



**HAL**  
open science

# FRÉQUENCE DE ESCHERICHIA COLI ENTÉROPATHOGÈNE K99+ ST + ET DU ROTAVIRUS DANS LES DIARRHÉES NÉONATALES DES VEAUX ENQUÊTE DANS UNE CLIENTÈLE VÉTÉRINAIRE DE LA SARTHE

J. de Rycke, Ph. Le Roux, Nathalie Melik, Patrick Raimbault

## ► To cite this version:

J. de Rycke, Ph. Le Roux, Nathalie Melik, Patrick Raimbault. FRÉQUENCE DE ESCHERICHIA COLI ENTÉROPATHOGÈNE K99+ ST + ET DU ROTAVIRUS DANS LES DIARRHÉES NÉONATALES DES VEAUX ENQUÊTE DANS UNE CLIENTÈLE VÉTÉRINAIRE DE LA SARTHE. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 1981, 12 (4), pp.403-411. <hal-00901349>

**HAL Id: hal-00901349**

**<https://hal.science/hal-00901349v1>**

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

## FREQUENCE DE *ESCHERICHIA COLI* ENTÉROPATHOGENE K99+ ST+ ET DU ROTAVIRUS DANS LES DIARRHÉES NÉONATALES DES VEAUX ENQUÊTE DANS UNE CLIENTÈLE VÉTÉRINAIRE DE LA SARTHE

J. DE RYCKE<sup>1</sup>, Ph. LE ROUX<sup>2</sup>, Nathalie MELIK<sup>3</sup> et P. RAIMBAULT<sup>2</sup>

<sup>1</sup> : Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Pathologie de la Reproduction, Nouzilly, 37380 Monnaie, France.

<sup>2</sup> : Praticiens, 72320 Vibraye, France.

<sup>3</sup> : Institut National de la Recherche Agronomique, Station de Virologie et d'Immunologie, 78850 Thiverval-Grignon, France.

### Summary

FREQUENCY OF ENTEROPATHOGENIC *E. COLI* K99+ ST+ AND ROTAVIRUS IN DIARRHOEA OF NEWBORN CALVES : A FIELD STUDY. — A clinical and microbiological study was carried out on 21 diarrhoeic calves less than 20 days old, belonging to 20 different farms in the French department of Sarthe. Each diarrhoeic calf was compared with a clinically healthy calf of the same age, from the same farm. Two visits were made : one during the acute phase of diarrhoea, the other 10 to 15 days later. Of the 21 diarrhoeic calves, nine died. On the first visit, rotavirus was found in faeces of 11 diarrhoeic calves and *E. coli* K99+ ST+ in faeces of three diarrhoeic calves, in two cases together with rotavirus. At the same time, rotavirus was found in the faeces of five control calves whereas *E. coli* K99+ ST+ was not present. On the second visit, rotavirus was detected in the faeces of one of the 12 surviving diarrhoeic calves and in the faeces of two control calves. No *E. coli* K99+ ST+ was found in any of the two groups.

Short duration antibiotic treatment (sulfonamide + colistin) carried out on the first visit did not result in increased resistance of *E. coli* to the ten antibiotics tested. On the contrary, cases of resistance to certain of these antibiotics were more frequent during the acute phase of illness (and before any treatment) than 10 to 15 days later. This fact was explained by the presence, in at least five cases, of multiresistant *E. coli* strains which disappeared with recovery.

L'étiologie des diarrhées infectieuses des veaux nouveaux-nés est variée et complexe. Les trois agents les plus fréquemment invoqués sont *Escherichia coli* entéropathogène K99+ ST+, les rotavirus et les coronavirus. Ces agents agissent le plus souvent en association. *E. coli* entéropathogène K99+ ST+ et les rotavirus ont été les plus étudiés

jusqu'ici. On dispose en effet de techniques permettant d'en faire le diagnostic en pratique courante. Les enquêtes épidémiologiques récemment effectuées en France (Bordas *et al.*, 1979 ; Contrepois *et al.*, 1979 ; Martel et Perrin, 1980 ; Perrin *et al.*, 1980 ; Ramisse, 1980 ; Scherrer *et al.*, 1976 ; Scherrer, 1979), mettent en évidence la grande fréquence des

colibacilles K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> chez les veaux diarrhéiques de moins de quatre jours et de rotavirus chez ceux de plus de quatre jours.

La présente enquête, réalisée dans une clientèle vétérinaire de type bovin laitier du département de la Sarthe, avait pour objet d'étude les diarrhées des veaux de moins de 20 jours. Nous avons recherché l'incidence des rotavirus et *E. coli* entéropathogènes, et étudié les résistances aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *E. coli* isolées. A l'enquête à grande échelle, difficile à interpréter faute de point de comparaison avec des animaux sains et de suivi individuel des veaux malades, nous avons préféré l'étude approfondie d'un nombre limité de cas. A cette fin, chaque veau diarrhéique (traité aux antibiotiques) a été comparé à un veau non diarrhéique (non traité) de la même exploitation et âgé de moins de trois semaines. De plus, tous les cas ont été suivis pendant une période d'observation de 10 à 15 jours à l'issue de laquelle de nouveaux prélèvements ont été effectués. La réalisation des antibiogrammes sur l'ensemble des souches de *E. coli* avait plusieurs objectifs :

- faire le point sur la fréquence globale des résistances dans le contexte particulier de cette enquête.
- disposer des « marqueurs » permettant de distinguer les colibacilles entre eux (au même titre que les biotypes).
- étudier l'incidence du traitement aux antibiotiques sur l'évolution des résistances.

En outre, cette étude a débouché sur la mise en évidence, dans les fèces des veaux diarrhéiques, de souches de *E. coli* pathogènes ne possédant pas les caractères K99 et ST. Cette étude fera l'objet d'une publication ultérieure.

## Matériel et Méthodes

L'enquête a été effectuée, de janvier à mars 1980, dans une clientèle vétérinaire du département de la Sarthe de type bovin laitier où prédominent les races Normande et Française Frisonne Pie Noire. L'étude a porté sur 21 cas de diarrhée de veaux de moins de 20 jours, concernant 20 exploitations différentes.

### Prélèvements et intervention du praticien

Le praticien, appelé par l'éleveur, prélevait des fèces du veau diarrhéique et d'un veau cliniquement sain de moins de 20 jours de la même exploitation. Il établissait une fiche clini-

que et commémorative détaillée. Les prélèvements étaient ensuite entreposés à 4 °C et acheminés à la même température au laboratoire dans un délai maximum de six jours. Les échantillons destinés à la virologie étaient alors congelés à - 30 °C.

Au cours de cette visite le praticien prescrivait le traitement standard suivant :

- diète complète pendant deux jours, avec remplacement du lait normal par un lait thérapeutique sans antibiotique,
- réhydratation intra-veineuse,
- antibiothérapie à base de sulfamides et de colistine par voie générale et *per os* pendant deux jours.

Dix à quinze jours plus tard, une deuxième visite était effectuée dans l'exploitation afin de connaître l'issue de la maladie et de faire de nouveaux prélèvements sur le veau malade, s'il avait survécu, et sur le veau témoin.

### Bactériologie

Pour la recherche des entérobactéries, deux milieux d'isolement ont été utilisés : le milieu de Drigalski pour l'isolement direct, et le milieu Salmonella-Shigella (SS) après culture d'enrichissement en milieu de Mueller-Kaufman (Institut Pasteur, Paris) pendant 18 h.

Sur le milieu de Drigalski, cinq à dix colonies fermentant le lactose étaient prélevées en tenant compte des différents aspects observés. S'il apparaissait des colonies ne fermentant pas le lactose, une à dix d'entre elles étaient prélevées suivant leur quantité sur la boîte. Sur le milieu SS, s'il apparaissait des colonies productrices d'H<sub>2</sub>S, cinq à dix d'entre elles étaient prélevées. Toutes les colonies étaient ensuite identifiées par les méthodes classiques. Chaque colibacille était biotypé sur la base des caractères suivants : mobilité, prototrophie, présence d'une ornithine décarboxylase, hydrolyse de l'esculine, fermentation de l'adonitol, du dulcitol, du raffinose et du rhamnose. Ces caractères sont en effet statistiquement les plus variables au sein de l'espèce *E. coli* (Ewing et Martin, 1974).

La détection des deux caractères K99 et ST était effectuée systématiquement sur toutes les souches de colibacilles isolées des veaux diarrhéiques lors de la première visite. Pour toutes les autres souches de colibacilles (provenant soit des veaux malades survivants lors de la deuxième visite, soit des témoins lors des deux visites), seul le caractère K99 était recherché.

L'antigène K99 était détecté par agglutination sur lame, avec l'antisérum spécifique, d'une culture de 18 h de la souche à étudier sur milieu Minca + polyvitex (Guinee *et al.*, 1977).

La détection de l'entérotoxine ST était effectuée par le test du souriceau nouveau-né (Dean *et al.*, 1972). Chaque souche soumise au test était cultivée en fiole de Erlenmeyer de 50 ml dans 10 ml de milieu de Evans (Evans *et al.*, 1970) sous agitation pendant 18 h à 37 °C. Les cultures étaient ensuite centrifugées à 7000 g pendant 30 min. Les surnageants de chaque souche d'un même prélèvement étaient ensuite mélangés pour être soumis au test. Cette technique rapide permet de détecter un surnageant positif parmi dix (Byer et Du Pont, 1979). Lorsque le mélange donnait un résultat positif, tous les surnageants constitutifs du mélange, préalablement stockés à -30 °C, étaient repris séparément et soumis au test. Chaque surnageant ou mélange de surnageants, additionné de bleu Evans, était alors donné par voie orale à quatre souriceaux de trois jours sous un volume de 0,05 ml. Après trois heures d'incubation à 25 °C, les souriceaux étaient sacrifiés au chloroforme et autopsiés pour établir le rapport : poids de l'intestin/poids du reste du corps. Le surnageant était déclaré positif pour la toxine ST lorsque ce rapport était égal ou supérieur à 0,09.

Les antibiogrammes de toutes les souches de *E. coli* isolées étaient effectués par la méthode de diffusion en gélose (Ericsson et Sherris, 1971), sur milieu de Mueller-Hinton (BioMérieux) avec les disques d'antibiotiques « Biodisks » (BioMérieux). La charge de chaque disque et le diamètre de la zone d'inhibition définissant le seuil de résistance sont les suivants : ampicilline (Ap) : 10 µg, 14 mm ; streptomycine (Sm) : 10 µg, 13 mm ; néomycine (Nm) : 30 µg, 15 mm ; chloramphénicol (Cm) : 30 µg, 15 mm ; tétracycline (Tc) : 30 µg, 23 mm ; minocycline (Mn) : 30 µg, 20 mm ; sulfadiazine (Su) : 1 mg, 25 mm ; triméthoprim-sulfaméthoxazole (TSu) : 1,25 µg + 23,75 µg, 13 mm ; gentamicine (Gm) : 10 µg, 15 mm ; colistine (Cl) : 10 µg, 8 mm.

### Virologie

Après décongélation, les échantillons étaient traités de la manière suivante pour la recherche des rotavirus :

— dilution des matières fécales du 1/10<sup>e</sup> dans de l'eau distillée stérile et clarification de

l'homogénat par centrifugation à 3000 g pendant 30 min à 4 °C.

— analyse des surnageants par la technique Elisa, méthode de détection de l'antigène rotavirus au moyen d'un conjugué à la phosphatase alcaline (Scherrer et Bernard, 1977). Les dilutions utilisées dans le test étaient 1/10, 1/100 et 1/1000

Les lectures étaient réalisées à l'aide d'un lecteur automatique Titertek (R) Multiskan à 405 nm.

Dans notre technique le seuil de signification se situe à environ 0,1 de densité optique. Les résultats sont exprimés sous une forme simplifiée et selon le barème suivant :

DO < 0,1	: rotavirus -
0,1 ≤ DO < 0,2	: ±
0,2 ≤ DO < 0,5	: +
0,5 ≤ DO < 1	: ++
DO ≥ 1,0	: +++.

### Résultats

#### 1. Recherche des rotavirus et des colibacilles entéropathogènes (tabl. 1)

L'étude a porté sur 21 cas de diarrhée affectant des veaux de 1 à 15 jours, dans 20 exploitations différentes : 16 veaux étaient de race Normande, trois de race FFPN et deux étaient des croisés Charolais-FFPN. Parmi eux, 14 étaient de sexe mâle.

Malgré le traitement, la mortalité a été importante : 9 veaux sur 21.

#### 1.1 Rotavirus

##### 1.1.1 Prélèvements de la première visite

Le rotavirus a été mis en évidence chez 11 veaux diarrhéiques dont deux fois en association avec *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> (cas 3 et 16). Ces deux derniers cas sont étudiés dans le paragraphe suivant. Les infections à rotavirus seul notées ++ et +++ (cf. matériel et méthodes) correspondaient à des symptômes cliniques graves. Sur les six veaux notés ++ et +++, cinq sont morts. Les infections notées + correspondaient à des symptômes peu graves, suivis de guérison. Sur les neuf veaux témoins correspondant aux veaux malades excréant du rotavirus seul, trois excrétaient également du rotavirus. Il convient à ce propos de remarquer que le veau témoin n° 6, noté +, avait une légère diarrhée. Dans les deux autres cas (n° 1 et 2), les veaux témoins excrétaient le virus en grande quantité (+++). Toutefois, aucun d'eux n'a présenté de diarrhée pendant l'intervalle de surveillance. Le veau témoin du cas 2 avait trois semaines. Le veau

Tableau 1. — Evolution clinique des diarrhées et isolement du rotavirus et de *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> dans les fèces des veaux diarrhéiques et témoins lors des deux visites.

no.	race <sup>a</sup>	sexe <sup>b</sup>	âge (j)	Veau diarrhéique		Rotavirus <sup>d</sup>				<i>E. coli</i> <sup>f</sup> K99 <sup>+</sup> ST <sup>+</sup>	
				1 <sup>re</sup> visite	2 <sup>e</sup> visite	1 <sup>re</sup> visite		2 <sup>e</sup> visite		1 <sup>re</sup> visite	
				gravité <sup>c</sup>	survie	VD <sup>e</sup>	VT <sup>e</sup>	VD <sup>e</sup>	VT <sup>e</sup>	VD <sup>e</sup>	VT <sup>e</sup>
1	FFPN	F	10-15 <sup>g</sup>	+++	mort	+++	++	... <sup>h</sup>	-	-	-
2	N	F	14	+++	mort	+++	++	...	NF <sup>j</sup>	-	-
3	N	M	3	+++	mort	+++	-	...	-	+	-
4	N	M	5	+++	mort	-	-	...	-	-	-
5	C	M	4	+++	+	-	±	-	-	-	-
6	N	M	5	++	mort	+++	+ <sup>i</sup>	...	NF	-	-
7	N	M	10	++	mort	++	-	...	-	-	-
8	N	F	15	++	mort	++	-	...	-	-	-
9	FFPN	F	12	++	mort	-	-	...	+	-	-
10 <sup>k</sup>	C	M	1	++	mort	-	-	...	-	-	-
11 <sup>l</sup>	N	M	9	++	+	-	+	±	-	-	-
12	N	M	11	++	+	+	-	-	-	-	-
13	N	M	7	++	+	-	-	-	-	+	-
14	N	F	11	++	+	-	-	-	-	-	-
15 <sup>l</sup>	N	F	15	++	+	-	-	-	-	-	-
16	FFPN	M	10	+	+	+++	-	-	-	+	-
17	N	M	9	+	+	+++	-	-	-	-	-
18	N	M	10-15 <sup>g</sup>	+	+	+	-	-	-	-	-
19	N	M	5	+	+	±	-	-	+	-	-
20	N	M	10	+	+	-	-	-	-	-	-
21	N	M	2	+	+	-	-	-	-	-	-

a : N, normande ; C, croisée Charolais × Française Frisonne Pie Noire ; FFPN, Française Frisonne Pie Noire.

b : M, mâle ; F, femelle.

c : +++ : état général très affecté (abattement, anorexie, déshydratation avancée, bouche et extrémités froides) ; ++ : état général moyennement affecté (abattement, appétit conservé, bouche et extrémités chaudes) ; + : état général peu ou pas affecté (signes de diarrhée seulement).

d : +++ : DO ≥ 1,0 ; ++ : 0,5 ≤ DO < 1 ; + : 0,2 ≤ DO < 0,5 ; ± : 0,1 ≤ DO < 0,2 ; - : DO < 0,1 (cf. matériel et méthodes).

e : VD, veau diarrhéique ; VT, veau témoin.

f : aucun *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> à la 2<sup>e</sup> visite.

g : âge indéterminé entre 10 et 15 j.

h : ..., mort avant la seconde visite.

i : le veau témoin du cas 6 présentait une très légère diarrhée.

j : NF, non fait.

k : *Proteus* et *Citrobacter* prédominant dans les fèces.

l : les cas 11 et 15 sont apparus dans la même exploitation à 2 mois d'intervalle.

témoin du cas 1 avait été acheté le même jour que le veau malade et auprès du même éleveur. Par ailleurs, deux veaux témoins excrétaient du rotavirus alors que les veaux malades correspondants n'en excrétaient pas (n° 11 et 5).

### 1.1.2 Prélèvements de la seconde visite

Les veaux malades excrétaient du rotavirus lors de la première visite et qui ont survécu n'en excrétaient plus lors de la deuxième visite, 10 à 15 jours plus tard. Par contre, dans un cas (n° 11) le prélèvement de la seconde visite a été positif alors qu'il avait été négatif à la première visite. Parmi les veaux témoins deux seulement excrétaient du rotavirus à la deuxième visite (n° 9 et 19) sur les 19 prélèvements analysés.

En définitive, le rotavirus a été isolé dans 13 exploitations sur 20. Les veaux excrétaient le

rotavirus avaient de 3 à 15 jours avec une incidence plus forte entre 10 et 15 jours, l'infection regressant sensiblement ultérieurement.

### 1.2 *E. coli* entéropathogènes

*E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> a été détecté :

— en association avec le rotavirus dans deux cas : n° 3 et 16. Dans le cas n° 3, deux souches de *E. coli* sur les cinq isolées étaient de type K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. L'infection à rotavirus avait une intensité + + +. Le veau âgé de trois jours est mort. Dans le cas n° 16, trois souches de *E. coli* sur les six isolées étaient de type K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. L'infection à rotavirus était également d'intensité + + +. Par contre, le veau, âgé de 10 jours, a survécu.

— en l'absence de rotavirus, dans un cas, n° 13, cinq souches de *E. coli* sur six étaient de

Tableau 2. — Répartition des antibiorésistances des souches de *E. coli* isolées lors de la première visite chez les veaux diarrhéiques et les veaux témoins, et isolées lors de la première et de la seconde visite chez les veaux diarrhéiques ayant survécu.

	Ensemble des souches isolées (341) <sup>a</sup>	1 <sup>re</sup> visite		Veaux diarrhéiques ayant survécu	
		veaux témoins (100 souches)	veaux diarrhéiques (95 souches)	1 <sup>re</sup> visite (57 souches)	2 <sup>e</sup> visite (55 souches)
<b>Antibiorésistances</b>					
ampicilline	249 (73) <sup>b</sup>	73 (73)	67 (70)	35 (61)	41 (75)
tétracycline	191 (56)	50 (50)	57 (60)	36 (63)	38 (69)
sulfamides	140 (41)	49 (49)	59 (62)	45 (79)	27 (49)*
streptomycine	140 (41)	33 (33)	47 (49)	33 (58)	31 (56)
chloramphénicol	89 (26)	28 (28)	37 (39)	29 (51)	13 (24)*
néomycine	68 (20)	20 (20)	30 (32)	23 (40)	11 (20)*
minocycline	17 (5)	7 (7)	4 (4)	0 (0)	3 (5)
triméthoprim-sulfaméthoxazole	17 (5)	4 (4)	7 (7)	7 (13)	1 (2)*
gentamicine	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
colistine	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>Nombre de résistances par souche</b>					
0	38 (11)	11 (11)	9 (9)	5 (9)	2 (4)
1	95 (28)	34 (34)	19 (20)	8 (14)	16 (29)*
2	34 (10)	12 (12)	7 (7)	4 (7)	1 (2)
3	58 (17)	13 (13)	17 (18)	9 (16)	12 (22)
4	31 (9)	6 (6)	9 (9)	7 (12)	9 (16)
5	34 (10)	7 (7)	12 (13)	7 (12)	10 (18)
6	27 (8)	8 (8)	9 (9)	7 (12)	3 (6)
7	24 (7)	9 (9)	13 (14)	10 (18)	2 (4)*

\* : différence entre 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> visites significative (P < 0,05)

a : nombre incluant les souches isolées des veaux diarrhéiques et des veaux témoins lors des deux visites.

b : nombre de souches (pourcentage)

type K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. Le veau, âgé de sept jours, a survécu.

Il convient de remarquer que, à l'intérieur de chaque cas, *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> ont des biotypes et antibiogrammes identiques, donc qu'il s'agit probablement d'une seule et même souche.

Aucune des souches de *E. coli* isolées des veaux témoins et des veaux malades survivants à la deuxième visite ne possédait le caractère K99.

Les biotypes des souches de *E. coli* étaient très variés, aucun biotype prédominant n'apparaissant tant sur l'ensemble des souches que sur celles isolées des veaux malades. En règle générale, chaque veau hébergeait plusieurs biotypes.

Cependant, certains veaux malades hébergeaient un biotype unique ou nettement prédominant (en dehors de *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>), ce qui suggère un rôle pathogène pour ces souches.

### 1.3 Entérobactéries autres que *E. coli*

Dans tous les cas, sauf un, les colonies prélevées correspondaient essentiellement à des colibacilles. L'exception concerne le veau n° 10 d'où on a isolé presque exclusivement des *Proteus* (*P. vulgaris* et *P. morgani*) et des *Citrobacter*. Ce veau de un jour, traité aux antibiotiques à la naissance par l'éleveur, n'a pas survécu. Le traitement « préventif » a sans doute détruit certaines espèces de la flore normale, dont les colibacilles, permettant ainsi la prolifération des *Proteus* et des *Citrobacter*.

Aucune salmonelle n'a été isolée dans notre enquête.

## 2. Résistance de *E. coli* aux antibiotiques (tabl. 2)

### 2.1 Comparaison des veaux diarrhéiques et des veaux témoins à la première visite

A la première visite, c'est-à-dire avant le traitement aux antibiotiques, les pourcentages de résistance des souches isolées des veaux diarrhéiques sont supérieurs à ceux des veaux sains pour la plupart des antibiotiques. Il en est de même pour les fréquences des résistances à plus de deux antibiotiques. Cependant, les différences prises une à une, ne sont pas significatives ( $P > 0,05$ ).

### 2.2 Comparaison avant et après le traitement aux antibiotiques pour les veaux diarrhéiques qui ont survécu

Les résistances de *E. coli* aux sulfamides, au chloramphénicol, à la néomycine et à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole sont significativement supérieures à la première visite, avant l'antibiothérapie, qu'à la seconde visite, 15 jours plus tard. Il en est de même pour les souches résistantes à sept antibiotiques ( $P < 0,05$ ). Le traitement antibiotique n'a donc pas provoqué d'augmentation des résistances, après un délai de 10 à 15 jours. Au contraire, il apparaît qu'un certain nombre de souches multirésistantes présentes au moment de la diarrhée ont disparu, par la suite, de la flore dominante. Ce fait est particulièrement net, lorsqu'on analyse chaque cas individuellement, pour cinq veaux (n° 13, 14, 16, 18, 19). Pour le veau n° 13, la souche multirésistante, de type K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> est résistante aux antibiotiques suivants : ampicilline, streptomycine, néomycine, chloramphénicol, tétracycline, minocycline et sulfamides. Toutes les souches isolées du veau sain correspondant sont par contre entièrement sensibles. De même, la souche entéropathogène du veau n° 16 possède deux résistances de plus (néomycine et triméthoprime-sulfaméthoxazole) que les souches non pathogènes isolées du même veau ou de son congénère sain. Cependant cette diminution des résistances multiples entre la première et la deuxième visite s'observe également, à un moindre degré, chez les veaux témoins. Ainsi la fréquence des souches résistantes aux sulfamides des veaux témoins passe-t-elle de 49 % (49 souches sur 100) à la première visite à 33 % (30 souches sur 91) à la deuxième visite. Ceci explique pourquoi, dans le tableau 2, le pourcentage de résistance aux sulfamides sur la totalité des souches (41 %) apparaît plus faible que celui des souches de la première visite (49 % pour les veaux sains et 62 % pour les veaux malades).

## Discussion

L'incidence économique de la diarrhée des veaux nouveaux-nés apparaît dans le taux élevé de mortalité (9/21), et ceci malgré le traitement.

Le rotavirus a été mis en évidence dans 11 cas de diarrhée sur 21, ce qui correspond à 13 exploitations sur 20. Ces résultats sont en

accord avec ceux des enquêtes précédemment effectuées en France : le rotavirus est isolé dans 50 à 60 % environ des cas de diarrhée des veaux de moins de 20 jours (Scherrer *et al.*, 1976 ; Scherrer, 1979 ; Perrin *et al.*, 1980). Dans l'enquête que nous présentons, le rotavirus a été retrouvé chez sept veaux présumés sains sur 21, donc à une fréquence supérieure à celle donnée par l'une des études citées, à savoir 7 % (Scherrer *et al.*, 1976). Cette différence peut s'expliquer par la disparité des conditions de prélèvement des veaux témoins : dans notre enquête le veau témoin était toujours en contact plus ou moins étroit avec le malade. Par ailleurs on a noté qu'il existe une certaine corrélation pour les veaux malades, entre le niveau d'infection à rotavirus et la gravité des symptômes. Cependant l'existence de veaux témoins excréteur de grandes quantités de virus sans signe clinique (veaux témoins n° 1 et 2) suggère que le pouvoir pathogène des rotavirus est variable suivant les souches et aussi qu'il dépend d'autres facteurs restant à analyser. En outre, on observe une diminution assez nette de la fréquence d'isolement du rotavirus à la deuxième visite. Il est probable en effet que la réceptivité des veaux au rotavirus décroît à partir de l'âge d'un mois, ainsi que l'indique le très faible pourcentage d'isolement positif chez les adultes (Scherrer, 1979).

*E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> a été isolé dans trois cas, dont deux en association avec le rotavirus. Cette incidence est en accord avec les chiffres actuellement publiés concernant les veaux de 0 à 20 jours, à savoir 10 à 15 % (Bordas *et al.*, 1979 ; Martel et Perrin, 1980 ; Ramisse, 1980). Il est généralement admis que cette fréquence est notablement supérieure pour les veaux de moins de quatre jours, soit 50 % environ (Contrepois *et al.*, 1979). L'échantillon des veaux étudiés dans notre enquête est fortement biaisé en faveur des veaux de plus de 4 jours (17 contre 4). Cependant, sur les trois veaux excréteur *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>, deux ont plus d'une semaine.

Il est possible que la faible incidence des *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> soit due au manque de sensibilité de notre méthode de détection (sur cinq à dix colonies d'origine fécale). Si cela avait été matériellement possible, il aurait été plus rigoureux d'effectuer le dépistage sur des prélèvements duodénaux provenant de veaux morts. Par ailleurs, certains échantillons ont été entreposés 6 jours à 4 °C avant l'étude

bactériologique. Or il est possible que ce délai, relativement long, ait entraîné des remaniements dans la flore fécale, dont l'élimination de certaines souches de *E. coli*. Un autre obstacle, souvent mentionné, à la détection de *E. coli* K99<sup>+</sup> est le défaut d'expression de l'antigène K99 *in vitro* et l'auto-agglutinabilité de certaines souches (Martel *et al.*, 1981). La détection de la toxine ST par le test du souriceau nouveau-né permettait, dans notre étude, de remédier à ces inconvénients, du moins pour les souches provenant des fèces des veaux diarrhéiques. Nous avons trouvé 4 souches de *E. coli* autoagglutinables sur les 341 souches étudiées, aucune ne provenant de fèces de veau diarrhéique.

Sur les 21 cas étudiés dans notre enquête, et dans la limite de nos méthodes, neuf ne peuvent être imputés au rotavirus ou à *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. Cette enquête aurait pu être complétée par la recherche des autres agents actuellement invoqués, tels que *Campylobacter*, coronavirus et cryptosporidies. Cependant, nous avons pris l'option de rechercher le pouvoir pathogène de souches de *E. coli* ne possédant pas les caractères désormais classiques K99 et ST. Pour cette recherche nous avons retenu les souches, caractérisées par leur biotype, qui prédominaient dans les prélèvements des veaux diarrhéiques et qu'on ne retrouvait pas chez les veaux témoins correspondants. La même option méthodologique a été appliquée aux souches multirésistantes présentes pendant la diarrhée et qui disparaissaient par la suite. Les souches ainsi sélectionnées sont actuellement soumises à des tests *in vitro* (pouvoir d'adhérence sur villosités intestinales, résistance au sérum de veau nouveau-né) et surtout *in vivo* (pouvoir pathogène sur le souriceau nouveau-né, sur la souris adulte et sur l'agneau).

L'étude des résistances aux antibiotiques démontre que les colibacilles sont en général résistants à un ou plusieurs antibiotiques tout en restant parfaitement sensibles à la colistine et à la gentamicine et, à un moindre degré, à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et à la minocycline. La pression de sélection exercée sur la flore par le traitement aux sulfamides et à la colistine n'a pas produit d'augmentation des résistances 10 à 15 jours après l'administration. Aucune résistance plasmidique à la colistine n'étant connue, un effet de cosélection de multirésistances plasmidiques n'était pas à attendre. Quant à l'effet sélec-

tionnant des traitements sulfamidés, bien que peu étudié, il ne semble pas considérable (Renault et Ducourneau, 1975). Le cas du veau n° 10 met par ailleurs en évidence le rôle néfaste de l'administration irraisonnée d'antibiotiques dès la naissance, qui peut induire une destruction partielle de la flore barrière intestinale et, par suite, l'envahissement par des germes résistants indésirables. Il est bon de rappeler à ce propos que les *Proteus* sont naturellement résistants à la colistine. Le veau n° 10 était, à notre connaissance, le seul à avoir subi un tel traitement préalablement à notre visite.

Un fait très intéressant de cette étude est la disparition de certaines souches multirésistantes présentes pendant la diarrhée. On peut

penser que ces souches sont les témoins d'un état de déséquilibre temporaire de la flore digestive accompagnant la diarrhée, ou encore qu'à l'instar des souches entéropathogènes K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> elles possèdent des facteurs de virulence associés aux plasmides de résistance aux antibiotiques.

*Accepté pour publication, le 3 décembre 1981.*

### Remerciements

Les auteurs remercient MM. Plommet et Scherrer pour les suggestions apportées lors de la rédaction du manuscrit.

### Résumé

Une étude clinique et microbiologique a été entreprise sur 21 veaux diarrhéiques de moins de 20 jours appartenant à 20 exploitations différentes du département de la Sarthe. Chaque veau diarrhéique était comparé à un veau cliniquement sain du même âge et de la même exploitation. Deux visites étaient effectuées par le praticien : l'une pendant la phase aiguë de la diarrhée, l'autre 10 à 15 jours plus tard. Sur les 21 veaux diarrhéiques, 9 sont morts. A la première visite 11 excrétaient du rotavirus et trois *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> (dont deux en association avec le rotavirus). Au même moment, 5 des 21 veaux témoins excrétaient du rotavirus et aucun *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. A la deuxième visite, un seul des 12 veaux diarrhéiques survivant excrétaient du rotavirus, contre deux veaux témoins sur 21. Aucun veau n'excrétait alors *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup>. L'antibiothérapie de courte durée (sulfamides et colistine), effectuée lors de la première visite n'a pas entraîné d'augmentation des résistances aux antibiotiques de *E. coli* entre la première et la deuxième visite. Au contraire, les fréquences de résistance vis-à-vis de certains antibiotiques étaient significativement supérieures pendant la phase aiguë de la maladie (et avant tout traitement) que 10 à 15 jours plus tard. Ce fait a été expliqué par l'existence, dans 5 cas au moins, de souches de *E. coli* multirésistants disparaissant avec la guérison de la diarrhée.

### Références

- BORDAS C., BILLARDON G., TEYSSÉDRE J.P., DELLAMAGGIORE P., 1979. Enquête sur les affections néonatales des veaux dans le département de la Nièvre de 1975 à 1978. *Bull. Soc. Vét. Prat.*, **63**, 557-587.
- BYER P.A., DU PONT H.L., 1979. Pooling method for screening large numbers of *E. coli* for production of heat-stable enterotoxin and its application in field studies. *J. Clin. Microbiol.*, **9**, 541-543.
- CONTREPOIS M., DUBOURGUIER H.C., BORDAS C., GOUET Ph., 1979. *E. coli* K99<sup>+</sup> ST<sup>+</sup> et diarrhée du veau. *Rec. Med. Vét.*, **155**, 553-558.
- DEAN D.G., CHING Y.C., WILLIAM R.G., HARDEM L.B., 1972. Test for *E. coli* enterotoxin using infant mice. Application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *J. Infect. Dis.*, **125**, 407-411.
- ERICSSON H.M., SHERRIS J.C., 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. B.*, suppl. 217, 90 pp.
- EVANS D.G., EVANS D.J., PIERCE N.F., 1970. Differences in the response of rabbit small intestine to heat stable enterotoxins of *E. coli*. *Infect. Immun.*, **7**, 873-880.
- EWING W.H., MARTIN W.J., 1974. Enterobacteriaceae. In : LENNETTE E.H., SPAULDING E.H., TRUANT J.-P., *Manual of Clinical Microbiology*, 2nd ed. 189-221, American Society of Microbiology, Washington.

- GUINEE P.A.M., VELDKAMP J., JANSEN W.H., 1977. Improved minca medium for the detection of K99 antigen in calf enterotoxigenic strains of *E. coli*. *Infect. Immun.*, **15**, 676-678.
- MARTEL J.L., PERRIN B., 1980. *E. coli* K99<sup>+</sup> et rotavirus dans le syndrome diarrhée néo-natale du veau en France. Bilan d'une campagne de diagnostics (1979-1980). *Bull. Soc. Vét. Prat.*, **64**, 729-753.
- MARTEL J.L., CONTREPOIS M., DUBOURGUIER H.C., GIRARDEAU J.P., GOUET PH., BORDAS C., HAYERS F., QUILLERET-ELIEZ A., RAMISSE J., SENDRAL R., 1981. Fréquence de l'antigène K99 et antibiorésistance chez *E. coli* d'origine bovine en France. *Ann. Rech. Vét.*, **12**, 253-257.
- PERRIN B., SOLSONA M., LONGCHAMBON D., 1980. Incidence en France du rotavirus dans les diarrhées néo-natales des veaux. *Bull. Acad. Vét. Fr.*, **53**, 421-427.
- RAMISSE J., 1980. Résultat d'une enquête départementale : la diarrhée des veaux. *Point Vét.*, **11**, 53-61.
- RENAULT L., DUCOURNEAU A., 1975. Résistance aux sulfamides des *E. coli* de la flore intestinale de poulets de chair recevant dans leur alimentation un coccidiostatique à base ou non de sulfamides. *Rev. Méd. Vét.*, **126**, 183-191.
- SCHERRER R., 1979. Méthodes de diagnostic des infections à rotavirus et données épidémiologiques. *Journées de Vichy sur les gastroentérites néo-natales du veau*. Société Française de Buiatrie, Vichy, 25-26 octobre 1979, 107-117.
- SCHERRER R., COHEN J., L'HARIDON R., FEYNEROL C., FAYET J.C., 1976. Reovirus-like agent (rotavirus) associated with neonatal calf gastro-enteritis in France. *Ann. Rech. Vét.*, **7**, 25-31.
- SCHERRER R., BERNARD S., 1977. Application d'une technique immunoenzymologique (Elisa) à la détection du rotavirus bovin et des anticorps dirigés contre lui. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, **128 A**, 499-510.