des GTV, Bourgogne, Autin, .5-19.

- McBeath, D. G., W. J. Penhale, et al. (1971). An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content. *Veterinary Record*, **88**(11): 266-270.
- McGovern, P. T. (1974). Placental structure and transmission of maternal immunity. *Vet Rec*, **95**(25-26): 573-574.
- McGuirk, S. M. and M. Collins (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **20**(3): 593-603.
- Mechor, G. D., Y. T. Grohn, et al. (1992). Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. *Journal of Dairy Science*, **75**(11): 3131-3135.
- Molla, A. (1980). Estimation of bovine colostral immunoglobulins by refractometry. *Veterinary Record*, **107**(2): 35-36.
- Morin, D. E., P. D. Constable, et al. (2001). Factors associated with colostral specific gravity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **84**(4): 937-943.
- Morrill, K. M., E. Conrad, et al. (2012). Estimate of colostral immunoglobulin G concentration using refractometry without or with caprylic acid fractionation. *Journal of Dairy Science*, **95**(7): 3987-3996.
- Murakami, T., N. Hirano, et al. (1985). Transfer of antibodies against viruses of calf diarrhea from cows to their offspring via colostrum. *Nihon Juigaku Zasshi*, **47**(3): 507-510.
- Paris, T. N. N., G. Ouedraogo, et al. (1992). Intérêt de la gamma-glutamyl transférase sérique et de la protidémie totale pour le contrôle de la prise colostrale chez les veaux nouveaux-nés. *Receuil de Médecine Vétérinaire*, **168** (1): 43-47.
- Parish, S. M., J. W. Tyler, et al. (1997). Prediction of serum IgG1 concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **11**(6): 344-347.
- Parrish, D. B. (1950). Properties of the colostrum of the dairy cow. V. Yield, Specific gravity and concentrations of total solids and its various components of colostrums and early milk. *Journal of Dairy Science*, **33**(6): 457-465.
- Perino, L. J., R. L. Sutherland, et al. (1993). Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. *American Journal of Veterinary Research*, **54**: 56-59.
- Poppie, M. J. and T. C. McGuire (1976). Combined immunodeficiency with failure of colostral immunoglobulins transfer in foals. *Veterinary Record*, **99**(3): 44-46.
- Pritchett, L. C., C. C. Gay, et al. (1991). Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, **74**(7): 2336-2341.

- Pritchett, L. C., C. C. Gay, et al. (1994). Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentrations in Holstein colostrum. *Journal of Dairy Science*, **77**(6): 1761-1767.
- Quigley, J. D. (2001). Using a refractometer. Retrieved 30 aout, 2014, from Online available à www.calfnotes.com/pdffiles/CN039.pdf
- Quigley, J. D., 3rd, C. J. Kost, et al. (2002). Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Journal of Dairy Science*, **85**(5): 1243-1248.
- Quigley, J. D., 3rd, K. R. Martin, et al. (1994). Immunoglobulin concentration, specific gravity, and nitrogen fractions of colostrum from Jersey cattle. *Journal of Dairy Science*, **77**: 264-269.
- Quigley, J. D., A. Lago, et al. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, **96**(2): 1148-1155.
- Saif, L. J., D. R. Redman, et al. (1983). Passive immunity to bovine rotavirus in newborn calves fed colostrum supplements from immunized or nonimmunized cows. *Infection and Immunity*, **41**(3): 1118-1131.
- Sasaki, M., C. L. Davis, et al. (1976). Production and Turnover of IgG1 and IgG2 Immunoglobulins in the Bovine Around Parturition. *Journal of Dairy Science*, **59**(12): 2046-2055.
- Skrzypek, T., J. L. Valverde Piedra, et al. (2007). Gradual disappearance of vacuolated enterocytes in the small intestine of neonatal piglets. *Journal of physiology and pharmacology*, **58** (Suppl 3): 87-95.
- Stelwagen, K., E. Carpenter, et al. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*, **87**(Suppl 13): 3-9.
- Stott, G. H. and A. Fellah (1983). Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *Journal of Dairy Science*, **66**(6): 1319-1328.
- Stott, G. H., D. B. Marx, et al. (1979). Colostral Immunoglobulin Transfer in Calves. IV, Effect of Suckling. *Journal of Dairy Science*, **62**: 1908-1913.
- Straub, O. C. and W. Matthaeus (1978). The immunoglobulin composition of colostrum and the persistence of acquired immunoglobulins and specific antibodies in the calf. *Annales de Recherches Veterinaires*, **9**(2): 269-275.
- Thompson, J. C. and J. V. Pauli (1981). Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. *New Zealand Veterinary Journal*, **29**: 223-226.
- Tyler, J. W., D. D. Hancock, et al. (1996). Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **10**(5): 304-307.
- Vandeputte, S., J. Detilleux, et al. (2011). Comparison of four refractometers for the investigation of the passive transfer in beef calves. *J Vet Intern Med*, **25**(6): 1465-1469.

- Weaver, D. M., J. W. Tyler, et al. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14**(6): 569-577.
- Wilson, L. K., J. W. Tyler, et al. (1999). Prediction of serum IgG1 concentration in beef calves based on age and serum gamma-glutamyl-transferase activity. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **13**(2): 123-125.
- Wittum, T. E. and L. J. Perino (1995). Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. *American Journal of Veterinary Research*, **56**(9): 1149-1154.