

# Effet du traitement intramammaire des mammites subcliniques pendant la lactation en élevages bovins laitiers au nord-ouest de la Croatie

DJURICIC D.<sup>1\*</sup>, SAMARDZIJA M.<sup>2</sup>, GRIZELJ J.<sup>2</sup>, DOBRANIC T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pratique vétérinaire Djurdjevac S.A., Malinov trg 7, 48350 Djurdjevac, Croatie

<sup>2</sup> Clinique d'obstétrique et de reproduction, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Zagreb, Heinzelova 55, 10000 Zagreb, Croatie

Correspondance : Dražen Djuricic - Email : djuricic@vet.hr

**RÉSUMÉ :** Le but de cette étude était de déterminer les facteurs étiologiques des mammites subcliniques chez les vaches laitières et l'efficacité du traitement en cours de lactation. Les échantillons de lait (408 quartiers) ont été effectués dans des exploitations laitières de la province de Podravina, au nord-ouest de la Croatie. Toutes les vaches présentaient plus que 400.000 cellules somatiques par millilitre de lait. Les antibiotiques ont été choisis sur base des résultats d'antibiogrammes. Seuls 12,5 % des échantillons étaient négatifs à l'analyse bactériologique. Le traitement intramammaire, sans utilisation d'antibiotiques par voie parentérale, s'est avéré inefficace dans 34 % des cas.

## Introduction

Dans les troupeaux laitiers, les mammites subcliniques représentent la forme dominante des mammites et provoquent des pertes économiques importantes (Hillerton et Berry, 2003 ; Oliver *et al.*, 2004 ; Bacic, 2009). La mammite subclinique chez les vaches passe souvent inaperçue et donc ne pas être traitée pendant de longues périodes (Hillerton et Berry, 2003 ; Oliver *et al.*, 2004). Elle est détectée par la mesure de l'augmentation du nombre de cellules somatiques dans le lait (CCS, comptage de cellules somatiques) (Schukken *et al.*, 2003). Ces cellules somatiques du lait sont des lymphocytes, des macrophages, des polynucléaires (neutrophiles) et des cellules épithéliales. Si la limite de la concentration en cellules somatiques dans le lait cru est de 400.000 cellules/ml dans l'Union européenne et en Croatie, en revanche on considère 200.000 cellules/ml comme seuil de détection d'infection à l'échelle de l'animal (Hillerton et Berry, 2003 ; Schukken *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2005). Le contrôle mensuel du CCS s'avère utile pour détecter les vaches

présentant une mammite subclinique chronique. Selon de nombreux auteurs, l'antibiothérapie de la mammite subclinique pendant la lactation ne s'avère pas rentable puisque, dans la plupart des cas, il s'agit d'infections chroniques (Gruet *et al.*, 2001 ; Erskine *et al.*, 2003). Les études cliniques ont montré que le taux de guérison varie, selon les germes infectieux et la durée de l'infection, mais aussi selon les caractéristiques individuelles des vaches (Sol *et al.*, 1997 ; Deluyker *et al.*, 2005). Une mammite subclinique contagieuse peut représenter un risque important d'infection pour les autres vaches du troupeau (Zadoks *et al.*, 2001). La guérison thérapeutique de la mammite subclinique a une influence directe sur l'animal lui-même, mais également un effet indirect sur les autres animaux du troupeau, en réduisant leur exposition aux germes pathogènes. Un certain nombre d'auteurs ont identifié des stratégies visant à combattre la mammite subclinique dans les exploitations laitières, et bon nombre de ces stratégies visent le traitement de la mammite subclinique chronique

au niveau du quartier ou de la vache (Zadoks *et al.*, 2001 ; Hillerton et Berry, 2003 ; St Rose *et al.*, 2003 ; Oliver *et al.*, 2004 ; Deluyker *et al.*, 2005 ; Swinkels *et al.*, 2005).

Notre étude visait à établir l'étiologie des microbes responsables des mammites subcliniques chez les vaches dans la province nord-ouest de la Croatie et l'efficacité du traitement de ces mammites subcliniques pendant la lactation, sans traitement parentéral.

## Matériel et méthodes

Les prélèvements ont été effectués dans des élevages situés dans la province de Podravina, au nord-ouest de la Croatie, qui comptaient entre 5 et 74 vaches (âgées de 2 à 10 ans) des races suivantes : Simmental, Holstein-Friesian, Brown Swiss et croisées. La production laitière moyenne variait entre 4.500 et 9.200 kg par lactation. Toutes les vaches étaient traitées deux fois par jour. Le nombre moyen de lactations par vache était de 2,55 (en première lactation : 107 vaches, en deuxième : 83, en troisième : 48,

quatrième : 54, cinquième : 17, sixième : 11, de septième : 6 et une vache en huitième lactation).

Les vaches étaient hébergées en stabulation libre équipée de logettes ou maintenues à l'attache. Après la traite, la désinfection des trayons et le nettoyage étaient réalisés dans toutes les fermes. Le comptage des cellules somatiques a été réalisé dans un laboratoire agréé. Tous les troupeaux avaient des CCS mensuels moyens > 400.000/ml pendant l'étude. Les échantillons de lait ont été prélevés dans les quartiers de mamelle positifs sur des vaches sans symptômes cliniques de mammite. Avant l'échantillonnage, les premiers jets de lait étaient écartés. Les jets suivants étaient ensuite examinés avec le test de Zagreb (ressemblant au *California mastitis test*) (Bacic, 2009). En cas de réaction positive (c'est-à-dire en cas de changement de couleur ou de densité du mélange), après désinfection de l'extrémité du trayon (tampons de coton imbibé d'éthanol à 70 %), tous les échantillons de lait, transportés sur la glace et maintenus à 4 °C, étaient examinés dans les 12 heures après le prélèvement. L'antibiogramme et la détermination des germes microbiologiques ont été effectués selon le protocole CLSI (*Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals*; Approved Standard M31-A3, CLSI, 2008) à l'Institut vétérinaire national de Krizevci, Croatie, conformément aux protocoles standards. Le laps de temps entre le diagnostic de mammite subclinique et le traitement n'a pas été constant pour les raisons suivantes : les échantillons du lait sont pris régulièrement dans chaque élevage pour déterminer le nombre de CCS. Lorsque les résultats obtenus dépassaient les 400.000 CCS, une analyse bactériologique du lait était obligatoirement effectuée. Tous les comptages CCS ont été effectués dans le Laboratoire central de Contrôle du Lait, Križevačka Poljana, Croatie. Le traitement antibiotique administré a été choisi sur la base des résultats de l'antibiogramme. La réussite du traitement a été évaluée 3 à 4 semaines après la fin du traitement, et est conditionnée par des résultats négatifs d'analyse microbiologique et avec un CCS inférieur à 100.000 durant les 3 mois qui suivent le traitement (Linder *et al.*, 2013).

## Résultats

Un échantillon de 408 quartiers ont été prélevés sur 327 vaches (certains avaient deux (n = 29), trois (n = 5) ou tous les quatre quartiers (n = 2) infectés). Cinquante-et-un échantillons sur 408 (12,5 %) étaient négatifs d'un point de vue bactériologique. La microflore de l'environnement a été retrouvée dans 4,64 % des échantillons (n = 19). Trois cent trente-huit échantillons de lait (82,84 %) se sont avérés positifs à l'analyse bactériologique. La bactérie la plus fréquemment isolée dans les échantillons positifs était *Staphylococcus aureus* (164/408 – 40,20 % des échantillons) (tableau I).

Le traitement des mammites a ensuite été effectué sans usage parentéral d'antibiotiques selon les résultats de l'antibiogramme et les recommandations d'utilisation du produit. Dans 65,98 % des cas (223/338), le traitement antibiotique appliqué par voie intramammaire a été efficace. Par contre, le traitement dans 34,02 % des cas (115/338) des quartiers présentant une mammite subclinique ne s'est pas avéré efficace (tableau II).

## Discussion

La détection précoce et le traitement immédiat des mammites subcliniques est déterminant pour assurer un taux de guérison adéquat et une diminution des cellules somatiques dans le lait (Oliver *et al.*, 2004 ; Bacic, 2009). La mammite subclinique chronique influence la production laitière et le CCS du lait. Le traitement de la mammite subclinique est conseillé en période sèche car le traitement puis la guérison sont plus efficaces chez les vaches tarées. En général, un traitement antimicrobien de la mammite subclinique pendant l'allaitement n'est pas rentable car ces cas sont souvent chroniques (Gruet *et al.*, 2001 ; Erskine *et al.*, 2003 ; Bexiga *et al.*, 2011). De plus, le coût du traitement des vaches tarées est inférieur au coût d'un traitement en période de lactation car il ne nécessite pas de jeter le lait. Actuellement, il est recommandé de commencer dès que possible le traitement de la mammite subclinique pour prévenir la propagation ou la transmission des germes étiologiques sur la ferme et entre les fermes (Swinkels *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus*

**Tableau I** : agents pathogènes isolés dans les échantillons de lait provenant des quartiers présentant des mammites subcliniques (détectés grâce au test de Zagreb) et nombre de quartiers positifs à l'analyse bactériologique avant et après la fin du traitement par antibiothérapie intramammaire

agent pathogène	nombre de quartiers infectés	
	avant le traitement n = 338	3 semaines après la fin du traitement n = 115
<i>Bacillus spp.</i>	6	1
<i>E. coli</i>	25	1
<i>Enterobacter spp.</i>	8	1
<i>Klebsiella</i>	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	164	75
<i>Staphylococcus spp.</i>	62	24
<i>Streptococcus agalactiae</i>	14	2
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	39	5
<i>Streptococcus spp.</i>	10	2
<i>Candida albicans</i>	3	1
levure	2	1

**Tableau II** : résultats de l'antibiogramme en fonction de la sensibilité (S) ou de la résistance (R) des bactéries dans les échantillons analysés. Les chiffres dans les colonnes représentant le nombre d'échantillons répondant à ces critères.

antibiotique	résistance	<i>Bacillus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
amoxicilline/acide clavulanique	S	1	19	2	1		136	62	14	39	10
	R	2	3			1	54	22			
cefquinom	S	5	25	7	1	2	154	59	14	39	7
	R										
néomycine	S	4	10	2	1	3	107	24	1	2	1
	R		7	10		1	37	26	8	11	4
streptomycine	S	3	14	3	1	2	34	10	1	3	2
	R		7	12		1	79	41	8	11	4
tétracycline	S	3	10				80	11	2	17	4
	R	1	5	27	1	1	63	42	7	5	2
lincomycine	S	1					48	7	6	21	3
	R	2			1		68	47	3	1	2
cefalexine	S	1	2				45	6	13	23	3
	R	2	6	34	1	1	49	45	1		2
ampicilline	S	1	1				23	4	13	30	3
	R	2	6	41	1	1	50	47	1		2
sulfamides et triméthoprime	S			2				7		4	
	R	2	8	14	1	1	59	44	8	7	4
pénicilline	S	1					23	4	13	31	3
	R	2					50	47	1		2
kloxacillin	S	1					110	22	13	30	3
	R	1	3				13	29	1	1	2
polymixine B	S		8	1		2	2				
	R		2	2	1						
novobiocine	S	1					120	3	4	13	4
	R				1		2	24	2		2
enrofloxacin	S	3	16	7		2	50	3	3	20	4
	R				1						
gentamicine	S		6	4		1					
	R		3		1					36	
ceftioflur	S	3	10	2		1	60	11	5	24	1
	R				1						
kanamicin	S		1				18			1	1
	R	4									

est l'agent causal le plus souvent isolé lors de mammites subcliniques (Makovec et Ruegg, 2003 ; Pitkälä *et al.*, 2004 ; Karadjole *et al.*, 2011) dans le monde entier, et également dans notre étude, bien que sa prévalence soit en baisse. *S. aureus* possède plusieurs facteurs de virulence qui permettent à l'agent pathogène de survivre à l'intérieur des cellules, de se répandre dans les tissus de la mamelle, voire de produire des biofilms. Cela se traduit par des infections de longue durée qui peuvent persister à travers la lactation et pendant les lactations ultérieures. Pendant la lactation, le taux de guérison de la mammite subclinique causée par *S. aureus*, dans la littérature, varie largement entre 3,6 et 92 % (Sol *et al.*, 1997 ; Oliver *et al.*, 2004 ; Pitkälä *et al.*, 2004 ; Smith *et al.*, 2005 ; Swinkels *et al.*, 2005 ; Roy *et al.*, 2009 ; Karadjole *et al.*, 2011), ce qui peut indiquer que le choix des antibiotiques, mais aussi les caractéristiques individuelles des vaches, sont des facteurs importants pour la guérison. Il a été établi que le taux de guérison dépend de l'âge de la vache, du niveau de CCS au moment du traitement, de la position du quartier atteint et du stade de lactation (Sol *et al.*, 1997), ce qui veut dire que la guérison n'est pas un événement aléatoire (Erskine *et al.*, 2003). Dans notre étude, les taux de guérison des mammites subcliniques causées par *S. aureus* étaient de 54,26 %, alors qu'il était de 61,29 % pour les autres staphylocoques. D'autres études montrent un taux de guérison plus inférieur au 54,26 % (Sol *et al.*, 1997 ; Pitkälä *et al.*, 2004 ; Smith *et al.*, 2005 ; Swinkels *et al.*, 2005 ; Roy *et al.*, 2009 ; Karadjole *et al.*, 2011). Ces taux varient aussi selon le nombre de vaches dans la ferme. Il y a plus de risques de propagation de bactéries entre vaches dans les grandes exploitations par rapport aux petites fermes.

Les bactéries coliformes et streptocoques sont également des germes importants qui peuvent provoquer des mammites cliniques ou subcliniques (Hillerton et Berry, 2003 ; Makovec et Ruegg, 2003 ; Dogan *et al.*, 2006). Dans notre étude, des coliformes et des streptocoques ont été isolés dans 20 % des échantillons. La sélection des antibiotiques et leur utilisation appropriée et justifiée dans les cas de mammite subclinique causées par des pathogènes Gram négatif est une étape importante surtout dans les cas d'infection à *E. coli* qui a des taux élevés de guérison spontanée (Dogan *et al.*, 2006).

Un certain nombre d'auteurs ont identifié des stratégies visant à combattre les mammites subcliniques sur les fermes laitières impliquant un traitement antibiotique sur des cas chroniques pendant la lactation (Zadoks *et al.*, 2001 ; Oliver *et al.*, 2004 ; Deluyker *et al.*, 2005 ; Swinkels *et al.*, 2005). En Suède, *S. aureus*, *S. dysgalactiae* et *S. uberis* sont souvent diagnostiqués dans les cas de mammite subclinique. Toutes les souches de streptocoques et la plupart (> 80 %) des souches de *S. aureus* isolées de ces cas étaient sensibles à la pénicilline (St Rose *et al.*, 2003), ce qui est semblable à nos résultats. Dans d'autres études similaires, le taux de guérison était basé uniquement sur des analyses bactériologiques de lait jusqu'à 60 jours après traitement. Cette méthode de 60 jours est plus longue que celle utilisée dans notre étude où le contrôle a été fait après 3 semaines et sans doute plus précise pour des cas chroniques comme ceux associés à *S. aureus*. Pour avoir une évaluation optimale du taux de guérison, il faudrait aussi suivre sur le long terme des facteurs comme le comptage des cellules somatiques (CCS), la production laitière, le risque d'occurrence d'un nouveau cas de mammite clinique (Deluyker *et al.*, 2005).

## Conclusion

Le traitement appliqué selon l'antibiogramme et les recommandations d'utilisation du produit, sans usage d'antibiotiques par voie parentérale, a été efficace pour 65,98 % des quartiers infectés subcliniquement. Nous suggérons donc que le traitement en cours de lactation de la mammite subclinique pourrait être adopté dans les troupeaux où les valeurs de CCS sont très élevées, impliquant une baisse de prix du lait. Par contre, nos résultats montrent qu'il est difficile après un traitement antibiotique par voie intramammaire adéquat d'obtenir un bon taux de guérison, lorsque les agents pathogènes responsables de la mammite subclinique sont des staphylocoques ou des levures.

### Effect of intramammary treatment of bovine subclinical mastitis during lactation on small and middle scale farms in northwestern Croatia

#### SUMMARY

The aim of the study was to determine causative agents of bovine subclinical mastitis and efficacy of treatment during lactation. Milk samples were taken from 408 udder quarters on small and middle size farms, in the province of Podravina, northwestern part of Croatia. All cows had > 400.000 somatic cells per millilitre of milk. Only 12.5 % of samples were bacteriological negative. Antibiogram was performed using chemotherapeutics based on sensitivity results. Treatment, with no use of parenteral antibiotics, was successful in 66 % of cows, while subclinical mastitis remained uncured in 34 %.

## BIBLIOGRAPHIE

- BACIC G. Les causes de la mammité. In : Bacic G., Macesic N., Vince S. (Eds), Diagnostic et traitement des mammites chez les bovins. Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Zagreb : Zagreb, 2009, 29-42.
- BEXIGA R., ELLIS K.A., VILELA C.L., MELLOR D.J. Deterministic model to evaluate the impact of lactational treatment of subclinical mastitis due to coagulase-negative staphylococci. *J. Dairy Res.*, 2011, **78**, 318-325.
- DOGAN B., KLAESSIG S., RISHNIW M., ALMEIDA R.A., OLIVER S.P., SIMPSON K., SCHUKKEN Y.H. Adherent and invasive *Escherichia coli* are associated with persistent bovine mastitis. *Vet. Microbiol.*, 2006, **116**, 270-282.
- DELUYKER H.A., VAN OYE S.N., BOUCHER J.F. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**, 604-614.
- ERSKINE R.J., WAGNER S., DEGRAVES F.J. Mastitis therapy and pharmacology. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 2003, **19**, 109-138.
- GRUET P., MAINCENT P., BERTHELOT X., KALTSATOS V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, **50**, 245-259.
- HILLERTON J.E., BERRY E.A. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.*, 2003, **19**, 157-169.
- KARADJOLE M., KNEZEVIC M., BENIC M., MACESIC N., BACIC G., KARADJOLE T., GETZ I., DJURICIC D., SAMARDZIJA M. The frequency of individual mastitis-causing microorganisms in the Republic of Croatia in 2008 and 2009. *Vet. Stanica*, 2011, **42**, 511-516.
- LINDER M., PADUCH J.H., GRIEGER A.S., MANSION-DEVRIES E., KNORR N., ZINKE C., TEICH K., KRÖMKER V. Heilungsraten chronischer subklinischer Staphylococcus aureus-Mastitiden nach antibiotischer Therapie bei laktierenden Milchkühen. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 2013, **126**, 291-296.
- MAKOVEC J.A., RUEGG P.L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 3466-3472.
- OLIVER S.P., GILLESPIE B.E., HEADRICK S.J., MOOREHEAD H., LUNN P., DOWLEN H.H., JOHNSON D.L., LAMAR K.C., CHESTER S.T., MOSELEY W.M. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 2393-2400.
- PITKÄLÄ A., HAVERI M., PYÖRÄLÄ S., MYLLYS V., HONKANEN-BUZALSKI T. Bovine mastitis in Finland 2001: prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 2433-2441.
- ROY J.P., DESCÔTEAUX L., DUTREMBLAY D., BEAUDRY F., ELSENER J. Efficacy of a 5-day extended therapy program during lactation with cephalosporin sodium in dairy cows chronically infected with *Staphylococcus aureus*. *Can. Vet. J.*, 2009, **50**, 1257-1262.
- SCHUKKEN Y.H., WILSON D.J., WELCOME F., GARRISON-TIKOFISKY L., GONZÁLEZ R.N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.*, 2003, **34**, 579-596.
- SMITHE M., GREEN L.E., MEDLEY G.F., BIRD H.E., DOWSON C.G. Multilocus sequence typing of *Staphylococcus aureus* isolated from high-somatic-cell-count cows and the environment of an organic dairy farm in the United Kingdom. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, **43**, 4731-4736.
- SOL J., SAMPIMON O.C., SNOEP J.J., SCHUKKEN Y.H. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 2803-2808.
- ST ROSE S.G., SWINKELS J.M., KREMER W.D.J., KRUITWAGEN C.L.J.J., ZADOKS R.N. Effect of penethamate hydroiodide treatment on bacteriological cure, somatic cell count and milk production of cows and quarters with chronic subclinical *Streptococcus uberis* or *Streptococcus dysgalactiae* infection. *J. Dairy Res.*, 2003, **70**, 387-394.
- SWINKELS J.M., HOGEVEEN H., ZADOKS R.N. A partial budget model to estimate economic benefits of lactational treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**, 4273-4287.
- ZADOKS R.N., ALLORE H.G., BARKEMA H.W., SAMPIMON O.C., GROHN Y.T., SCHUKKEN Y.H. Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 590-599.