

INTÉRÊT DE LA BACTÉRIOLOGIE DU LAIT CHEZ DES VACHES PRÉSUMÉES SAINES DANS LE DERNIER MOIS DE LACTATION EN VUE DU TRAITEMENT SÉLECTIF AU TARISSEMENT

INTEREST IN MILK BACTERIOLOGY IN PRESUMED HEALTHY COWS DURING THE LAST MONTH OF LACTATION FOR SELECTIVE DRY COW THERAPY

Par Nicolas GUIVARC'H¹

(Communication présentée le 6 avril 2023, Note acceptée le 14 juillet 2023)

Mots clés : Bactériologie, lait, tarissement, traitement sélectif, cellules somatiques, comptage cellulaire

Keywords: Bacteriology, milk, dry off, dry cow therapy, somatic cell, cell count

INTRODUCTION

La détermination du statut infectieux mammaire des vaches laitières en fin de lactation est primordiale pour justifier l'utilisation raisonnée des antibiotiques au moment du tarissement. Cette antibiothérapie raisonnée vise à réduire l'exposition des vaches aux antibiotiques, quantifiée à l'aide de l'indicateur utilisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) : l'ALEA (« *Animal Level of Exposure to Antimicrobials* ») ; elle doit également répondre aux différentes attentes des plans Écoantibio (1 et 2), avec l'optique d'une bonne gestion et prévention des infections intra-mammaires en élevage. Ainsi, la discrimination entre vaches saines et vaches infectées en fin de lactation est au cœur de la stratégie du traitement antibiotique sélectif au tarissement.

Il existe plus d'une centaine d'agents pathogènes intra-mammaires responsables de mammites (inflammation d'un ou de

plusieurs quartiers, induite le plus souvent par la pénétration d'un ou de plusieurs agents pathogènes dans le quartier via le canal du trayon). On distingue fréquemment les agents pathogènes majeurs, du fait de leur forte prévalence et forte importance clinique et économique, des agents pathogènes mineurs, qui ont une importance clinique modérée et pour lesquels une guérison peut avoir lieu spontanément en l'absence de traitement. On peut notamment citer pour le groupe des agents pathogènes majeurs *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, et *Streptococcus dysgalactiae* et pour les agents pathogènes mineurs, *Corynebacterium bovis* et les staphylococques à coagulase négative (SCN).

Du fait des impacts cliniques et économiques différents de ces agents pathogènes, il est nécessaire de déterminer si on doit prescrire une antibiothérapie uniquement chez les vaches infectées par un ou des agents pathogènes majeurs ou bien si toutes les vaches infectées par un agent pathogène, indépendamment de sa nature, doivent recevoir un traitement antibiotique.

1- Docteur Vétérinaire, GSAB - clinique vétérinaire de Plumélia, 36 Rue de la Libération, 56930 Plumélia-Bieuzy, France.
Courriel : nguivarchvet@gmail.com

Dans le but de réaliser cette antibiothérapie adaptée, la discrimination entre vaches saines et vaches infectées peut s'effectuer à partir d'un ou plusieurs critères de santé mammaire. Parmi ces critères, on retrouve notamment les concentrations en cellules somatiques (CCS) dans le lait et les résultats d'analyses bactériologiques sur échantillons de lait.

Basée sur l'utilisation de l'analyse bactériologique sur des prélèvements de lait chez des vaches présumées saines au moment du tarissement, cette étude avait quatre objectifs :

1. déterminer la prévalence des différents agents pathogènes intra-mammaires isolés chez ces femelles saines,
2. réactualiser les différents seuils de concentration en cellules somatiques en fonction des agents pathogènes afin de discriminer les vaches saines et infectées au tarissement,
3. confirmer l'intérêt d'une identification précise des germes par bactériologie en vue de la stratégie de traitement sélectif,
4. étudier les modalités de prélèvements et d'analyse des échantillons de lait.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des vaches laitières présumées saines au niveau de la mamelle sur la base d'une CCS faible (inférieure à 300 000 cellules/ml ou cell/mL) au moment du dernier contrôle laitier avant le tarissement, provenant de différents élevages et suivis par douze cliniques vétérinaires en France, ont été sélectionnées à raison de 15 animaux par élevage. Les quatre quartiers de 251 vaches laitières ont été prélevés séparément puis conjointement (prélèvement composite) par des vétérinaires et des éleveurs pour être analysés par le laboratoire Labocéa 35 (Fougères) à l'aide de la technique MALDI-TOF d'identification des agents pathogènes et dans les structures vétérinaires par des techniques décrites (Le Page & Poutrel, 2014 ; tests de coloration). La technique de prélèvement aseptique du lait choisie pour l'étude a été celle soumise par la Commission qualité du lait de la Société nationale des groupements techniques vétérinaires (SNGTV) en 2006 (Le Page & Faroult 2006).

Afin de répondre aux différents objectifs de l'étude, les résultats d'analyse des échantillons ont été appliqués à différentes échelles (quartier, individu), selon la nature des agents pathogènes mis en évidence (agent pathogène mineur, majeur) et également selon des critères individuels des vaches incluses dans l'étude (parité, niveau de production laitière).

RÉSULTATS

Sur les 251 vaches incluses dans l'étude et à partir des résultats d'analyses effectuées par le laboratoire Labocéa, 91 (36,2%) ont eu au moins un prélèvement contaminé au niveau de leurs quatre quartiers et ont été classées comme « contaminées » et exclues de l'analyse des données à l'échelle de l'individu. Parmi les 160 vaches incluses dans l'interprétation des données, 53 (33,1%) ont été qualifiées de « stériles » du fait de l'absence d'isolement bactérien dans les prélèvements de leurs quatre quartiers. Enfin, 107 (66,9%) vaches ont été classées « infectées » étant donné l'isolement d'au moins un germe

pathogène dans au moins un de leurs quartiers.

Les espèces bactériennes prédominantes à l'échelle de la vache, c'est-à-dire responsables des infections au moment du tarissement, ont été les staphylocoques à coagulase négative (SCN) avec une prévalence de 28,8% et *Corynebacterium bovis* (25,0%). Ce sont également ces agents pathogènes qui sont prédominants à l'échelle du quartier avec des prévalences respectives de 12,2% et 24,9%.

La moyenne des CCS des vaches infectées par *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus xylosus* a été respectivement de 136 300, 152 500, 186 000 et 195 600 cell/mL. Ces résultats moyens ont été, à l'échelle individuelle, significativement supérieurs à la moyenne des vaches non infectées (62 100 cell/mL).

À partir de l'étude des résultats des analyses bactériologiques des quatre quartiers de chacune des vaches et de leur taux de CCS dans le lait dans le dernier mois de lactation, il a été montré que le seuil de 50 000 cell/mL permet la meilleure discrimination du statut infectieux de chaque individu et cela quel que soit la nature de l'agent pathogène incriminé. En effet, la sensibilité (se), la spécificité (sp), la valeur prédictive négative (VPN) et la valeur prédictive positive (VPP) pour ce seuil sont respectivement de 86,9%, 56,6%, 68,2% et 80,2%. En prenant en considération la production laitière au dernier contrôle laitier avant le tarissement, les seuils de 50 000 cell/mL pour les fortes productrices et de 100 000 cell/mL pour les faibles productrices sont les plus robustes. De même pour le rang de lactation, l'utilisation des seuils de 50 000 cell/mL pour les primipares et de 100 000 cell/mL pour les multipares sont plus fiables pour distinguer les vaches saines et infectées au regard des intervalles de confiance respectifs des sensibilités, spécificités et valeurs prédictives (Tableau 1). Enfin, il n'y a pas eu de différence significative entre les seuils les plus robustes obtenus (basés sur la moyenne des trois derniers résultats de CCS dans le lait) et ceux basés sur le dernier résultat de CCS dans le lait avant le tarissement.

Cette étude a aussi montré que, chez des vaches classées « saines » selon les différents seuils de CCS au tarissement, la CCS post-vêlage a été significativement influencée par la nature de l'agent pathogène isolé et le type de traitement administré au moment du tarissement. Chez ces vaches, la moyenne de la CCS post-vêlage a été significativement plus élevée lors de l'administration seule d'obturateurs en présence de *Corynebacterium bovis* et *Staphylococcus chromogenes* pour toutes les vaches et celles faibles productrices, de *Staphylococcus chromogenes* pour toutes les vaches primipares et de *Streptococcus uberis* pour toutes les vaches multipares par rapport aux vaches infectées par ces agents pathogènes et traitées (antibiothérapie seule ou associée à la mise place d'obturateurs) au tarissement. Par exemple, les vaches classées « saines » selon le seuil de 50 000 cell/mL et n'ayant reçu que le seul obturateur dans chaque trayon, ont eu une CCS post-vêlage significativement supérieure en présence de *Corynebacterium bovis* (227 000 cell/mL) et *Staphylococcus chromogenes* (642 000 cell/mL) par rapport aux vaches infectées par ces mêmes agents pathogènes et traitées par des antibiotiques (respectivement 18 000 et 37 500 cell/mL).

Échelle vache (4 quartiers)	Seuil de CCS (cell/m)		Se		Sp		VPP		VPN		Index de Youden'
			%	IC (95%)							
Tout pathogène	>50 000		86,9	81,7-92,1	56,6	48,9-64,3	80,2	74,0-86,4	68,2	61,0-75,4	43,5
	>100 000		57,9	20,3-65,6	83,0	77,2-88,8	87,3	82,2-92,4	49,4	41,7-57,1	40,9
	>150 000		41,1	33,5-48,7	94,3	90,7-97,9	93,6	89,8-97,4	44,2	36,5-51,9	35,4
	>200 000		26,2	19,4-33,0	98	96,0-100	96,5	93,7-99,3	39,7	32,1-47,3	24,2
Primipares (N=69)	>50 000		83,7	75,0-92,4	66,7	55,5-77,9	81,8	72,7-90,9	69,6	58,7-80,5	50,4
	>100 000		51,2	39,4-63,0	88,5	81,0-96,0	88,0	80,3-95,7	52,3	40,5-64,1	39,7
	>150 000		34,9	23,6-46,2	96,2	91,6-100	93,8	88,0-99,6	47,2	35,4-59,0	31,1
	>200 000		23,3	13,3-33,3	100	100	100	100	44,1	35,4-58,8	23,3
Multipares (N=72)	>50 000		89,0	82,6-95,4	44,4	34,2-54,6	79,2	70,8-87,6	63,2	53,2-73,2	33,4
	>100 000		62,5	52,5-72,5	77,8	69,2-86,4	86,9	80,0-93,8	46,7	36,4-57,0	40,3
	>150 000		45,3	35,1-72,5	92,6	87,2-98,0	93,5	88,5-98,5	41,7	31,6-51,8	37,9
	>200 000		28,1	18,9-37,3	96,3	92,4-100	94,7	90,1-99,3	36,1	26,2-46,0	24,4
Forte productrice >19,6 L (N=56)	>50 000		90,2	83,7-96,7	65,5	55,1-75,9	82,1	73,7-90,5	79,2	70,3-88,1	55,7
	>100 000		49,0	38,0-60,0	86,2	78,7-93,7	86,2	78,7-93,7	49,0	38,1-59,9	35,2
	>150 000		31,4	21,2-41,6	100	100	100	100	45,3	34,4-56,2	31,4
	>200 000		21,6	12,6-30,6	100	100	100	100	42,0	31,2-52,8	21,6
Faible productrice >19,6 L (N=60)	>50 000		83,9	75,9-91,9	45,8	34,9-56,7	78,3	69,3-87,3	55,0	44,1-65,9	29,7
	>100 000		66,1	55,7-76,5	79,2	70,3-88,1	88,1	81,1-95,1	50,0	39,1-60,9	45,3
	>150 000		50,0	39,1-60,9	87,5	80,3-94,7	90,3	83,8-96,8	42,9	32,0-53,8	37,5
	>200 000		30,4	20,3-40,5	95,8	91,5-100	94,4	89,4-99,4	37,1	26,5-47,7	26,2
Pathogène majeur	>50 000		100	100	30,1	23,0-27,2	12,1	7,0-17,2	100	100	30,1
	>100 000		50,0	42,3-57,7	56,1	48,4-63,8	9,9	5,2-14,6	92,1	87,9-96,3	6,1
	>150 000		42,9	35,2-50,6	71,9	64,9-78,9	12,8	7,6-17,9	92,9	88,9-96,9	14,8
	>200 000		35,7	28,3-43,1	83,5	77,8-89,3	17,2	11,4-23,0	93,1	89,2-97,0	19,2
Pathogène majeur et/ou SCN majeur	>50 000		85,2	79,7-90,7	34,0	26,6-41,4	39,7	32,1-47,3	81,8	75,8-87,8	19,2
	>100 000		55,6	47,9-63,3	61,3	53,8-68,8	42,3	34,6-50,0	73,0	66,1-79,9	16,9
	>150 000		42,6	34,9-50,3	77,4	70,9-83,9	48,9	41,2-56,6	72,6	65,7-79,7	20,0
	>200 000		29,6	22,5-36,7	87,7	82,6-92,8	55,2	47,5-62,9	71,0	63,0-78,0	17,3

Tableau 1 : Résultats de sensibilité (Se), spécificité (Sp), valeur prédictive négative (VPN), valeur prédictive positive (VPP) et index de Youden des différents seuils de concentration en cellules somatiques dans le lait au moment du tarissement en fonction du type d'agent pathogène, de la parité et de la production laitière chez des vaches ayant une CCS < 300 000 cell/mL

DISCUSSION

Tout d'abord, sans prendre en considération la nature de l'agent pathogène, ni le critère individuel, le seuil le plus efficace (selon l'index de Youden, correspondant à : $Se + Sp - 100$) pour discriminer les vaches saines et infectées au moment du tarissement est de 50 000 cell/mL dans le cadre de notre étude. Selon ces critères, ce seuil fournit une valeur prédictive négative de 68,2% (la plus élevée de tous les seuils analysés), une valeur prédictive positive de 80,2%, une sensibilité de 86,9% et une spécificité de 56,6%. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Jashari, *et al.* (2016), avec des Se, Sp, VPP et VPN de 84,3%, 56,4%, 83,1%, et 58,4% pour le seuil de 50 000 cell/mL pour l'ensemble des agents pathogènes mammaires. L'obtention d'un seuil de CCS faible étant le plus fiable pour discriminer les vaches saines et infectées était prévisible dans la mesure où les infections à agents pathogènes mineurs entraînent des résultats de CCS dans le lait se situant majoritairement autour de 50 à 150 000 cell/mL (Bradley & Green 2005).

Dans cette étude, il apparaît pertinent de déterminer le seuil le plus efficace pour discriminer le statut infectieux des vaches sans considérer la nature exacte de l'agent pathogène responsable de l'infection. En effet, les index de Youden et les VPP de tous les seuils testés vis-à-vis des infections à agents pathogènes majeurs seuls et à des infections à agents pathogènes majeurs associés à des SCN majeurs ont été inférieurs au seuil de 50 000 cell/mL pour les infections à tout type d'agent pathogène intra-mammaire. Ce résultat s'explique facilement par la sélection de vaches à faibles CCS dans le lait au moment du tarissement, car les agents pathogènes majeurs engendrent des CCS dans le lait supérieurs à 200 000 cell/mL (Bradley & Green 2005).

Ensuite, la prise en compte de critères individuels (parité et niveau de production laitière au tarissement) a eu dans notre étude un impact sur le choix du seuil de CCS le plus efficace pour discriminer les vaches saines des vaches infectées. Cependant, les seuils les plus efficaces chez les primipares et les multipares ainsi que chez les fortes et faibles productrices, pour réaliser cette discrimination, ne possèdent pas des valeurs de sensibilités et de spécificités significativement différentes de celles du seuil de 50 000 cell/mL concernant l'ensemble de l'effectif. Dans leur étude, Lipkens *et al.* (2019) ont également montré que la parité et le niveau de production au tarissement étaient des paramètres influençant les valeurs caractéristiques des différents seuils. De même, Djabri *et al.* (2002), ont montré cet effet de la parité sur les seuils de CCS au moment du tarissement

mais sont arrivés à la conclusion que cette caractéristique individuelle avait un impact mineur dans le choix du seuil le plus efficace. Ainsi, l'utilisation ou non d'un critère individuel pour déterminer les seuils à appliquer pour discriminer les vaches saines et infectées n'apparaît pas pertinent selon nos résultats. Pour les vaches présumées saines au moment du tarissement, l'identification précise des germes par analyse bactériologique s'avère pertinente dans la mesure où certaines infections bactériennes, mentionnées précédemment, et non traitées par des antibiotiques, ont induit des concentrations en cellules somatiques significativement plus élevées après le vêlage. Berry et Hillerton (2002) ont également montré que les vaches infectées au tarissement par *Corynebacterium bovis* ou par un SCN étaient plus susceptibles de développer une nouvelle infection post-vêlage à *Streptococcus uberis* ou à coliformes. Plus récemment, Swinkels *et al.* (2021), ont montré que les vaches à faibles taux cellulaires (<200 000 cell/mL sur les 3 derniers mois de lactation), non traitées au tarissement et infectées par *Corynebacterium bovis*, avaient plus de risques à développer une infection causée par un agent pathogène mineur au moment du vêlage. Cependant, il n'a pas été possible de déterminer si les niveaux de CCS post-infectieux dans le lait après vêlage ont été engendrés par les bactéries isolées dans le dernier mois de lactation ou bien par une nouvelle infection au cours du tarissement car aucune analyse bactériologique sur le lait n'a été réalisée après vêlage.

CONCLUSION

À partir des résultats de cette étude, le meilleur seuil de CCS pour bien discriminer les vaches saines des vaches infectées par un agent pathogène intra-mammaire dans le dernier mois de lactation est le seuil de 50 000 cell/mL. Cependant, à partir de l'utilisation de ce seuil, environ 32% des vaches classées saines sont en réalité infectées et il a été montré que ne pas traiter certains agents pathogènes chez ces vaches a eu un impact négatif sur la santé mammaire (augmentation significative de la CCS) en début de lactation. Ainsi, en s'appuyant également sur l'utilisation de l'analyse bactériologique, la méthode la plus adéquate de traitement sélectif serait de traiter les vaches ayant une CCS au moment du tarissement supérieure à 50 000 cell/mL et de réaliser une analyse bactériologique en laboratoire vétérinaire sur les vaches ayant une CCS dans le lait inférieure à ce seuil. Cette méthode permettrait de traiter les vaches infectées par un agent pathogène intra-mammaire au moment du tarissement et de limiter le nombre de vaches traitées à tort, car saines, pour ainsi améliorer la santé mammaire au tarissement dans les élevages tout en garantissant une utilisation raisonnée des antibiotiques.

BIBLIOGRAPHIE

- Berry EA, Hillerton JE. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 2002; 85: 112–121.
- Bradley A, Green M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In *Pract.* 2005; 27: 310–315.
- Djabri B, Bareille N, Poutrel B, Beau-deau F, Ducelliez M, Seegers H. Accuracy of the detection of intramammary infection using quarter somatic cell count when taking parity and stage of lactation of the dairy cow into account. *Anim. Res.* 2002; 5: 135–148.
- Jashari R, Piepers S, De Vliegher S. Evaluation of the composite milk somatic cell count as a predictor of intramammary infection in dairy cattle. *J. Dairy*

Sci. 2016 ; 99 : 9271–9286.

- Le Page P, Faroult B. Quels prélèvements de lait pour le diagnostic bactériologique des mammites bovines ? Bulletin des GTV. 2006 ; 33 : 28–29.

- Le Page P, Poutrel B. L'analyse bactériologique du lait de mammite par la méthode de référence utilisant une gélose

non sélective et la coloration de Gram. Comptes-rendus des Journées Nationales GTV. 2014, pp. 87–92.

- Lipkens Z, Piepers S, De Visscher A, De Vlieghe S. Evaluation of test-day milk somatic cell count information to predict intramammary infection with major pathogens in dairy cattle at drying

off. J. Dairy Sci. 2019; 102: 4309–4321.

- Swinkels JM, Leach KA, Breen JE, Payne B, White V, Green MJ, *et al.* Randomized controlled field trial comparing quarter and cow level selective dry cow treatment using the California Mastitis Test. J. Dairy Sci. 2021; 104: 9063-9081.